



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP



**CONTROLE NEUROENDÓCRINO DO
COMPORTAMENTO AGRESSIVO DE JUVENIS DE
MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)**

CARLA PATRÍCIA BEJO WOLKERS
BIÓLOGA

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

CONTROLE NEUROENDÓCRINO DO
COMPORTAMENTO AGRESSIVO DE JUVENIS DE
MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)

Carla Patrícia Bejo Wolkers

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

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AQUICULTURA, Área de concentração em Aquicultura de Águas Continentais.

Jaboticabal
São Paulo – Brasil
2010

W862c Wolkers, Carla Patrícia Bejo
 Controle neuroendócrino do comportamento agressivo de juvenis
 de matrinxã (*Brycon amazonicus*) / Carla Patrícia Bejo Wolkers. – –
 Jaboticabal, 2010
 xiii, 101 f. : il. ; 28 cm

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
 de Aquicultura, 2010
 Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati
 Banca examinadora: Liliam Midori Ide, Eliane Gonçalves de
 Freitas
 Bibliografia

 1. Comportamento agressivo. 2. Sistema serotoninérgico. 3.
 Estresse I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

 CDU 639.31

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

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".*

(Fernando Pessoa)

Aos peixes, sem os quais este trabalho
jamais teria sido realizado

Aos meus pais, que me deram asas para
chegar até aqui

AGRADECIMENTOS

À minha família que me deu a vida, suporte e apoio para vencer esta etapa.

À minha orientadora, amiga e mãe científica Dr. Elisabeth Criscuolo Urbinati, pelo apoio, carinho e conhecimentos compartilhados em todos estes anos de trabalho conjunto.

Aos professores presentes em minha banca de qualificação e defesa, prof. Dr. Gilson Luiz Volpato, prof. Dra. Luciane Gargaglione Batalhão, prof. Dra. Lílían Midori Ide, prof. Dra. Eliane Gonçalves de Freitas, pelas contribuições imprescindíveis para a finalização deste trabalho. Em especial à prof. Dr. Luciane Gargaglione Batalhão, pela ajuda e apoio na ampliação dos horizontes do trabalho.

Ao prof. Dr. Sérgio Fonsceca Zaiden, por me mostrar que pessoas de bom coração ainda existem, pelo convívio, conselhos, ajuda e compartilhamento de amizade e carinho.

À Damares, pela amizade e auxílio durante todos estes anos.

Aos amigos e companheiros de laboratório que estiveram ao meu lado durante toda a realização do trabalho. Léo, Jaque, Ana, Fabiano, Léo Baccarin, Rafanildo, Marcondes, Gimbolino, Sumozinho, Spinha, Mariana, Aline, Paulita, Rullianzito e a Menina do Corredor, com os quais aprendi grande parte dos conhecimentos que levaram à realização deste trabalho e com os quais passei inúmeras manhãs, tardes, e até mesmo, madrugadas de trabalho muito divertidas. Que estavam presentes nos momentos mais difíceis, me fazendo rir dos problemas (jamais esquecerei de “La madrugada de los cadáveres” e da peixada depois da tragédia do “peixicídio”).

Em especial à Mônica e ao Márcio, com os quais aprendi, ri e chorei, pela convivência e amizade que nunca, nem mesmo a distância que nos separa, irá apagar.

Aos amigos de faculdade, em especial ao clã Lithographica e ao clube das Kapiãs, por fazerem parte da minha vida e me tornarem um pouquinho do que sou hoje.

*"Depois de algum tempo você aprende que verdadeiras
amizades continuam a crescer mesmo a longas
distâncias, e o que importa não é o que você tem na
vida, mas quem você tem na vida."*

(William Shakespeare)

ÍNDICE

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

CAPÍTULO 2

SISTEMA SEROTONINÉRGICO DE JUVENIS DE MATRINXÃ (<i>Brycon amazonicus</i>): DISTRIBUIÇÃO DOS NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS IMUNORREATIVOS (5-HTir).....	30
RESUMO.....	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
1. Animais.....	33
2. Delineamento experimental.....	33
2.1. Coleta e processamento.....	33
3. Análises laboratoriais.....	34
3.1. Imunohistoquímica.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

CAPÍTULO 3

SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE JUVENIS DE MATRINXÃ (<i>Brycon amazonicus</i>) COM TRIPTOFANO. INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO AGRESSIVO, EM INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E EM NEUROTRANSMISSORES REGULADORES DA AGRESSÃO.....	44
RESUMO.....	45
INTRODUÇÃO.....	46
MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
1. Animais.....	48
2. Unidades experimentais.....	48

3. Tratamentos.....	48
3.1. Preparação da ração.....	48
4. Procedimentos de coleta de material biológico.....	49
5. Análises laboratoriais.....	49
5.1. Sangue total.....	49
5.2. Plasma.....	49
5.3. Encéfalo.....	50
5.4. Fígado.....	51
5.5. Gônadas.....	51
6. Registro do comportamento.....	52
7. Análise estatística.....	53
8. Experimento 1.....	54
8.1. Delineamento experimental.....	54
9. Experimento 2.....	54
9.1. Delineamento experimental.....	54
RESULTADOS.....	56
1. Experimento 1.....	56
1.1. Variáveis fisiológicas.....	56
1.2. Variáveis neuroendócrinas.....	57
2. Experimento 2.....	62
2.1. Variáveis fisiológicas.....	62
2.2. Variáveis neuroendócrinas.....	62
2.3. Variáveis comportamentais.....	63
2.4. Correlação entre os comportamentos agressivos dos residentes e intrusos.....	65
2.5. Correlação entre os comportamentos agressivos dos residentes e os parâmetros neuroendócrinos.....	67
DISCUSSÃO.....	83
CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
---------------------------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

SISTEMA SEROTONINÉRGICO DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*): DISTRIBUIÇÃO DOS NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS IMUNORREATIVOS (5-HTir)

Figura 1. Fotomicrografias de encéfalos de matrinxã (*Brycon amazonicus*) evidenciando os neurônios serotoninérgicos imunorreativos da região do diencéfalo..... 39

Figura 2. Fotomicrografias de encéfalos de matrinxã (*Brycon amazonicus*) evidenciando os neurônios serotoninérgicos imunorreativos das regiões do mesencéfalo e romboencéfalo..... 40

CAPÍTULO 3

SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) COM TRIPTOFANO. INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO AGRESSIVO, EM INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E EM NEUROTRANSMISSORES REGULADORES DA AGRESSÃO

Figura 1. Desenho esquemático dos cortes coronais do encéfalo de matrinxã *Brycon amazonicus* realizados para microdissecção pelo método do “punch” 51

Figura 2. Concentração de hemoglobina de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*)..... 60

Figura 3. Hematócrito de machos e fêmeas de juvenis matrinxã (*Brycon amazonicus*)..... 60

Figura 4. Número de eritrócitos de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*)..... 61

Figura 5. Índice hepatosomático de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano.....	61
Figura 6. Número de mordidas corporais realizadas por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) no decorrer da luta contra um intruso.....	78
Figura 7. Número de mordidas na cabeça realizadas por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) no decorrer da luta contra um intruso.....	78
Figura 8. Número colisões realizadas por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	79
Figura 9. Número colisões realizadas por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) no decorrer da luta contra um intruso.....	79
Figura 10. Número perseguições realizadas por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	80
Figura 11. . Latência para a primeira tentativa de mordida realizada por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	80
Figura 12. Tempo absoluto de acompanhamento realizado por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano no decorrer da luta contra um intruso.....	81
Figura 13. Tempo absoluto de ronda realizada por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) no decorrer da luta contra um intruso.....	81
Figura 14. Tempo absoluto de arrasto realizado por juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) no decorrer da luta contra um intruso.....	82

Figura 15. Tempo absoluto de ciranda realizado por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso..... 82

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2

SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) COM TRIPTOFANO. INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO AGRESSIVO, EM INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E EM NEUROTRANSMISSORES REGULADORES DA AGRESSÃO

Tabela 1. Variáveis hematológicas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano..... 58

Tabela 2. Variáveis metabólicas de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano..... 58

Tabela 3. Variáveis neuroendócrinas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano..... 59

Tabela 4. Variáveis hematológicas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso. 68

Tabela 5. Variáveis hematológicas de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 68

Tabela 6. Variáveis metabólicas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso 69

Tabela 7. Variáveis metabólicas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso..... 69

Tabela 8. Variáveis neuroendócrinas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 70

Tabela 9. Variáveis neuroendócrinas de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	70
---	----

Tabela 10. Variáveis neuroendócrinas de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	71
--	----

Tabela 11. Índice de dominância de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.....	71
---	----

Tabela 12. Variáveis comportamentais de agressão direta de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	72
--	----

Tabela 13. Variáveis comportamentais de agressão direta de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.	72
--	----

Tabela 14. Variáveis comportamentais de agressão direta de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.....	73
---	----

Tabela 15. Variáveis comportamentais de agressão direta de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.....	73
--	----

Tabela 16. Variáveis comportamentais de ameaça de juvenis de matrinxã (<i>Brycon amazonicus</i>) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.....	74
---	----

Tabela 17. Variáveis comportamentais de ameaça de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 74

Tabela 18. Variáveis comportamentais de ameaça de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso..... 75

Tabela 19. Variáveis comportamentais de ameaça de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso 75

Tabela 20. Latência para o primeiro comportamento de agressão direta de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 76

Tabela 21. Latência para o primeiro comportamento de agressão direta de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 76

Tabela 22. Latência para o primeiro comportamento de ameaça de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 77

Tabela 23. Latência para o primeiro comportamento de ameaça de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico..... 77

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A aquicultura é a atividade econômica responsável pela produção, em cativeiro, de organismos com habitat predominantemente aquático, tais como peixes, crustáceos, moluscos e anfíbios. É, atualmente, uma das principais alternativas para a produção de alimentos no mundo, apresentando altas taxas de crescimento. A produção mundial de organismos aquáticos passou de 1 milhão de toneladas nos anos 50 para 51,7 milhões de toneladas no ano de 2006, representando cerca de 47% da produção de pescado mundial (FAO, 2008). Segundo relatório da FAO (2008), esse crescimento não é uniforme, sendo que a América Latina e o Caribe apresentaram as maiores taxas de crescimento entre 1970 e 2006.

Nesse cenário de franco crescimento e desenvolvimento, o Brasil é um dos países com maior potencial para a criação de organismos aquáticos, em função de suas condições climáticas, geográficas e biológicas, possuindo aproximadamente 12% da água doce disponível no planeta, com 8.400 km de costa marítima, 5.500.000 hectares de reservatórios de águas doces, além de apresentar uma das maiores biodiversidades do mundo. A aquicultura brasileira se firmou como uma atividade econômica a partir de 1990, apresentando, desde então, um crescimento contínuo, com o desenvolvimento de novas tecnologias de produção e aumento no número de espécies cultivadas.

Dentre os peixes teleósteos brasileiros com potencial para a aquicultura, encontramos as espécies do gênero *Brycon* pertencentes à classe Actinopterygii, ordem Characiformes, família Characidae e subfamília Bryconinae. A espécie *Brycon amazonicus* (Spix e Agassiz, 1829), genericamente conhecida como matrinxã, é um peixe de água doce, bentopelágico, de clima tropical e originário da Bacia Amazônica (Howes, 1982). É uma das espécies mais apreciadas na piscicultura, por apresentar rápido crescimento, aceitação de ração artificial e carne de alta qualidade (Gomes e Urbinati, 2005).

A despeito das características zootécnicas que o tornam uma espécie de alto interesse para a aquicultura nacional, o matrinxã tem alta agressividade intraespecífica e territorialidade, o que dificulta a criação intensiva e reduz os ganhos dos produtores. Esse comportamento agressivo tem início na fase larval, sendo que entre 30 e 36 h pós eclosão as larvas já apresentam canibalismo intenso (Mendonça, 1994), com a alta agressividade estendendo até a fase de juvenis. Em ambiente natural, a espécie encontra-se espalhada em regiões de igarapés, o que reduz a ocorrência de encontros agonísticos, havendo a formação de cardumes apenas no período reprodutivo (Gomes e Urbinati, 2005). Entretanto, no ambiente de produção, o comportamento agressivo da espécie é exacerbado pelo confinamento e adensamento, pois o ambiente e a grande quantidade de animais impedem a fuga. Não existem estudos acerca do comportamento agonístico de matrinxã em ambiente natural. Em condições laboratoriais, o único trabalho publicado demonstra o efeito da interação social na fisiologia e imunologia dos

animais (Ferraz e Gomes, 2009), sem, entretanto, apresentar uma análise do comportamento agressivo da espécie .

O comportamento agressivo pode ser definido como uma ação física ofensiva ou ameaçadora, considerado parte de uma interação mais inclusiva denominada comportamento agonístico, que se refere a qualquer atividade relacionada a luta, seja ela agressão, defesa, submissão ou escape (Hickman et al., 2004). Trata-se de um complexo de comportamentos realizados por virtualmente todos os organismos, com várias funções adaptativas (Soma et al., 2008). É fundamental na competição por recursos limitados, assegurando o acesso à comida e segurança, o sucesso reprodutivo e a proteção da prole (Karl et al., 2004; De Almeida et al., 2005). Os animais que vencem uma competição territorial geralmente possuem uma maior proteção contra predadores e melhores oportunidades de forrageamento, o que promove um rápido crescimento, conferindo, assim, maior probabilidade de sucesso reprodutivo e sobrevivência (Johnsson et al., 2002).

A agressão é uma resposta finamente regulada por regiões específicas do sistema nervoso central. Em mamíferos, dentre as principais áreas relacionadas com o controle do comportamento agressivo, destacam-se a área pré-óptica medial, o *septum* lateral, hipotálamo anterior e ventromedial, a matéria cinzenta periaqueductal, a amígdala medial e o núcleo da *stria terminalis*, sendo que o hipotálamo possui um papel chave na regulação deste comportamento (Nelson e Trainor, 2007). Segundo Hrabovszky et al. (2005), o hipotálamo possui uma região denominada “área de ataque” que controla a agressão em provavelmente todos os mamíferos. A “área de ataque” é contínua e engloba parte do hipotálamo anterior, rostral ao núcleo ventromedial, o hipotálamo ventromedial ao nível da comissura dorsal supra-óptica, a área ventrolateral do núcleo ventromedial do hipotálamo, o hipotálamo subfornical e a área entre o hipotálamo ventromedial e o nervo prosencefálico medial. A estimulação elétrica dessa área hipotalâmica “de ataque” pode induzir o comportamento agressivo em mamíferos (Hrabovszky et al., 2005). O neurocircuito que controla a agressão parece ser evolutivamente conservado, entretanto, a existência da “área de ataque” ainda precisa ser confirmada em vertebrados basais, como peixes e anfíbios (Summers e Winberg, 2006).

A agressão é um dos principais comportamentos relacionados à competição por recursos limitados, variando de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento e as condições ambientais. As habilidades de um animal em competir por um recurso dependem de características individuais comportamentais, físicas (tamanho) e fisiológicas (Johnsson et al., 2006). Em virtude dos custos de uma briga e da possibilidade de sofrer injúrias, o reconhecimento da força do oponente foi uma característica selecionada evolutivamente. Sendo assim, em situações de competição social, os animais são capazes de avaliar a

habilidade de briga do oponente e escolher a melhor estratégia para competir pelo recurso (Johnsson et al., 2006). A teoria dos jogos, de Maynard-Smith (1982), se baseia na estratégia comportamental dos animais frente a um desafio, propondo que diferentes estratégias serão usadas quando houver a competição por um recurso limitado. As estratégias são possibilidades disponíveis ao animal, escolhidas de acordo com os custos e os benefícios que a luta pelo recurso envolve (Cartwright, 2002; Korte et al., 2005). Em uma situação competitiva os animais podem se comportar de maneira agressiva, abandonando esta postura apenas quando sofrem injúrias, sendo chamados de gaviões (“Hawks”), ou podem se comportar de maneira pouco agressiva, sendo chamados de pombos (“Doves”). A estratégia do gavião lhe confere maior probabilidade de conquistar o recurso limitado, embora lhe imponha os riscos envolvidos em lutas agressivas, enquanto a do pombo confere mais segurança e menor chance de sofrer injúrias. Sendo assim, ambas estratégias conferem vantagens e custos ao indivíduo que usá-las (Cartwright, 2002; Korte et al., 2005). A escolha da estratégia comportamental pode ser influenciada pelo conhecimento do oponente. Em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) que observaram uma luta e, em seguida, foram colocados para brigar com o dominante dessa luta foram menos agressivas e sua agressividade diminuiu mais rápido durante o período de observação que quando colocados com oponentes não familiares. Além disso, peixes observadores que venceram oponentes familiares foram mais agressivos comparados com os que brigaram com oponentes não familiares e venceram (Johnsson e Åkerman, 1998). O aprendizado e as experiências prévias também podem influenciar a escolha da estratégia comportamental. Peixes subordinados se tornam menos agressivos e vencem menos lutas posteriores, enquanto animais que se tornaram dominantes tem maior probabilidade de vencer uma luta posterior (Winberg et al., 1992; Hsu e Wolf, 1999; Winberg et al., 2007). Estudo com *Rivulus marmoratus* demonstrou que os efeitos da experiência prévia ainda podem ser observados após 48 h, sendo que a experiência de vitória ou derrota tem efeito de magnitude similar no comportamento dos peixes (Hsu e Wolf, 1999).

As diferenças nas estratégias comportamentais utilizadas (Cartwright, 2002), bem como variações na habilidade de luta dos indivíduos (Clement et al., 2005), podem levar a formação de relações de dominância dentro de um grupo, onde um animal leva vantagem sobre os demais, vencendo a interação social. Segundo Drews (1993), a dominância social é um atributo conquistado após repetidos encontros agonísticos entre dois indivíduos, caracterizada pelo resultado consistente em favor de um dos oponentes, sendo que esse assume a posição de dominante enquanto o perdedor assume a posição de subordinado. Em uma perspectiva sociobiológica, a função primária da dominância social é assegurar o sucesso na transmissão de informação genética para a próxima geração (Silk et al., 2003). Animais

dominantes geralmente têm acesso prioritário a recursos importantes como locais favoráveis, comida e parceiros (Johnsson e Akerman, 1998). Após o estabelecimento de dominância social, o peixe subordinado demonstra comportamento de fuga, ficando na base do aquário, próximo a parede, se mantendo fora do campo de visão do dominante, exibindo pouca atividade locomotora e sem atos agressivos. Já os dominantes são caracterizados por se manterem em posição na região central do aquário, demonstrando movimento por todo o tanque, perseguindo e mordendo o subordinado (Øverli et al., 1999a; Øverli et al., 2005). Em truta arco-íris (*O. mykiss*), o subordinado se mantém passivo e é atacado, mordido e perseguido pelo dominante (Øverli et al., 1999a). Após 5 dias de interação, trutas subordinadas modificam o comportamento, diminuindo a alimentação e escolhendo locais não ocupados pelo dominante, geralmente se escondendo quando possível (DiBattista et al., 2005). Além das diferenças comportamentais entre animais dominantes e subordinados, a posição social pode desencadear modificações fenotípicas nos animais. Em juvenis de *Salvelinus alpinus*, o escurecimento do corpo é um indicador de subordinação social. Esta característica tem importância na manutenção da hierarquia e da integridade dos animais, pois leva a diminuição na intensidade das lutas, reduzindo brigas desnecessárias e perda de energia em hierarquias estabelecidas (Höglund et al. 2002a).

O desenvolvimento de dominância baseado em hierarquias sociais é comum entre os teleósteos e a história social individual afeta a fisiologia e o comportamento dos peixes (Winberg et al., 2007). A interação social e a formação e manutenção de hierarquias sociais são altamente estressantes, tanto para os vencedores quanto para os perdedores da interação social, sendo as respostas de estresse rapidamente manifestadas tanto em animais dominantes quanto em subordinados (Winberg e Lepage, 1998; Øverli, 1999a; Summers, 2002). O estresse nos animais subordinados de uma hierarquia de dominância estabelecida é relacionado ao fato de ser constantemente ameaçado (Johnsson et al., 2006), enquanto nos dominantes, pode ser relacionado ao fato desses terem que defender a posição de dominância, especialmente durante períodos de instabilidade social (Sapolsky, 1992). Em condições de criação intensiva, o estresse social pode ser ainda maior, devido a limitação de oportunidades de fuga e sinalização social. Assim, o estresse induzido por interações sociais pode ser ainda mais drástico, influenciando no desempenho dos peixes na aquicultura (Øverli et al. 1999a; Øverli et al., 1999b). Além do estresse social, uma série de outros fatores pode ser estressante durante a criação intensiva, incluindo manejos comuns como captura, transporte e remanejamento dos animais (Kubitza, 2003; Urbinati e Carneiro, 2004).

O estresse é definido como uma condição na qual o equilíbrio dinâmico do organismo animal é ameaçado ou perturbado, levando a alterações orgânicas e a quebra da homeostase

(Pickering, 1981; Wendelaar Bonga, 1997). Essas alterações podem desencadear uma resposta denominada reação de alarme, caracterizada por uma série de modificações comportamentais e fisiológicas compensatórias e/ou adaptativas, que possibilitam ao animal superar a ameaça sofrida (Pickering, 1981; Wendelaar Bonga, 1997). A resposta de estresse é essencial e necessária para a sobrevivência do animal, permitindo uma resposta fisiológica adequada e a superação do distúrbio imposto. Entretanto, em condições de estresse crônico, esta resposta biológica pode perder o valor adaptativo e se tornar disfuncional, causando prejuízos à saúde do animal, tais como inibição do crescimento, falhas no processo reprodutivo e até mesmo redução na resistência a patógenos (Barton e Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Eriksen et al., 2005). O estresse é, normalmente, associado a eventos negativos e com consequências que podem provocar dano à saúde. Não há, entretanto, justificativa para assumir que a expressão estresse sempre esteja ligada a comprometimento da saúde do animal, sendo o aspecto funcional do estresse frequentemente negligenciado. O paradoxo do estresse está na simultaneidade da natureza adaptativa e das possíveis consequências “mal adaptativas” desencadeadas pela cronicidade (Korte et al., 2005).

Durante uma situação estressante, o corpo do animal é preparado para “lutar ou fugir” (fight or flight). Sendo assim, a glicose, fonte primária de energia, é mobilizada dos tecidos de estoque (fígado e músculos); o sangue, que transporta o oxigênio e glicose, é desviado de órgãos que não são essenciais para o esforço físico, como a pele e o sistema gastrointestinal, e é enviado para órgãos prioritários como o coração, os músculos esqueléticos e o encéfalo. Todas essas respostas têm como objetivo habilitar o animal a enfrentar a condição estressante e restaurar sua homeostase (Sapolsky, 1990; Barton e Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997). Esse conjunto de respostas é controlado por um complexo sistema neuroendócrino, composto pelo sistema simpático-cromafim e pelo eixo hipotálamo-pituitária-interrenal (equivalente ao eixo hipotálamo-pituitária-adrenal de mamíferos). Em uma situação estressante, o sistema nervoso central é ativado gerando dois tipos de resposta: no primeiro, o sistema nervoso central, por meio de inervação simpática direta, estimula as células cromafins a produzirem as catecolaminas, adrenalina e noradrenalina (sistema simpático-cromafim); no segundo, o hipotálamo é estimulado a produzir CRH (hormônio liberador de corticotrofina), que induz a glândula pituitária a produzir ACTH (corticotrofina) que, por fim, estimula as células interrenais a produzirem cortisol (eixo hipotálamo-pituitária-interrenal). Esses dois efeitos são chamados efeitos primários do estresse (Barton e Iwama, 1991; Sumpter, 1997; Wendelaar Bonga, 1997). O aumento rápido nos níveis de catecolaminas ocorre devido à inervação direta das células cromafins. Já o cortisol plasmático aumenta poucos minutos após a exposição a um estressor agudo, retornando às concentrações normais em uma ou mais horas, dependendo da

espécie (Wendelaar Bonga, 1997). A ação das catecolaminas e dos corticosteróides desencadeia alterações metabólicas, hematológicas, osmorregulatórias e cardiorespiratórias, denominadas efeitos secundários do estresse. Com a persistência da exposição ao estressor, ocorrem prejuízos no crescimento, reprodução e resposta imunológica dos animais, caracterizando os efeitos terciários do estresse (Mazeaud et al., 1977; Mommsen et al., 1999; Urbinati e Carneiro, 2004). A função central da resposta de estresse é a realocação de energia metabólica de atividades de investimento (crescimento e reprodução) em direção a atividades que requerem intensificação para o reestabelecimento da homeostase, como a respiração, locomoção, regulação hidroeletrólítica e reparação tecidual (Wendelaar Bonga, 1997).

O cortisol é considerado um dos principais indicadores de estresse em peixes (Patiño et al., 1987), sendo sua produção muito aumentada em animais sob condições estressantes. Esse hormônio apresenta uma ampla gama de efeitos, agindo principalmente em tecidos como as brânquias e fígado, promovendo modificações no balanço hidromineral e metabolismo de energia (Wendelaar Bonga, 1997). Um dos principais efeitos da ação desse hormônio é a alteração no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, agindo tanto no aumento da glicemia sanguínea quanto na reposição e manutenção do glicogênio, por aumento da capacidade gliconeogênica do fígado (Mommsen et al., 1999).

Além dos efeitos no metabolismo, o cortisol tem um papel importante no comportamento agressivo e na formação de hierarquias sociais. Evidências indicam que a agressão e o estresse estão relacionados, pois ambos estimulam atividade em áreas específicas do encéfalo, presumidamente ligadas por circuitos diferentes, mas cooperativos. Esta ligação influencia desde a predisposição a agressão, até a motivação e a agressão ativa (Summers e Winberg, 2006). Em mamíferos, algumas regiões como amígdala medial, *nucleus accubens* e regiões adjacentes ao hipotálamo estão envolvidas tanto na agressão quanto no estresse, sendo que, os circuitos neural e endócrino das respostas de estresse, e aqueles mediando o comportamento agressivo parecem convergir para o hipotálamo. O hipotálamo contém componentes críticos e adjacentes tanto para a agressão, quanto para a resposta neuroendócrina de estresse (Summers et al., 2005b; Summers e Winberg, 2006).

O efeito dos corticosteróides no comportamento agressivo é contraditório e parece depender de fatores como a espécie, condições fisiológicas e do tipo de testes comportamentais aplicados (Soma et al., 2008). Estudos sugerem que o resultado da luta e a posição social afetam os níveis de cortisol diferentemente entre animais que se tornam subordinados ou dominantes dentro de pares. Em truta arco-íris (*O. mykiss*) o estresse social desencadeado pela luta causa aumento nos níveis de cortisol tanto de dominantes quanto de subordinados, sendo que os níveis do dominante reduzem rapidamente depois que a

dominância foi estabelecida, enquanto os animais subordinados apresentam uma ativação crônica do eixo HPI (Øverli et al., 1999a; Sloman et al., 2001; DiBattista et al., 2005). Em truta marrom (*Salmo trutta*), níveis de cortisol elevados também foram relacionados com baixa posição social, entretanto esta variação só foi evidente após 48 h de interação. Esta resposta tardia observada em truta marrom pode estar relacionada aos menores índices de agressão apresentados pela espécie quando comparada com a truta arco-íris (Sloman et al., 2001). Já em estudo com trutas marrom selvagens, os animais dominantes apresentaram os níveis mais elevados de cortisol, indicando que, em ambiente natural, o estresse social é maior para o animal dominante, que precisa manter a posição elevada na hierarquia, que para o subordinado, que possui maiores possibilidades de fuga que no ambiente laboratorial (Sloman et al., 2000). Os níveis de cortisol também podem variar dentro de hierarquias sociais complexas, em grupos com muitos animais. Estudo com *S. alpinus* indica que em grupos de 200 animais, os peixes que foram classificados como sendo intermediários dentro da hierarquia social apresentaram os maiores níveis de cortisol plasmático, enquanto os dominantes apresentaram os menores (Øverli et al., 1999b).

Além de ser influenciado pela posição social, o cortisol também pode influenciar o resultado das interações sociais. Em truta arco-íris (*O. mykiss*) os níveis de cortisol são negativamente correlacionados com a dominância social, sendo que animais que possuem os níveis de cortisol mais elevados antes da luta são predispostos a se tornarem subordinados (Sloman et al., 2001; Pottinger e Carrick, 2001, DiBattista et al., 2005). Segundo Øverli et al. (2004a), dentro de pares, trutas arco-íris que apresentavam a menor responsividade do eixo HPI são mais agressivas durante a interação. Além disso, a elevação experimental nos níveis de cortisol eleva a latência para o primeiro ataque (Schjolden et al., 2009). Apesar da sua relação com a subordinação social, alguns estudos demonstram que a elevação dos níveis de cortisol experimentalmente pode elevar a agressividade. Em estudo com o peixe elétrico *Apteronotus leptorhynchus* a elevação exógena de cortisol por meio de implantes elevou a taxa de descargas elétricas agressivas (“chirps”) (Dunlap et al., 2002). Além disso, a elevação dos níveis do cortisol por 7 dias promoveu o aumento na proliferação de células no núcleo de controle do “chirping”, o núcleo diencefálico pré-marca passo, localizado próximo ao ventrículo, sendo este aumento correlacionado com o aumento na frequência das descargas (Dunlap et al., 2006).

Além do cortisol uma série de outras moléculas está relacionada com o controle do comportamento agressivo. Dentre elas destacam-se os hormônios andrógenos (Sapolsky, 1990; Elofsson et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Ros et al., 2006; Earley e Hsu, 2008), a arginina-vasopressina/vasotocina (Deville, 1996; Coccaro et al., 1998; Nelson e Chiavegatto, 2001;

Semsar et al., 2004; Caldwell et al., 2008; Backstrom e Winberg, 2009; Cheng e Delville, 2009), o óxido nítrico (Nelson e Chiavegatto, 2001; Chiavegatto e Nelson, 2003; Nelson e Trainor, 2007), o neuropeptídeo Y (Karl et al., 2004), a dopamina (Höglund et al., 2001; De Almeida et al., 2005; Nelson e Trainor, 2007), a noradrenalina (Nelson e Trainor, 2007), o ácido γ aminobutírico (GABA) (Hrabovszky et al., 2005; Nelson e Trainor, 2007), o glutamato (Hrabovszky et al., 2005) e a melatonina (Larson et al., 2004). Entretanto, estudos indicam que estas moléculas influenciam a agressividade por meio da modulação da atividade da serotonina, o neurotransmissor chave no controle do comportamento agressivo (Nelson e Chiavegatto, 2001). O mecanismo pelo qual o sistema serotoninérgico modula a agressão ainda precisa ser elucidado, entretanto, não há dúvidas de que os neurônios serotoninérgicos estão conectados a outras células e recebem impulsos de diferentes neurotransmissores na modulação desses comportamentos (Popova, 2006).

A serotonina, 5-hidroxitriptamina (5-HT), é uma indoleamina pertencente ao grupo das monoaminas neurotransmissoras, juntamente com as catecolaminas (Oliveri et al., 2005). É um neurotransmissor importante no funcionamento do organismo, sendo que praticamente nenhuma função fisiológica e comportamental está livre de seu efeito direto ou indireto (Alee et al., 2008). A serotonina é um dos neurotransmissores mais antigos na evolução, e seus receptores parecem ter aparecido entre 700 e 800 milhões de anos em células eucarióticas simples. Os receptores serotoninérgicos são encontrados em diversas espécies, desde planárias e drosófilas até o homem, sendo um sistema altamente conservado dentro do reino animal (Parent, 1984; Hannon e Hoyer, 2008). Esse neurotransmissor foi primeiramente descoberto na década de 30, como uma substância causadora de contrações uterinas, sendo depois associada à função vasoconstritora, encontrada no sangue e nas paredes dos vasos sanguíneos, plaquetas e em células enterocromafins do sistema gastrointestinal, no pulmão e no coração (Rapport et al., 1948 *in* Jorgensen, 2007; Hannon e Hoyer, 2008).

A síntese da serotonina é realizada a partir do aminoácido essencial triptofano por duas enzimas, a triptofano-hidroxilase (TPH) que promove a hidroxilação do triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e a descarboxilase de aminoácidos (L) aromáticos que converte o 5-HTP em serotonina, sendo que a TPH é específica para esta reação e controla a taxa de biossíntese desse neurotransmissor. Em mamíferos, existem dois tipos dessa proteína (TPH₁ e TPH₂), sendo uma delas expressa apenas na periferia e na glândula pineal e a outra apenas no encéfalo, evidenciando a existência de dois sistemas serotoninérgicos independentes (Popova, 2006; Popova, 2008). Após ser produzida, a serotonina é mantida em vesículas dentro da terminação neuronal até ser liberada, quando o neurônio é ativado (Jorgensen 2007), exercendo seus efeitos por meio da ativação de receptores. A maior parte das moléculas de

serotonina liberadas na fenda sináptica são inativadas funcionalmente por um transportador ativo de serotonina do espaço extracelular para dentro dos terminais neuronais, sendo esse transportador expresso seletivamente nos neurônios serotoninérgicos. A recaptação permite tanto a reutilização da molécula quanto sua degradação em ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA) no espaço intracelular. As principais enzimas envolvidas na degradação da serotonina são as monoamina oxidases A e B (MAO A e MAO B), sendo que a MAO A a principal enzima de degradação devido à alta afinidade pela molécula (Popova, 2006; Wang et al., 2006). O 5-HIAA é o principal metabólito da serotonina e a taxa de 5-HIAA/5-HT é utilizada como indicador da atividade serotoninérgica, demonstrando sua liberação e metabolização (Edwards e Kravitz, 1997; Berman, 1997; Winberg et al., 2001; Lepage et al., 2003; Höglund et al., 2005; Clotfelter et al., 2007).

A serotonina está amplamente distribuída no organismo, sendo encontrada em vários órgãos além do sistema nervoso central. Em truta arco-íris (*O. mykiss*), dentre os tecidos periféricos, o intestino é o que possui os maiores níveis de serotonina, com as maiores concentrações no intestino anterior, seguido do ceco pilórico e do intestino posterior, sendo esta distribuição semelhante à dos mamíferos. Entretanto, diferentemente dos mamíferos, quase toda a serotonina intestinal da truta arco-íris foi localizada na parede intestinal e apenas 2% nas células enterocromafins da mucosa. Além disso, concentração de serotonina sanguínea e plasmática indica que a serotonina encontrada no sangue de trutas não fica estocada em plaquetas, como ocorrem em mamíferos. Foi observada uma alta capacidade de metabolização da serotonina pelo fígado e pelo rim e alta eficiência na excreção desse metabólito (Caamaño-Tubio et al., 2007). No encéfalo, a distribuição da serotonina e do triptofano também não é homogênea em diferentes regiões. Em truta arco-íris (*O. mykiss*) a concentração de triptofano encefálico é maior no hipotálamo e na medula oblonga, quando comparados com o telencéfalo, cerebelo e restante do encéfalo. Com relação a serotonina, as concentrações foram maiores no hipotálamo que em outras regiões, e as concentrações na medula oblonga, telencéfalo e restante do encéfalo foram maiores que a encontrada no teto óptico. As maiores concentrações de 5-HIAA também foram encontradas no hipotálamo. As concentrações de serotonina e 5-HIAA no cerebelo foram indetectáveis. As maiores taxas 5-HIAA/5-HT foram detectadas no hipotálamo, seguido da medula oblonga, telencéfalo e teto óptico (Rozas et al., 1990). Outros estudos com peixes também indicam que a serotonina apresenta variações circadianas (Senthikumar e Joy, 1994) e circanuais no seu padrão de distribuição (Rozas et al., 1992).

A serotonina está relacionada a uma grande variedade de funções orgânicas, controlando desde atividades periféricas, como a motilidade gastrointestinal e a pressão

sanguínea, até funções centrais, como os comportamentos de sono e vigília, percepção da dor, apetite e comportamentos emocionais e agressivos (Jacobs e Fornal et al., 1991; Fink e Gothert, 2007). Esta ampla gama de ações se deve a grande diversidade do sistema receptor serotoninérgico. Em mamíferos, existem 14 receptores serotoninérgicos diferentes, divididos em duas superfamílias, a de receptores acoplados a proteínas G e a de receptores ligados a canais iônicos. Os receptores 5-HT_{1,2,4,5,6,e,7} estão ligados à modulação do metabolismo da adenil ciclase ou do fosfoinositol via proteínas G, enquanto os receptores 5-HT₃ modulam canais iônicos (Olivier e van Oorschot, 2005). Em vertebrados não mamíferos muito pouco é conhecido acerca desse sistema receptor (Winberg e Nilsson, 1996). Entretanto, considerando as características altamente conservadas do sistema serotoninérgico no reino animal, é possível que os mecanismos de recepção sejam semelhantes entre os diferentes grupos (Parent, 1984).

Os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} estão localizados tanto pré quanto pós sinapticamente, e funcionam como auto e heterorreceptores, auxiliando os mecanismos de controle da liberação de serotonina em mamíferos (Olivier e van Oorschot, 2005). A estimulação dos receptores pré-sinápticos promove a auto-inibição do sistema serotoninérgico pelo processo de retroalimentação, enquanto a estimulação dos pós-sinápticos produz os efeitos típicos da ativação do sistema serotoninérgico (Popova, 2006). Estudos com peixes sugerem a presença de receptores serotoninérgicos com características farmacológicas semelhantes à dos receptores 5-HT_{1A} de mamíferos, indicando similaridade no mecanismo de funcionamento do sistema serotoninérgico de vertebrados basais e de mamíferos (Winberg e Nilsson, 1996; Winberg et al., 1997; Höglund et al., 2002b; Clotfelter et al., 2007). Pelo menos três sítios de ligação de alta afinidade para a serotonina foram encontrados no sistema nervoso central de *S. alpinus*, sendo um deles similar ao receptor 5-HT_{1A}. Os outros dois sítios não foram claramente relacionados com receptores serotoninérgicos mamíferos, embora um deles possa representar o receptor 5-HT_{2C} (Winberg e Nilsson, 1996).

A serotonina é o principal neurotransmissor envolvido no controle do comportamento agressivo desde invertebrados até mamíferos (Edwards e Kravitz, 1997; Miczek et al., 2004). Embora seu mecanismo de ação não tenha sido completamente elucidado, a função da serotonina parece ser conservada dentro do sub-filo vertebrata, exercendo um papel inibitório na agressão desde peixes (Winberg et al., 2001; Perreault et al., 2003; Semsar et al., 2004; Lepage et al., 2005; Lynn et al., 2007; Clotfelter et al., 2007) até humanos (Berman et al., 1997; Coccaro et al., 1997; De Almeida et al., 2005). Embora alterações na atividade serotoninérgica durante as interações agressivas tenham sido descritas, é difícil discernir se essas alterações neuroendócrinas e as modificações comportamentais que as acompanham são causas ou conseqüências da posição social (Sorensen et al., 2007).

Embora o aumento da atividade serotoninérgica esteja relacionado com a diminuição da agressividade em vários modelos experimentais, o desenvolvimento da interação agressiva é complexo, não havendo uma relação simples de causa e efeito da serotonina no comportamento agressivo. A interação entre a serotonina e a agressão pode ser bastante complexa, havendo mudanças na atividade serotoninérgica em regiões específicas do encéfalo antes, durante e depois da interação agressiva (Summers et al, 2005a). A interação agressiva se processa no tempo através de estágios neuroendócrinos e comportamentais distintos. Antes da interação, os níveis de corticosteróides plasmáticos e a atividade da serotonina, e talvez da dopamina, em regiões encefálicas associadas com a agressão e motivação, influenciam a predisposição do animal a agressão, podendo haver diferenças marcantes entre os indivíduos que se tornarão dominantes e subordinados (Summers e Winberg, 2006). Segundo Summers e Winberg (2006), animais que se tornarão subordinados possuem uma alta atividade serotoninérgica antes da luta, enquanto os que se tornarão dominantes possuem baixos níveis de serotonina, e, possivelmente, alta atividade dopaminérgica. Em lagartos verdes (*Anolis carolinensis*) a atividade serotoninérgica diminuída no circuito neural da agressão é um estado basal para machos potencialmente mais agressivos (Summers et al., 2005a). Em linhagens de truta arco-íris (*O. mykiss*) com diferentes respostas de estresse, os animais de alta responsividade, mais propensos a se tornarem subordinados no estabelecimento de hierarquia social, apresentam o sistema serotoninérgico mais ativado que os de baixa responsividade (Øverli et al., 2005). A influência do perfil neuroendócrino na predisposição a agressividade também pode ser observado entre as diferentes estratégias comportamentais frente a um desafio. Segundo Korte et al. (2005), considerando a teoria dos jogos, animais que se comportam como “gaviões” possuem baixos níveis de corticosteróides e serotonina e altos níveis de testosterona, sendo predispostos a alta agressividade. Já os animais que desempenham a estratégia de “pombos” possuem alta atividade serotoninérgica e altos níveis de corticosteróides, sendo predispostos a baixa agressividade.

Após o início da interação social, a situação estressante desencadeia uma cascata de respostas de estresse que culmina com o aumento da atividade serotoninérgica e corticosteróide tanto nos animais que se tornarão dominantes, quanto nos subordinados (Summers e Winberg, 2006). Em trutas arco-íris (*O. mykiss*) os níveis de cortisol são elevados em dominantes e subordinados após 5 min de interação, retornando aos níveis basais após 3 h, apenas nos dominantes. Além disso, após três horas de interação social a atividade serotoninérgica também é elevada tanto em dominantes quanto em subordinados no telencéfalo, enquanto apenas os dominantes apresentam aumento da atividade no teto óptico. Após 24 h de interação, a atividade serotoninérgica permanece elevada apenas em

subordinados, enquanto os dominantes recuperam os níveis basais do neurotransmissor (Øverli et al., 1999a). A elevação da atividade corticosteróide e serotoninérgica no início da interação social não inibe a agressão em animais subordinados, por um breve período, e em dominantes. Esta ausência de inibição comportamental nos estágios iniciais da interação agressiva é contraditória ao efeito inibitório na agressão documentado para a serotonina e o cortisol. Esse efeito pode se dever ao estado basal de animais potencialmente agressivos. Segundo Summers et al. (2005a), machos de lagartos verdes (*A. carolinensis*) apresentam atividade serotoninérgica diminuída no circuito neural da agressão, podendo permitir a agressão mesmo que o estresse da interação estimule rápida elevação da atividade serotoninérgica. Além disso, como a atividade da serotonina está correlacionada negativamente com o comportamento agressivo e positivamente com o estresse, parece provável que suas funções sejam contextualmente significantes, especialmente considerando que o estresse necessariamente acompanha a agressão. Assim a alteração da atividade da serotonina de maneira regionalmente específica pode ser um mecanismo importante na contextualização da interação agressiva e resposta comportamental. Em lagartos (*A. carolinensis*) a serotonina inibe a agressão de forma específica em algumas regiões encefálicas, sendo que regiões como o hipotálamo anterior, a amígdala medial, o *septum*, a rafe e o *locus coeruleus* exibem baixa atividade serotoninérgica em animais mais agressivos, enquanto outras regiões como a amígdala lateral, área preóptica, *substantia nigra* e área tegmental ventral não apresentam correlação entre a propensão agressiva e a serotonina (Summers et al, 2005a). Segundo Øverli et al. (2004b), a relação entre a serotonina e o comportamento agressivo é tempo, região e contexto dependente, sendo que seu efeito na agressividade pode ser mais complexo que o papel puramente inibitório atribuído a esse neurotransmissor.

Após o estabelecimento da posição social, a elevação crônica da serotonina e dos corticosteróides inibe a agressão (Summers e Winberg, 2006). Sendo assim, a subordinação social e os baixos níveis de agressividade estão associados ao aumento crônico da atividade serotoninérgica cerebral. Segundo Winberg et al. (1997), a elevação da atividade serotoninérgica pode mediar a mudança comportamental caracterizando peixes socialmente subordinados. Juvenis de *S. alpinus* subordinados apresentaram taxa 5HIAA/5-HT mais elevada no tronco encefálico, hipotálamo e teto óptico que os dominantes (Höglund et al. 2002a). Em truta arco-íris (*O. mykiss*), após 24 h de interação social, peixes subordinados apresentaram aumento da atividade serotoninérgica no hipotálamo e tronco cerebral (Øverli et al., 1999a). Além disso, a derrota social nesta espécie promoveu aumento da atividade serotoninérgica em regiões encefálicas específicas (núcleos comissural e supracomissural da área ventral do telencéfalo e núcleos dorsal e lateral da região dorsal do telencéfalo),

correspondentes ao sistema límbico de mamífero (amígdala e hipocampo) (Øverli et al., 2004b). Em *S. alpinus* observou-se uma correlação negativa entre a posição social na hierarquia de dominância e a taxa 5-HIAA/5-HT. Além disso, após quatro dias de interação social, exemplares subordinados de *S. alpinus* apresentaram uma tendência a uma maior taxa 5-HIAA/5-HT, havendo uma correlação positiva entre o número de ataques recebidos no primeiro dia de interação e a atividade serotoninérgica (Winberg et al., 1992).

Segundo Sorensen et al. (2007), existe uma dificuldade em se discernir quais atributos fisiológicos são causa ou consequência da posição social. Características fisiológicas e comportamentais que são normalmente interpretadas como efeitos da posição social podem ser, na verdade, reflexo de uma variação pré-existente (genética). A subordinação e o estresse crônico podem alterar a retroalimentação e a responsividade de processos fisiológicos e, possivelmente, reforçar diferenças pré-existentes, levando dominantes e subordinados a responderem diferentemente durante o estresse causado por um encontro agonístico (Sorensen et al., 2007). Assim, a influência da serotonina na predisposição a baixa agressividade e subordinação social pode ser confirmada por estudos de manipulação farmacológica da atividade serotoninérgica. A elevação farmacológica, crônica ou aguda, da serotonina pode mimetizar características pré-existentes, permitindo a compreensão de seus efeitos na agressividade.

A utilização de fármacos bloqueadores da recaptação de serotonina (fluoxetina, paroxetina, sertralina, entre outros) é uma ferramenta experimental bastante útil e amplamente utilizada na manipulação da ação da serotonina e exploração do seu papel na regulação da agressão em vertebrados (Lynn et al., 2007). Em ratos machos, o tratamento crônico com fluoxetina reduziu o comportamento agressivo, sem afetar o comportamento exploratório e a atividade locomotora (Villalba et al., 1997). Em humanos, o tratamento com paroxetina reduziu a resposta à provocação em indivíduos diagnosticados como agressivos e com histórico de agressão (Berman et al., 2009). Em lagartos verdes (*A. carolinensis*) com hierarquias de dominância estabelecidas, o tratamento com sertralina por sete dias reverteu a posição social em 43% dos pares, sendo que em 57% dos pares os animais dominantes passaram a apresentar comportamento associativo, sem qualquer vestígio de dominância (Larson e Summers, 2001). No peixe *Thalassoma bifasciatum*, tanto o tratamento crônico quanto o agudo com fluoxetina diminuíram o comportamento agressivo de machos contra intrusos, aumentando a latência para a primeira perseguição e diminuindo a frequência e duração das perseguições (Perreault et al., 2003). Em *Betta splendens* o tratamento com fluoxetina reduziu as demonstrações agressivas e aumentou a distância do espelho, sem afetar,

entretanto, a latência para o primeiro ataque e o tempo de abertura do opérculo (Lynn et al., 2007).

Outra ferramenta utilizada para a manipulação da atividade serotoninérgica é a alteração dos níveis do aminoácido essencial triptofano, precursor da serotonina. Estudos que utilizam alterações nos níveis de triptofano na alimentação podem fornecer informações sobre os efeitos de alterações dos níveis de serotonina endógena (Young e Leyton, 2001). O triptofano administrado pela alimentação é carregado pela corrente sanguínea até o encéfalo, onde é transportado através da barreira hematocefálica. Em mamíferos, a maior parte do triptofano plasmático (80 a 90%) é transportada ligada à albumina, sendo apenas uma pequena parte livre (Fernstrom e Wurtman, 1971). Em peixes, ao contrário dos mamíferos, aproximadamente 92% do triptofano circulam na forma livre (Rozas et al. 1990). O transporte do triptofano da corrente sanguínea para o encéfalo é realizado por um carreador estereoespecífico e saturável, comum à tirosina e possivelmente a outros aminoácidos neutros, semelhante ao que acontece em mamíferos (Fernstrom e Wurtman, 1971; Fernstrom, 1983; Aldegunde et al., 1998). Sendo assim, o aumento nos níveis de triptofano plasmático resulta em elevação de sua concentração no encéfalo e consequente elevação da síntese de serotonina. A enzima que catalisa o passo limitante desta reação, triptofano hidroxilase, não é saturada pelo substrato *in vivo* e não parece ser submetida a nenhuma inibição pela serotonina, de forma semelhante em peixes e mamíferos (Fernstrom, 1983; Aldegunde et al., 2000). Uma série de estudos tem demonstrado que a suplementação alimentar com triptofano eleva a atividade serotoninérgica cerebral em peixes (Winberg et al., 2001; Hseu et al., 2003; Lepage et al., 2003; Koutoku et al., 2003; Lepage et al., 2005; Hoglund et al., 2005) e mamíferos (Fernstrom e Wurtman, 1972).

O aumento da atividade serotoninérgica promovido pela suplementação alimentar com triptofano suprime o comportamento agressivo em várias espécies de peixes. Em juvenis de truta arco-íris (*O. mykiss*), após sete dias de suplementação da alimentação com triptofano, animais residentes realizaram menos ataques contra intrusos, sendo que esse efeito não foi observado com três dias de suplementação (Winberg et al., 2001). Outro estudo com a mesma espécie demonstrou que, além da diminuição no número de ataques, o triptofano dietário também aumentou a latência para o primeiro ataque, sendo esse efeito mimetizado pelo tratamento com citalopram (bloqueador da recaptação de serotonina) (Lepage et al., 2005). Em juvenis de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*), o tratamento com triptofano levou a uma diminuição do número ataques agressivos e a um aumento na latência para o primeiro ataque após 7 dias de suplementação alimentar (Hoglund et al., 2005). Em larvas de garoupa (*Epinephelus coioides*) a dieta suplementada com triptofano reduziu significativamente o

canibalismo, originando um grupo de animais de tamanho mais homogêneo (Hseu et al., 2003). Os efeitos comportamentais da suplementação alimentar com triptofano em peixes foram avaliados apenas nos momentos iniciais da interação social, não existindo estudos analisando interações sociais mais longas. Além disso, esses estudos também não avaliaram o efeito do triptofano sobre os diferentes tipos de comportamento (agressão direta e ameaça) separadamente.

Os mecanismos pelos quais a serotonina exerce inibição no comportamento agressivo ainda não são completamente compreendidos. A ausência de efeito do tratamento com triptofano por um curto prazo (três dias) sugere que outros mecanismos, além do aumento da produção de serotonina, possam estar envolvidos (Winberg et al., 2001). A ativação da atividade serotoninérgica cerebral a longo e curto prazo parecem ter efeitos distintos no comportamento agressivo, sendo que somente a ativação a longo prazo tem efeito inibitório (Winberg et al., 2001). Essas diferenças podem estar relacionadas a ativação de diferentes receptores, bem como a variações na densidade e sensibilidade desses receptores. Estudos indicam que os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, controlam o tônus serotoninérgico, contribuindo, em regiões cerebrais específicas, com a modulação dos efeitos pós-sinápticos inibitórios na agressão (Nelson e Chiavegatto, 2001). Segundo Olivier e Van Oorschot (2005), o heteroreceptores 5-HT_{1B} desempenhariam um papel na fase da agressão propriamente dita, enquanto outros, incluindo o 5-HT_{1A}, teriam uma função nas fases relacionadas a intenção para a agressão. Em mamíferos, a ativação de receptores 5-HT_{1A} reduz o comportamento agressivo (Popova et al., 2005; Nelson e Trainor, 2007; Popova, et al., 2007). Em sapos, *Eleutherodactylus coqui*, o tratamento com agonistas do receptor 5-HT_{1A}(8-OH-DPAT) e do receptor 5-HT_{2A/2C} ((±)-1-(2,5-dimetoxi-4-idofenil)-2-aminopropano-DOI) inibe as vocalizações de machos alfa, levando-os a comportar-se como machos satélites, com posturas submissas, permitindo, inclusive, vocalizações de outros machos dentro de seu próprio território (Eyck 2008).

Embora o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} no controle da agressão esteja bem estabelecido, existem dados bastante controversos acerca dos tipos de receptores que são ativados na inibição da agressão, havendo dúvidas se esses efeitos são causados por receptores pré ou pós-sinápticos. Em estudo com ratos Norway, a densidade de receptores 5-HT_{1A} era menor, em animais agressivos, no córtex frontal, hipotálamo e amígdala, regiões de maior densidade de receptores pós-sinápticos, em relação aos animais não agressivos, enquanto no mesencéfalo, onde existe a maior densidade de receptores 5-HT_{1A} pré-sinápticos somatodendríticos, não houve diferença entre agressivos e não agressivos (Popova et al., 2005; Popova et al., 2004), indicando que os receptores pós-sinápticos estão relacionados com a

diminuição da agressão. Em outro estudo com rato, a administração sistêmica de uma droga agonista seletivo para os autoreceptores 5-H_{1A} e antagonista para os receptores 5-H_{1A} pós sinápticos, causou efeitos anti-agressivos em ratos residentes confrontados com intrusos coespecíficos, sugerindo que esses efeitos são predominantemente expressos por ação em autoreceptores, atenuando a neurotransmissão serotoninérgica ativada pelo conflito social (De Boer e Koolhaas, 2005). Apesar da função inibitória na agressão, existem evidências de um papel estimulatório de alguns receptores serotoninérgicos. Em hamsters, os receptores 5-HT₃ desempenham um papel estimulatório na agressão ofensiva. Animais tratados com agonista desse receptor apresentaram um comportamento agressivo ofensivo, semelhante ao comportamento agressivo apresentado por animais tratados com cocaína (Ricci et al., 2005).

O papel da serotonina na agressão pode ser desempenhado pela modulação de outras moléculas envolvidas no controle desse comportamento. Dentre essas moléculas, destacam-se o glutamato (Olivier e van Oorschot, 2005), a dopamina (De Almeida et al. 2005), a arginina-vasopressina/vasotocina (AVP/AVT) (Delville, 1996; Coccaro et al., 1998; Semsar et al., 2004; Backstrom e Winberg, 2009; Cheng e Delville, 2009) e os hormônios andrógenos (Elofsson et al., 2000; Earley e Hsu, 2008), que parecem estar relacionados ao aumento da agressividade, e o ácido γ aminobutírico (GABA) (Brandão, 2004) e o óxido nítrico (Chiavegatto e Nelson, 2003; Nelson e Trainor, 2007), que parecem promover inibição na agressão.

Além dos efeitos no comportamento agressivo, o aumento da serotonina está relacionado a alterações fisiológicas desencadeadas pelo estresse. A serotonina é um dos vários neurotransmissores que influenciam o controle hipotalâmico da função pituitária (Hemrick-Luecke e Fuller, 1996). Segundo revisão de Chaouloff et al. (1999), numerosos componentes do sistema serotoninérgico central são sensíveis a estressores e a serotonina é um importante componente do sistema central que promove a adaptação ao estresse. Em mamíferos, estudos destacam a relação entre a serotonina e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), e as evidências indicam que esse neurotransmissor tem um efeito estimulatório no eixo HPA, aumentando a liberação de corticosteróides. Pelo menos dois subtipos de receptores de serotonina podem mediar esse aumento, o receptor 5-HT₂ (provavelmente o 5-HT_{2A}) e o 5-HT_{1A} (Fuller, 1996a; Fuller, 1996b). Além disso, ainda segundo Fuller (1996b), dados farmacológicos embasam as evidências neuroanatômicas de que os neurônios serotoninérgicos cerebrais fazem conexão com neurônios liberadores de CRH (hormônio liberador de corticotrofina), para ativar a secreção pituitária e adrenocortical em ratos.

Segundo Øverli (1999a), a serotonina também está envolvida na regulação do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal em peixes, embora os dados ainda sejam contraditórios. Lepage

et al. (2005) relatam que animais alimentados com o precursor da serotonina (triptofano) e com inibidores de recaptação de serotonina (citalopram) tiveram a atividade do eixo HPI reduzida, ao contrário do que trabalhos com mamíferos indicam. Estudos utilizando agonistas do receptor 5-HT_{1A} (8-OH-DPAT) mostram que, em peixes não-estressados, o agonista teria um efeito estimulatório no eixo HPI (Winberg et al., 1997; Höglund et al., 2002), enquanto em peixes estressados o efeito seria oposto, suprimindo a elevação de cortisol induzida pelo estresse (Höglund et al., 2002). Segundo Lepage et al. (2002), a suplementação da ração de truta arco-íris (*O. mykiss*) com triptofano, por sete dias, elevou os níveis basais de cortisol, e impediu o aumento dos níveis de cortisol induzidos por um agente estressor. Sendo assim, a influência da serotonina sobre o eixo HPI parece ser contexto dependente, apresentando diferentes efeitos dependendo das condições dos animais.

O sistema serotoninérgico é filogeneticamente antigo e desempenha um papel vital no funcionamento dos organismos (Parent, 1984). Em vertebrados, desde os peixes viventes mais primitivos, as lampréias, até os teleósteos, pode-se observar um sistema serotoninérgico bem desenvolvido com uma distribuição ampla no encéfalo e presença de células com contato direto com o líquido cerebrospinal. Na lampréia marinha (*Petromyzon marinus*), os grupos de células serotoninérgicas imunoreativas (5-HT-ir) foram observadas no diencéfalo, rombencéfalo e medula espinhal, enquanto algumas células foram observadas no bulbo olfatório, telencéfalo e mesencéfalo caudal. Na região do hipotálamo, foram encontradas células em contato com o líquido cerebrospinal. Todos os grupos de células presentes nos adultos apareceram entre a fase embriogênica e os estágios larvais tardios, não havendo nenhum grupo de células transitório na fase larval desta espécie (Abalo et al., 2007). Estudo com o condrósteo *Polypterus senegalus* demonstrou a existência de 4 grupos de células serotoninérgicas, um no telencéfalo (G1), dois no diencéfalo (G2 e G3) e um no tronco cerebral (G4). O grupo mais proeminente de células (G2) ocupava a região da parede periventricular hipotalâmica, incluindo o órgão paraventricular, estendendo caudalmente desde o hipotálamo dorsal cranialmente ao recesso infundibular. Na região preóptica, um pequeno grupo de células (G1) estava presente, composto de células pequenas, sendo que nenhum dos dendritos se projetava para o ventrículo. O grupo G3 aparece como uma pequena massa de células no núcleo talâmico dorsal, estando um pouco afastado da camada endimial, ventrolateralmente sobre o *fasciculus retroflexus*. O grupo G4 estava situado na região medial do tronco encefálico superior, principalmente no núcleo da rafe superior, se estendendo lateralmente ao nível do núcleo interpeduncular (Chiba, 1999).

Em duas espécies de esturção (*Acipenser baeri* e *Huso huso*), foram descritos neurônios 5-HT-ir na camada interna e externa do bulbo olfatório. No telencéfalo foi encontrado um

pequeno grupo de neurônios 5-HT-ir em contato com o líquido cerebroespinal na parede ventromedial, rostralmente à comissura anterior. A maior densidade de células foi encontrada no diencéfalo, sendo uma grande quantidade de neurônios 5-HT-ir bipolares descrita no núcleo rostral do recesso préóptico, algumas em contato com o líquido cerebroespinal. A maior parte dos neurônios 5-HT-ir do diencéfalo foi observada no órgão paraventricular e no núcleo recesso posterior, com algumas células em contato com o líquido cerebroespinal. Neurônios 5-HT-ir espalhados também foram observados ao longo da parede lateral e ventrolateral do recesso lateral (hipotálamo lateral periventricular). No tálamo, um pequeno grupo de células 5-HT-ir bipolares de tamanho médio foram observadas em torno do *fasciculus retroflexus* através do tálamo dorsal (núcleo dorsal talâmico). Não foram encontradas células ou fibras 5-HT-ir na glândula pineal. Na habenula não foram observadas células, entretanto, essa região é moderadamente innervada por fibras 5-HT-ir varicosas. Na região do tegmento mesencefálico e da medula oblonga a maior parte dos neurônios 5-HT-ir são reticulares e formam uma coluna longitudinal na região da rafe. Outras células foram localizadas lateralmente a essa coluna, sendo considerados núcleos reticulares. Foram distinguidos quatro núcleos da rafe: um no istmo (núcleo dorsal da rafe), e três na medula oblonga (núcleo superior, medial e inferior da rafe), e quatro núcleos reticulares (dorsal, superior, medial e inferior) (Adrio et al., 1999).

Em estudo com esturção branca *Acipenser transmontanus* foram descritos alguns neurônios 5-HTir na camada celular interna do bulbo olfativo e no núcleo ventral da área ventral do hipotálamo, estando esses últimos em contato com o líquido cerebroespinal. Na região do núcleo préóptico periventricular foram observadas células 5-HTir, enquanto na região periventricular do tubérculo inferior (região inferior do hipotálamo) foi encontrado grande número de neurônios 5-HTir. No núcleo dorsal do lobo inferior do hipotálamo foram encontradas alguns corpos celulares 5-HTir em contato com o líquido cerebroespinal (Piñuela e Northcutt, 2007).

Em tubarão, *Scyliorhinus canícula* as células 5-HT-ir foram encontradas na área préóptica e no hipotálamo (órgão paraventricular e recesso posterior) e na formação reticular com dois principais grupos da rafe (um superior e um inferior) e dois principais grupos reticulares laterais (superior e inferior). Neurônios serotoninérgicos também estavam presentes na parede ventral e lateroventral da medula espinhal. As células em contato com o líquido cerebroespinal foram encontradas na área préóptica, hipotálamo e rombencéfalo rostral (Carrera et al., 2008).

No teleosteo *Trematomus bernacchii*, foram encontradas células na região caudal do telencéfalo, em particular na região magnocellular do núcleo préóptico da área préóptica, incluindo a região gigantocelular. No diencéfalo, as células 5-HTir foram observadas na zona

periventricular do terceiro ventrículo e do ventrículo rombencefálico. Células reativas também foram encontradas no recesso lateral do ventrículo diencefálico e nos núcleos posterior tuberal e periventricular hipotalâmico. Esses neurônios foram observados na camada subependimal e não pareciam ter contato com o fluido cerebroespinal. Um grupo de células localizadas no núcleo periventricular do *tuberculum* posterior, acima do hipotálamo dorsal foi o único contendo células em contato com o fluido cerebroespinal. No tegmento mesencefálico, um grupo de células foi localizado no núcleo dorsal da rafe, medialmente ao fascículo medial longitudinal, com seus prolongamentos próximos do ventrículo, mas sem contato com o fluido cerebroespinal. No mesencéfalo, células positivas eram visíveis no núcleo dorsal tegmental, próximo ao ventrículo mesencefálico. No tronco cerebral, dois grupos celulares foram encontrados antes e abaixo da crista cerebelar do romboencéfalo. Esses grupos eram compostos de células pertencentes a parte dorsal e ventral do núcleo motor trigeminal no tronco cerebral e se estendiam até à formação reticular superior (Oliveri et al., 2005).

Como descrito na maior parte das espécies de peixes, os anamniotas apresentam células serotoninérgicas em contato com o líquido cerebroespinal na região em torno de vários recessos ventriculares hipotalâmicos. Juntos esses componentes formam o órgão paraventricular (PVO), que emite eferências intrahipotalâmicas e extrahipotalâmicas. Os neurônios do órgão paraventricular de anfíbios e peixes podem funcionar como gatilho ou modular a atividade de certos centros telencefálicos e mesencefálicos (Parent, 1984). Esta estrutura é bastante reduzida em répteis e aves, e, em mamíferos, as células periventriculares hipotalâmicas não estão em contato com o líquido cerebroespinal. A diminuição no número de células monoaminérgicas hipotalâmicas em mamíferos, aves e répteis é acompanhado pelo aumento no número de fibras no tronco cerebral (Parent, 1984). Segundo Parent (1984), a evolução do sistema serotoninérgico em vertebrados parece envolver progressivo desaparecimento das populações mais rostrais (telencéfalo e diencefalo) e aumento do número de populações do tronco cerebral.

Por ser um sistema filogeneticamente antigo e altamente conservado dentro do sub-filo vertebrata, com uma ampla gama de funções orgânicas, o estudo do sistema serotoninérgico permite a elucidação do processo de evolução dos organismos, auxiliando na compreensão da evolução de comportamentos complexos como a agressão e a competição. A análise do comportamento agressivo e dos processos neuroquímicos envolvidos em sua mediação possibilita a compreensão dos mecanismos que controlam a agressividade e traz subsídio para o desenvolvimento de tecnologias de produção para animais que apresentam comportamento agressivo, com redução de perdas econômicas e preservação do bem estar dos animais.

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. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, v. 34, p. 29-46, 2007.
- Adrio, F.; Anadón, R.; Rodríguez-Moldes, I. Distribution of serotonin (5HT)-Immunoreactive structures in the central nervous system of two chondrosteian species (*Acipenser baeri* and *Huso huso*). *The Journal of Comparative Neurology*, v. 407, p. 333-348, 1999.
- Aldegunde, M.; Garcia, J.; Soengas, J.L.; Rozas, G. Uptake of tryptophan into brain of rainbow trout. *The Journal of Experimental Zoology*, v. 282, p. 285-289, 1998.
- Aldegunde, M.; Soengas, J.L.; Rozas, G. Acute effects of L-Tryptophan on tryptophan hidroxylation rate in brain regions (hypothalamus and medulla) of rainbow trout. *The Journal of Experimental Zoology*, v. 286, p. 131-135, 2000.
- Alee, S.J.; Markham, M.R.; Salazar, V.L.; Stoddard, P.K. Opposing actions of 5-HT_{1A} and 5-HT₂-like serotonin receptors on modulations of the electric signal waveform in the electric fish *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Hormones and Behavior*, v.53, p. 481-488, 2008.
- Backström, T.; Winberg, S. Arginine-vasotocin influence on aggressive behavior and dominance in rainbow trout. *Physiology e Behavior*, v. 96, p. 470-475, 2009.
- Barton, B.A., Iwama, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Review of Fish Diseases*, p. 3-26, 1991.
- Berman, M. The serotonin hypothesis of aggression revised. *Clinical Psychology Review*. n. 6, p. 651-655, 1997.
- Berman, M.E.; McCloskey M.S.; Fanning, J.R.; Schumacher J.A.; Coccaro, E.F. Serotonin augmentation reduces response to attack in aggressive individuals. *Physiological Science*. v. 20, n. 6, p. 714-720, 2009.
- Brandão. M.L. As bases biológicas do comportamento: introdução à neurociência. São Paulo: EPU, 223p, 2004.
- Caamaño-Tubío, R.I.; Pérez, J.; Ferreiro, S.; Aldegunde, M. Peripheral serotonin dynamics in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 145, p. 245-255, 2007.
- Caldwell, H.K.; Lee, H.J.; Macbeth, A.H.; Young III, W.S. Vasopressin: behavioral roles of an "original" neuropeptide. *Progress in Neurobiology*, v. 84, p. 1-24, 2008.
- Carrera, I.; Molist, P.; Anadón, R.; Rodríguez-Moldes, I. Development of the serotonergic system in the central nervous system of a shark, the lesser spotted dogfish *Scyliorhinus canicula*. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 511, p. 804-831, 2008.
- Cartwright, J.A. *Determinants of Animal Behaviour*. 1 ed., p. 31-41. New York: Routledge, 2002.

- Chaouloff, F.; Berton, O.; Mormède, P. Serotonin and stress. *Neuropsychopharmacology*, v. 21, p. 28S-32S, 1999.
- Cheng, S.Y.; Delville, Y. Vasopressin facilitates play fighting in juvenile golden hamsters. *Physiology e Behavior*, v. 98, p. 242-246, 2009.
- Chiba, A. Immunohistochemical mapping of serotonin-containing neurons in the brain of the Senegal bichir, *Polypterus senegalus* (Brachiopterygii, Osteichthyes). *Zoological Science*, v. 16, p. 395-399, 1999.
- Chiavegatto, S.; Nelson, R.J. Interaction of nitric oxide and serotonin in aggressive behavior. *Hormones and Behavior*, v. 44, p. 233-241, 2003.
- Clement, T. S.; Parikh, V.; Schrumpf, M.; Fernald, R. D. Behavioral coping strategies in a cichlid fish: the role of social status and acute stress response in direct and displaced aggression. *Hormones and Behavior*, v. 47, p. 336– 342, 2005.
- Clotfelter, E.D.; O'Hare, E.P. ; McNitt, M.M. ; Carpenter, R.E. ; Summers, C.H. Serotonin decreases aggression via 5-HT_{1A} receptors in the fighting fish *Betta splendens*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. v. 87, p. 222-231, 2007.
- Coccaro, E.F.; Kavoussi, J.; Hauger, R.L. Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine: a pilot study. *Biologic Psychiatry*, v. 42, p. 546-552, 1997.
- Coccaro, E.F.; Kavoussi, R.J.; Hauger, R.L.; Cooper, T.B.; Ferris, C.F. Cerebrospinal fluid vasopressin levels. *Arch Gen Psychhiatry*, v. 55; p. 708-714, 1998.
- De Almeida, R.M.M.; Ferrari, P.F.; Parmifiani, S.; Miczek, K.A. Escalated aggressive behavior: Dopamine, serotonin and GABA. *European Journal of Phamacology*, v. 526, p. 51-64, 2005.
- De Boer, S.F.; Koolhaas, J.M. 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor agonists and agression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *European Journal of Pharmacology*, v. 526, p. 125-139, 2005.
- Delville, Y.; Mansour, K.M.; Ferris, C.F. Serotonin blocks vasopressin-facilitated offensive aggression: Interactions within the ventrolateral hypothalamus of Golden Hamsters. *Physiology e Behavior*, v. 59, n. 4/5, p.813-816, 1996.
- DiBattista, J.D.; Anisman, H.; Whitehead, M.; Gilmour, K.M. The effects of cortisol administration on social status and brain monoaminergic activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Experimental Biology*, v. 208, p. 2707-2718, 2005.
- Drews, C. The concept and definition of dominance in animal behaviour. *Behaviour*. v. 125, p. 283–313, 1993.
- Dunlap, K.D.; Castellano, J.F.; Prendaj, E. Social interaction and cortisol treatment increase cell addition and radial glia fiber density in the diencephalic periventricular zone of adult electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Hormones and Behavior*, v. 50, p. 10-17, 2006.
- Dunlap, K.D.; Pelczar, P.L.; Knapp, R. Social interactions and cortisol treatment increase the production of aggressive electrocommunication signals in male electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Hormones and Behavior*, v. 42, p. 97-108, 2002.

- Earley, R.L.; Hsu, Y. Reciprocity between endocrine state and contest behavior in the killifish, *Kryptolebias marmoratus*. *Hormones and Behavior*, v. 53, p. 442-451, 2008.
- Edwards, D.H.; Kravitz, E. A. Serotonin, social status and aggression. *Current Opinion in Neurobiology*. v. 7, p. 812-819, 1997.
- Elofsson, U.O.E.; Mayer, I.; Damsgard, B.; Winberg, S. Intermale competition in sexually mature Arctic Charr: Effects on brain monoamines, endocrine stress responses, sex hormone levels, and behavior. *General and Comparative Endocrinology*, v. 118, p. 450 – 460, 2000.
- Eriksen, H.R.; Murison, R.; Pensgaard, A.M.; Ursin, H. Cognitive activation theory of stress (CATS): From fish brains to the olympics. *Psychoneuroendocrinology*, v. 30, p. 933-938, 2005.
- Eyck, G.R.T. Serotonin modulates vocalizations and territorial behavior in an amphibian. *Behavioral Brain Research*. v. 193, p. 144-147, 2008.
- FAO. The state of world fisheries and aquaculture. 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/publications/sofia>>. Acesso em: novembro/2009.
- Fernstrom, J.D., Wurtman, R.J. Brain serotonin content: physiological dependence on plasma tryptophan levels. *Science*, v.173, p.149-152, 1971.
- Fernstrom, J.D., Wurtman R.J. Brain serotonin content: regulation by plasma neutral amino acids. *Science*, v. 178, p. 414-416, 1972.
- Fernstrom, J.D. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiological Reviews*. V. 63, n.2, 1983.
- Ferraz, F.B.; Gomes, L.C. Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. v. 153, p. 293-296, 2009.
- Fink, K.B.; Gothel, M. 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacological Reviews*, v.59, n.4, p. 360-471, 2007.
- Fuller, R.W. The influence of fluoxetine on aggressive behavior. *Neuropsychopharmacology*, v. 14, n. 2, p. 77-81, 1996a.
- Fuller, R.W. Serotonin receptors involved in regulation of pituitary-adrenocortical function in rats. *Behavioural Brain Research*, v. 73, p. 215-219, 1996b.
- Gomes, L.C.; Urbinati, E C. Criação de matrinxã. In: Baldisserotto, B; Gomes, LC. (Org.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. v. 1, p. 149-174, Santa Maria, 2005.
- Hannon, J.; Hoyer, D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research*.
- Hemrick-Luecke, S.K.; Fuller, R.W. Involvement of 5-HT_{2A} receptors in the elevation of rat serum corticosterone concentrations by quipazine and MK-212. *European Journal of Pharmacology*, v. 311, p. 207-211, 1996.
- Hickman, C.P.; Roberts, S.L.; Larson, A. *Princípios Integrados de Zoologia*. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 2004.

- Höglund, E.; Kolm, N.; Winberg, S. Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is cocounteracted by L-DOPA. *Physiology e Behavior*, v. 74, p. 381-389, 2001.
- Höglund, E.; Calm, P.H.M.; Winberg, S. Behavioural and neuroendocrine effects of environmental background color and social interaction in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *The journal of Experimental Biology*, v. 205, p. 2535-2543, 2002a.
- Höglund, E.; Balm, P.H.M.; Winberg, S. Stimulatory and inhibitory effects of 5-HT_{1A} receptors on adrenocorticotrophic hormone and cortisol secretion in a teleost fish, the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Neuroscience Letters*, v. 324, p. 193-196, 2002b.
- Höglund, E.; Bakke, M.J.; Øverli, Ø.; Winberg, S.; Nilsson, G.E. Suppression of aggressive behavior in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. *Aquaculture*, v. 249, p. 525-531, 2005.
- Howes, G. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v. 43, p. 1-47, 1982.
- Hrabovszky, E.; Halász, J.; Meelis, W.; Kruk, M.R.; Liposits, Z.S.; Haller, J. Neurochemical characterization of hypothalamic neurons involved in attack behavior: glutamatergic dominance co-expression of thyrotropin-releasing hormone in a subset of glutamatergic neurons. *Neuroscience*, v. 133, p. 657-666, 2005.
- Hseu, J.R.; Lu, F.I.; Su, H.M.; Wang, L.S.; Tsai, C.L.; Hwang, P.P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism survivor and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, p. 0-12, 2003.
- Hsu, Y.; Wolf, L.L. The winner and loser: integrating multiple experiences. *Animal Behaviour*, v. 57, p. 903-910, 1999.
- Jacobs, B.L.; Fornal, C. A. Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacological Reviews*, v.43, n.4, 1991.
- Johnsson, J.I.; Akerman, A. Watch and learn: preview of the fighting ability of opponents alters contest behaviour in rainbow trout. *Animal behaviour*, v.56, p. 771-776, 1998.
- Johnsson, J.I.; Carlsson, M.; Sundström, L.F. Habitat preference increases territorial defence in brown trout (*Salmo trutta*). *Behavioral Ecological Sociobiology*, v. 48, p. 373-377, 2002.
- Johnsson, J.I.; Winberg, S.; Sloman, K.A. Social Interactions. Fish Physiology. In: Sloman, KA, Wilson, RW, Balshine, S. (ed.) *Behaviour and Physiology of Fish*. London: Academic Press, p. 151-196, 2006.
- Jorgensen, H.S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Danish Medical Bulletin*, v.54, p. 266-288, 2007.
- 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 of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 34, p. 12742-12747, 2004.

Korte, S.M.; Koolhaas, J.M.; Wingfield, J.C.; McEwen B.S. The Darwinian concept of the stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, v. 29, p. 3-28, 2005.

Koutoku, T.; Zhang, R.; Tachibana, T.; Oshima, Y.; Furuse, M. Effect of acute L-tryptophan exposure on the brain serotonergic system and behavior in the male medaka. *Zoological Science*, v.20, p. 121-124, 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. *Behavioural Brain Research*, v. 121, p. 95-102, 2001.

Larson, E.T.; Winberg, S.; Mayer, I.; Lepage, O.; Summers, C.H.; Øverli, Ø. Social stress affects circulating melatonin levels in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, v. 136, p. 322-327, 2004.

Lepage, O.; Tottmar, O.; Winberg, S. Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Experimental Biology*, v. 205, p. 3679-3687, 2002.

Lepage, O.; Vilchez, I.M.; Pottinger, T.G.; Winberg, S. Time-course of the effect of dietary L-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Biology*, v. 206, p. 3589-3599, 2003.

Lepage, O.; Larson, E.T.; Mayer, I.; Winberg, S. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationship and aggression in rainbow-trout. *Hormones and Behavior*, v. 48, p. 233-242, 2005.

Lynn, S.E.; Egar, J.M. ; Walker, B.G. ; Sperry, T.S. ; Ramenofsky, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. *Advances in Physiology Education*, v.31, p. 358-363, 2007.

Maynard Smith, J. *Evolution and theory of games*. Cambridge: Cambridge University Press, 1982. In: Korte, S.M.; Koolhaas, J.M.; Wingfield, J.C.; McEwen B.S. The Darwinian concept of the stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and behavioral Reviews*, v. 29, p. 3-28, 2005.

Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., Donaldson, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data a general review. *Transactions of American Fisheries Society*, v. 106, p. 201-212.

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

Miczek, K.A.; Faccidomo, S.; De Almeida, R.M.M.; Bannai, M.; Fish, E.W.; Debold, J.F. Escalates aggressive behavior. *New Pharmacotherapeutic approaches and opportunities*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1036, p. 336-355, 2004.

Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 9, p. 211-268, 1999.

- Nelson, R.J.; Chiavegatto, S. Molecular basis of aggression. *Trends in Neuroscience*. v. 24, n.12, p. 713-719, 2001.
- Nelson, R.J.; Trainor, B.C. Neural mechanisms of aggression. *Nature Reviews – Neuroscience*, v. 8, July 2007.
- Oliveira, R.F.; Lopes, M.; Carneiro, L.A.; Canário, A.V.M. Watching fights raises fish hormone levels. *Nature*, v.409, p. 475, 2001.
- Oliveri, D.; Candiani, S.; Parodi, M.; Bertini, E.; Pestarino, M. A serotonergic system in the brain of the Antarctic fish. *Trematomus bernacchii*. *Polar Biology*, v. 28, p. 366-371, 2005.
- Olivier, B.; van Oorschot, R. 5-HT_{1B} receptors and aggression: A review. *European Journal of Pharmacology*. v. 526, p. 207-217, 2005.
- Øverli, Ø.; Harris, C.; Winberg, S. Short-term effects of fights for social dominance and the establishment of dominant-subordinate relationships of brain monoamines and cortisol in rainbow-trout. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 54, p. 263-275, 1999a.
- Øverli, Ø.; Olsen, R.E.; Lovik, F.; Ringo, E. Dominance hierarchies in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: differential cortisol profiles of dominant and subordinate individuals after handling stress. *Aquaculture Research*, v. 30, p. 259-264, 1999b.
- Øverli, Ø.; Korzan, W.J.; Höglund, E.; Winberg, S.; Bollig, H.; Watt, M.; Forster, G.L.; Barton, B.A.; Øverli, E.; Renner, K.J.; Summers, C.H. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, v.45, p. 235-241, 2004a.
- Øverli, Ø.; Korzan, W.J.; Larson, F.T.; Winberg, S.; Lepage, O.; Pottinger, T.G.; Renner, K.J.; Summers, C.H. Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. *Hormones and Behavior*, v. 45, p. 324-329, 2004b.
- Øverli, Ø.; Winberg, S.; Pottinger, T.G.; Behavioral and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout – a review. *Integrative and Comparative Biology*, *Integrative and Comparative Biology*, v. 45, p. 463-474, 2005.
- Parent, A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic systems. *American Zoology*, v. 24, p. 783-790, 1984.
- Patiño, R.; Redding, J.M.; Schreck, C.B. Interrenal secretion of corticosteroids and plasma cortisol and cortisone concentrations after acute stress and during seawater acclimation in juvenile coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, v. 68, p. 431-439, 1987.
- Perreault, H.A.N.; Semsar, K.; Godwin, J. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. *Physiology e Behavior*. v. 79, p. 719-724, 2003.
- Pickering, A.D. Introduction: the Concept Biological Stress. In: Pickering, A.D. (ed.) *Stress and fish*. Academic Press, p. 367, 1981.
- Piñuela, C.; Northcutt, R.G. Immunohistochemical organization of the forebrain in the white sturgeon *Acipenser transmontanus*. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 69, p.-229-253, 2007.

- Popova, N.K. The role of brain serotonin in the expression of genetically determined defensive behavior. *Russian Journal of Genetics*, v. 40, n. 6, p. 624-630, 2004.
- Popova, N.K.; Naumenko, V.S.; Plyusnina, I.Z.; Kulikov, A.V. Reduction in 5-HT_{1A} receptor density, 5-HT_{1A} mRNA expression, and functional correlates for 5-HT_{1A} receptors in genetically defined aggressive rats. *Journal of Neuroscience Research*, v. 80, p. 286-292, 2005.
- Popova, N.K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system. *BioEssays*, v. 28, p. 495-503, 2006.
- Popova, N.K.; Naumenko, V.S.; Plyusnina, I.Z. Involvement of brain serotonin 5-HT_{1A} receptors in genetic predisposition to aggressive behavior. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v. 37, n.6, 2007.
- Popova, N.K. From gene to aggressive behavior: the role of brain serotonin. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v.38, n.5, 2008.
- Pottinger, T.G.; Carrick, T.R. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, v. 40, p. 419-427, 2001.
- Rapport, M.M., Green, A.A., Page, I.H. Serum vasoconstrictor (serotonin) IV. *Journal of Biology and Chemistry*, v. 176, p. 1243-1251, 1948. *In*: Jorgensen, H.S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Danish Medical Bulletin*, v.54, p. 266-288, 2007.
- Ricci, L.A.; Knyshevsky, I.; Melloni, R.H. Serotonin type 3 receptors stimulate offensive aggression in Syrian hamsters. *Behavioral Brain Research*, v. 156, p. 19-29, 2005.
- Ros, A.F.H.; Becker, K.; Oliveira R.F. Aggressive behaviour and energy metabolism in a cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. *Physiology e Behavior*, v. 89, p. 164-170, 2006.
- Rozas, G.; Rey, P.; Andrés, M.D.; Rebolledo, E.; Aldegunde, M. Distribution of 5-hydroxytryptamine and related compounds in various brain regions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 8, n. 6, p. 501-506, 1990.
- Rozas, G.; Rey, P.; Rozados, M.V.; Rebolledo, E.; Aldegunde, M. Annual variations in brain serotonin and related compounds of domesticated rainbow trout (*ncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 9, n. 5/6, p. 463-471, 1992.
- Sapolsky, R.M. Stress in the Wild. *Scientific American*, p. 106-113, january 1990.
- Sapolsky, R. M. Cortisol concentrations and the social significance of rank instability among wild baboons. *Psychoneuroendocrinology*, v. 17, p. 701-709, 1992.
- Schjolden, J; Basic, D.; Winberg, S. Aggression in rainbow trout is inhibited by MR and GR antagonists. *Physiology and Behavior*, v. 98, p. 625-630, 2009.
- Semsar, K; Perreault, H.A.N.; Godwin, J. Fluoxetine-treated male wrasses exhibit low AVT expression. *Brain Research*, v. 1029, p. 141-147, 2004.
- Senthkumaran, B.; Joy, K.P. Effects of photoperiod alterations on day-night variations in hypothalamic serotonin content and turnover, and monoamine oxidase activity in the female cat fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 13, n. 4, p. 301-307, 1994.

- Silk, J.B., Alberts, S.C., Altmann, J. Social bonds of female baboons enhance infant survival. *Science*, v. 302, p. 1231–1234, 2003.
- Sloman, K.A.; Gilmour, K.M.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B. Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural conditions. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 22, p. 11-20, 2000.
- Sloman, K.A.; Metcalfe, N.B.; Taylor, A.C.; Gilmour, K.M. Plasma cortisol concentrations before and after social stress in rainbow trout and brown trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, v. 74, n. 3, p. 383-389, 2001.
- Soma, K.K.; Scotti, M.A.L.; Newman, A.E.M.; Charlier, T.D.; Demas, G.E. Novel mechanisms for neuroendocrine regulation of aggression. *Frontiers in Neuroendocrinology*. v. 29, p. 476-489, 2008.
- Sorensen, C., Øverli, Ø.; Summers, C.H.; Nilsson, G.E. Social regulation of neurogenesis in teleosts. *Brain Behavior Evolution*, v. 70, p. 239-246, 2007.
- 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.
- Sumpter, J.P. The endocrinology of stress. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (ed.) *Fish stress and health in aquaculture*, p. 277, 1997.
- Summers, C.H. Social interaction over time, implications for stress responsiveness. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, p. 591-599, 2002.
- Summers, C.H.; Korzan, W.J.; Lukkes, J.L.; Watt, M.J.; Forster, G.L.; Øverli, Ø.; Höglund, E.; Larson, E.T.; Ronan, P.J.; Mattes, J.M.; Summers, T.R.; Renner, K.J.; Greenberg, N. Does serotonin influence aggression? Comparing activity before and during social interaction. *Physiological and Biochemical Zoology*, v. 8; n. 5, p. 679-694, 2005a.
- Summers, C.H.; Watt, M.J.; Ling, T.L.; Forster, G.L.; Carpenter, R.E.; Korzan, W.J.; Lukkes, J.L.; Øverli, Ø. Glucocorticoid interaction with aggression in non-mammalian vertebrates: Reciprocal action. *European Journal of Pharmacology*, v. 526, p. 21-35, 2005b.
- Summers, C.H.; Winberg, S. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *The Journal of Experimental Biology*, v. 209, p.4581-4589, 2006.
- Urbinati, E.C.; Carneiro, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnoli, N. *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. p. 171-193. São Paulo: TecArt, 2004.
- 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*). *Hormones and Behavior*, v. 32, p. 184-191, 1997.
- Wang, Y.; Takai, R.; Yoshioka, H.; Shirabe, K. Characterization and expression of serotonin transporter genes in zebrafish. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, v. 208, p. 267-274, 2006.

- Wendelaar Bonga, S.E. The stress response in fish. American Physiological Society, 1997.
- Winberg, S.; Nilsson, G.E.; Olsén, H. Changes in brain serotonergic activity during hierarchic behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) are socially induced. Journal of Comparative Physiology A, v. 170, p. 93-99, 1992.
- Winberg, S.; Nilsson, G.E. Multiple high-affinity binding sites for [³H] serotonin in the brain of a teleost fish, the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). The Journal of Experimental Biology, v. 199, p. 2429-2435, 1996.
- Winberg, S.; Nilsson, A.; Hylland, P.; Söderström, V.; Nilsson, G.E. Serotonin as a regulator of hypothalamic-pituitary-interrenal activity in teleost fish. Neuroscience Letters, v. 230, p. 113-116, 1997.
- Winberg, S.; Lepage, O. Elevation of brain 5-HT activity, POMC expression, and plasma cortisol in socially subordinate rainbow trout. American Journal of Physiology, v. 274, p. R645-R654, 1998.
- Winberg, S.; Øverli, Ø.; Lepage, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. The Journal of Experimental Biology, v.204, p. 3867-3876, 2001.
- Winberg, S.; Schjolden, J.; Øverli, Ø.; Pottinger, T. Stress and stress coping in fish, behavioural correlates and neuroendocrine mechanisms. Abstracts/Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, v. 146, p. S75-S86, 2007.
- Young, S.N.; Leyton, M. The role of serotonin in human mood and social interaction. Insight from altered tryptophan levels. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, v. 71, p. 857-865, 2002.

CAPÍTULO 2

SISTEMA SEROTONINÉRGICO DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*): DISTRIBUIÇÃO DOS NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS IMUNORREATIVOS (5-HTir)

RESUMO

Considerando a importância fisiológica do sistema serotoninérgico e os conhecimentos restritos acerca desse sistema em peixes, este estudo avaliou a distribuição dos neurônios serotoninérgicos imunoreativos (5-HTir) no encéfalo de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Para tanto, os animais foram anestesiados e submetidos ao procedimento de perfusão e coleta dos encéfalos. Foram feitas secções coronais de 25 µm do encéfalo, com exceção do bulbo olfatório, sendo as secções montadas em lâminas gelatinizadas e submetidas à análise de imunohistoquímica para a marcação de neurônios 5-HTir. Não foram encontradas células 5-HTir na região do telencéfalo. No diencéfalo o sistema serotoninérgico é pouco desenvolvido, se restringindo a três grupos celulares, sendo dois deles localizados na região periventricular. Na região do tegmento mesencefálico e tronco cerebral, os grupos de células 5-HTir estão amplamente distribuídos, contendo células grandes e de formatos variados. Não foram encontradas células em contato com o líquido cerebroespinal em nenhuma região do encéfalo de matrinxã. A distribuição do sistema serotoninérgico de matrinxãs se assemelha a de outras espécies de peixes. Entretanto, pode-se observar um menor desenvolvimento dos grupos celulares rostrais nessa espécie.

Palavras-chave: imunohistoquímica, matrinxã, sistema serotoninérgico.

INTRODUÇÃO

A serotonina, 5-hidroxitriptamina (5-HT), é uma indoleamina pertencente ao grupo das monoaminas neurotransmissoras, juntamente com as catecolaminas (Oliveri et al., 2005). É um neurotransmissor importante no organismo animal, exercendo papel primordial no controle de funções endócrinas e comportamentais (Parent, 1984; Alee et al., 2008). Entretanto, a despeito de sua importância fisiológica, os conhecimentos acerca desse sistema em peixes são bastante restritos. A distribuição dos neurônios serotoninérgicos no encéfalo destes animais é pouco conhecida, sendo os estudos realizados em peixes teleósteos ainda mais escassos. O conhecimento acerca da localização e distribuição de neurônios serotoninérgicos no encéfalo de vertebrados basais é importante para o estudo da filogenia desse sistema no sub-filo vertebrata (Adrio et al., 1999), além de auxiliar na compreensão dos mecanismos de ação da serotonina no organismo.

O sistema serotoninérgico é um dos sistemas neurotransmissores filogeneticamente mais antigos, sendo que seus receptores podem ter aparecido entre 700 e 800 milhões de anos, em células eucarióticas simples, como os paramécios (Hannon e Hoyer, 2008). Dentre os animais vivos, os neurônios serotoninérgicos podem ser encontrados em praticamente todos os grupos (Hay-Schmidt, 2000), desde larvas de cnidários, nemertinos e platelmintos, até os seres humanos (Hay-Schmidt, 2000; Brandão, 2004). O sistema serotoninérgico parece ser evolutivamente bastante conservado dentro do sub-filo dos vertebrados. Estudos empregando técnicas de imunofluorescência e imunohistoquímica têm demonstrado que a evolução desse sistema parece envolver alteração no padrão de distribuição dos grupos serotoninérgicos, com um progressivo desaparecimento das populações mais rostrais (telencéfalo e diencéfalo) e aumento do número de populações do tronco cerebral (Parent, 1984). Em peixes, esse sistema está espalhado por praticamente todas as regiões encefálicas, sendo esta ampla distribuição observada em agnatas (Abalo et al., 2007), esturjões (Adrio et al., 1999), condrósteos (Chiba, 1999), peixes cartilaginosos (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995; Carrera et al., 2008) e teleósteos (Ekström e Van Veen, 1984; Kah e Chambolle, 1983; Oliveri et al., 2005).

Neste contexto, o presente estudo avaliou a distribuição de neurônios serotoninérgicos imunoreativos (5-HTir) no encéfalo de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*).

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local (CEBEA) (Protocolo 005021/09).

1. Animais

O presente estudo utilizou matrinxãs juvenis de $112,76 \pm 1,54$ g e $21,65 \pm 0,20$ cm. Os animais foram mantidos em caixas de 500 L, para adaptação às condições laboratoriais.

2. Delineamento experimental

Foram utilizados 6 animais durante o experimento. Os animais permaneceram por 10 dias em caixa de 500L, sendo alimentados duas vezes ao dia, às 9:00 e às 17:00 h, até a saciedade aparente, com ração comercial Fri-Aqua 32 (Rações Fri-Ribe S.A.). Após esse período os animais foram capturados e submetidos à coleta do encéfalo para análise imunohistoquímica.

2.1. Coleta e processamento

Os animais foram amostrados da caixa de 500L com auxílio de um puçá, anestesiados em benzocaína (100 mg.L^{-1}) e preparados para o procedimento de perfusão. O peixe a ser perfundido foi posicionado em decúbito dorsal em um suporte de contenção preenchido com algodão umedecido, para evitar o ressecamento da pele, e mantido sob ventilação hidráulica contínua das brânquias, com água aerada contendo benzocaína (50 mg.L^{-1}). Foi, então, realizada uma incisão na região peritonial para a exposição do coração, inserida uma agulha de perfusão na parte esquerda do ventrículo cardíaco. O animal foi inicialmente perfundido com solução Ringer para peixes (1 mL por grama de massa corpórea), com uma bomba de perfusão (Master Flex), e em seguida com uma solução de paraformaldeído 4%, em tampão fosfato 0,1M com pH de 7,4 (1 mL por grama de massa corpórea). Após o procedimento de perfusão, a caixa craniana foi aberta e o encéfalo retirado. Os encéfalos foram armazenados 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, *overnight*.

Os encéfalos foram lavados em tampão fosfato 0,2 M, imergidos em Tissue Tek e colocados em gelo seco, para o congelamento rápido. As secções coronais foram realizadas em

criostato (Microm HM 505) a uma espessura de 25µm e montados em laminas previamente gelatinizadas.

3. Análises laboratoriais

3.1. Imunohistoquímica

O procedimento de imunohistoquímica foi realizado sobre as lâminas. Primeiramente as amostras foram lavadas em tampão fosfato 0,01M com pH de 7,4 (PBS) (três lavagens de 10 min cada) e em seguida incubadas em peróxido de hidrogênio 1% por 10 min. Após a incubação, foram realizadas 3 lavagens de 10 min com PBS até a retirada total da espuma formada. As amostras foram, então, incubadas em soro *goat* 2% (Vectastain ABC kit, Vector laboratories), por uma hora, e em seguida, incubadas em anticorpo primário anti-serotonina produzido em coelho (Sigma-Aldrich) 1:250 por 48 h à 4°C. Após a incubação com anticorpo primário, as amostras foram lavadas com PBS (três lavagens de 10 min cada) e incubadas com anticorpo secundário (anti-rabbit) 1:100 (Vectastain ABC kit, Vector laboratories) por uma hora. As amostras foram mais uma vez lavadas em PBS (três lavagens de 10 min cada) e incubadas no kit ABC (complexo avidina-biotina - Vectastain ABC kit, Vector laboratories) por uma hora, sendo, sem seguida, lavadas em PBS (três lavagens de 10 min cada). Após esse procedimento a reação foi revelada utilizando-se uma solução de 3,3'-diaminobenzidina (DAB, Sigma-Aldrich) a 0,3mg/mL e peróxido de hidrogênio 0,1%. As lâminas permaneceram por 24 h à 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. Em seguida as lâminas foram montadas com a colocação de lamínulas utilizando-se 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 fotomicrografados em fotomicroscópio (Leica DM 2500). A identificação e nomenclatura das regiões anatômicas do encéfalo de matrinxã foi baseada em estudos com *Danio rerio* (Willimann et al., 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sensibilidade da análise e dos anticorpos utilizados foi cuidadosamente investigada. Não houve nenhuma reação na ausência do anticorpo primário.

No presente estudo as células 5-HTir foram encontradas espalhadas em núcleos por todo encéfalo, com exceção da região telencefálica (os bulbos olfatórios não foram analisados). A maior parte dos estudos realizados também não detectaram células serotoninérgicas na região do telencéfalo, em vários grupos de peixes (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen, 1984; Stuesse et al., 1991; Khan e Thomas, 1993; Chiba, 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Oliveri et al., 2005; Piñuela e Norchutt, 2007). Entretanto, em estudo com duas espécies de condrósteos (*Acipenser baeri* e *Huso huso*) Adrio et al. (1999) encontraram um pequeno grupo de células na região caudal do telencéfalo, com células em contato com o líquido cerebrospinal. Além disso, estudo com lampreia marinha também demonstrou algumas células distribuídas na região telencefálica (Abalo et al., 2007). Segundo Parent (1984), a evolução do sistema serotoninérgico em vertebrados parece envolver progressivo desaparecimento das populações mais rostrais e o aumento das populações celulares do tronco cerebral. Sendo assim, considerando que os peixes agnatas e condrósteos fazem parte de grupos de peixes mais primitivos, a evolução do sistema serotoninérgico pode ter levado ao desaparecimento dos grupos de células telencefálicas em actinoptérgeos derivados, como os teleósteos. Embora a maior parte dos estudos não tenha encontrado grupos celulares serotoninérgicos no telencéfalo, essa região parece ser amplamente innervada por fibras originadas na região mais caudal do encéfalo (Kah e Chambolle, 1983).

O diencéfalo de matrinxãs não apresenta grande quantidade de núcleos serotoninérgicos como descrito em outros peixes estudados, sendo os núcleos periventriculares bastante reduzidos. Foi observado um grupo na região acima do núcleo prétecal magnocellular, contínuo ao teto óptico. Em estudo com o teleósteo *Gasterosteus aculeatus*, Ekström e Van Veen (1984), descreveram um grupo de células na região prétecal, entretanto, a descrição não permite afirmar que se tratam do mesmo grupo celular. Esse núcleo serotoninérgico não correspondeu a nenhum outro núcleo descrito em outras espécies de peixes (Kah e Chambolle, 1983; Stuesse et al., 1991; Khan e Thomas, 1993; Chiba, 1999; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Abalo et al., 2007; Piñuela e Norchutt, 2007). Outro grupo contendo células de formato mais alongado foi observado na região do núcleo dorsal talâmico, ventral ao núcleo periventricular pretecal, próximo ao ventrículo diencefálico (Figura 1 – A e B). O núcleo dorsal talâmico faz parte do órgão periventricular de peixes e foi descrito em outras espécies (Kah e Chambolle, 1983; Khan e Thomas, 1993;

Adrio et al., 1999; Chiba, 1999). O último grupo diencefálico de matrinxãs foi observado na região do hipotálamo, com células imunorreativas na região ventral do hipotálamo periventricular (Figura 1 – B e C). As células desse grupo foram fortemente marcadas e possuíam formato arredondado, sendo suas projeções indistinguíveis e sem contato com o líquido cerebroespinal. Na maioria dos peixes estudados, a região periventricular do hipotálamo possui uma grande quantidade de células serotoninérgicas, algumas delas em contato com o líquido cerebroespinal do terceiro ventrículo (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen, 1984; Stuesse et al., 1991; Khan e Thomas, 1993; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Oliveri et al., 2005; Abalo et al., 2007) e na região dos recessos lateral e posterior (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen, 1984; Khan e Thomas, 1993; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Abalo et al., 2007). Em 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, como descrito em outras espécies, incluindo peixes teleósteos (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen, 1984; Khan e Thomas, 1993; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Abalo et al., 2007).

No tegmento mesencefálico foram encontradas células serotoninérgicas formando uma coluna longitudinal que se estendeu das adjacências da válvula pré-tectal ventralmente em direção ao núcleo interpeduncular (Figura 2 – A). As células possuíam formato arredondado, algumas alongadas, projetando-se ventrolateralmente. Esse grupo de células foi descrito em outras espécies de peixes, incluindo peixes teleósteos (Ekström e Van Veen, 1984). Parece ser correspondente ao núcleo *raphe linearis* descrito por Stuesse et al. (1991) e Stuesse et al. (1995) para peixes cartilaginosos, ao núcleo da rafe superior descrito por Adrio et al. (1999) para condrósteos e ao núcleo da rafe *dorsalis* descrito por Ekström e Van Veen (1984) e Oliveri et al. (2005), para teleósteos. Caudalmente, ao nível da formação do ventrículo romboencefálico, este grupo de células mesencefálicas arredondadas parece a 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 *raphe dorsalis* (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995; Oliveri et al., 2005) (Figura 2 – B). As células da região medial da rafe vão se tornando menores próximo ao tronco cerebral, enquanto as células da região acima do fascículo medial longitudinal permanecem grandes, mas pouco numerosas.

No tronco cerebral, as células da região da rafe permanecem pequenas, projetando-se dorsoventralmente. Um grupo de células pode ser observado na formação reticular, com um

grande número de células de formato variável, projetando-se lateralmente (Figura 2 – C). Este núcleo reticular parece corresponder ao núcleo *reticularis pontis oralis* (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995) e ao núcleo reticular superior (Adrio et al., 1999). Na altura da comissura do núcleo gustatório secundário ocorre o aparecimento de um núcleo reticular lateral, lateralmente ao ventrículo romboencefálico, com células alongadas projetando-se lateroventralmente (Figura 2 – D). Este grupo reticular lateral parece corresponder ao núcleo *reticularis parvocellularis* (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995). Nesta região as células da rafe permanecem pequenas, projetando-se dorsoventralmente, e o núcleo reticular (*reticularis pontis oralis*) apresenta células grandes e espalhadas por toda formação reticular.

Ao nível do nervo octaval (VIII), o núcleo reticular apresenta um grande número de células grandes, de formatos variados. Ao nível do nervo sensorial facial (VII), as células da região da rafe começam a se projetar lateralmente, parecendo corresponder ao início do núcleo *raphe magnus* (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995) e ao núcleo da rafe medial (Ekström e Van Veen, 1984; Adrio et al., 1999). Nesta região, a formação reticular apresenta um extenso grupo com células de tamanho e formato variável, parecendo corresponder ao núcleo *reticularis magnocellularis* (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995) e ao núcleo reticular medial (Adrio et al., 1999) (Figura 2 – E). Nesta área, o núcleo reticular lateral (*reticularis parvocellularis*) já não é mais observado.

Ao nível do início da separação do ventrículo romboencefálico, as células do núcleo reticular se apresentam bastante grandes e é observado um pequeno grupo de células na região ventral da formação reticular (Figura 2 – F). Nesse nível também pode ser observado um grupo de células bastante pequenas na região do núcleo octaval magnocelular. Esse núcleo não apresentou correspondência com núcleos serotoninérgicos descritos em outros trabalhos (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995; Adrio et al., 1999). Após a separação completa do ventrículo as células do núcleo reticular se espalham lateralmente ao ventrículo, e as células do núcleo da rafe permanecem pequenas, projetando-se lateralmente.

A presença de núcleos serotoninérgicos na região da rafe e da formação reticular observada no presente estudo tem sido demonstrada em todas as espécies de peixes estudadas (Kah e Chambolle, 1983; Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995; Khan e Thomas, 1993; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Oliveri et al., 2005; Abalo et al., 2007). O matrinxã apresentou grupos celulares reticulares bastante densos, de forma semelhante a estudos com condrósteos (Adrio et al., 1999) e peixes cartilaginosos (Stuesse et al., 1991; Stuesse et al., 1995). Entretanto, estudos com outros teleósteos não descrevem um sistema serotoninérgico reticular muito desenvolvido (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen,

1984). Essa região parece ser filogeneticamente antiga, sendo observada desde peixes agnathas até mamíferos (Parent, 1984).

Segundo Parent (1984), anamniotas apresentam núcleos de células serotoninérgicas em praticamente todas as regiões encefálicas, sendo que algumas destas células fazem contato com o líquido cerebrospinal, principalmente na região em torno de vários recessos ventriculares hipotalâmicos. Esses conjuntos de células em contato com o líquido cerebrospinal formam o órgão periventricular (PVO), que emite eferências intrahipotalâmicas e extrahipotalâmicas. Em peixes, a maior parte dos estudos descreve a existência destes grupos celulares (Kah e Chambolle, 1983; Ekström e Van Veen, 1984; Chiba, 1999; Adrio et al., 1999; Rodríguez-Gomes et al., 2000; Abalo et al., 2007; Piñuela e Northcutt, 2007; Carrera et al., 2008). No presente estudo, nenhum dos grupos serotoninérgicos descritos possuíam células em contato com o líquido cerebrospinal. A ausência dessas células, juntamente com a ausência de grupos celulares telencefálicos e presença de poucos grupos diencefálicos, pode estar relacionado ao processo de evolução do sistema serotoninérgico, já que, segundo Parent et al., (1984), a evolução desse sistema em vertebrados envolve progressivo desaparecimento das populações mais rostrais e de células em contato com o líquido cerebrospinal. Entretanto, é possível, também, que a ausência destes grupos celulares esteja relacionada à baixa sensibilidade da análise realizada. Na maior parte dos grupos serotoninérgicos observados as projeções axônicas não puderam ser claramente distinguidas. Sendo assim, a técnica aplicada no presente estudo não permite afirmar a ausência desses grupos serotoninérgicos no encéfalo de matrinxã, sendo necessários novos estudos para a análise mais detalhada desses núcleos.

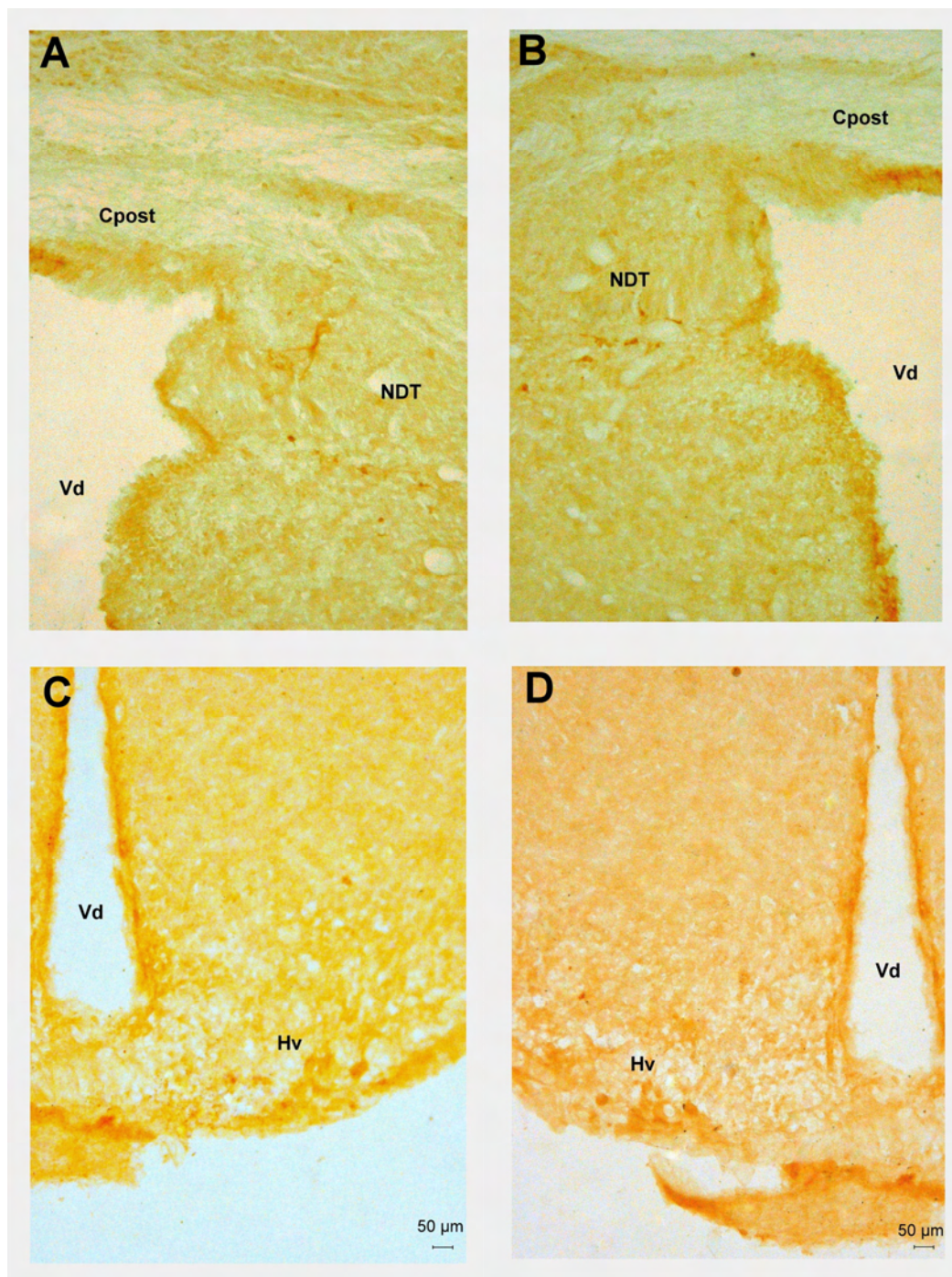


Figura 1. Fotomicrografias de encéfalos de matrinxã (*Brycon amazonicus*) evidenciando os neurônios serotoninérgicos imunorreativos da região do diencéfalo.

Cpost – Comissura posterior; **Hv** – Região periventricular do hipotálamo ventral; **NDT** – Núcleo dorsal talâmico; **Vd** – Ventrículo diencefálico.

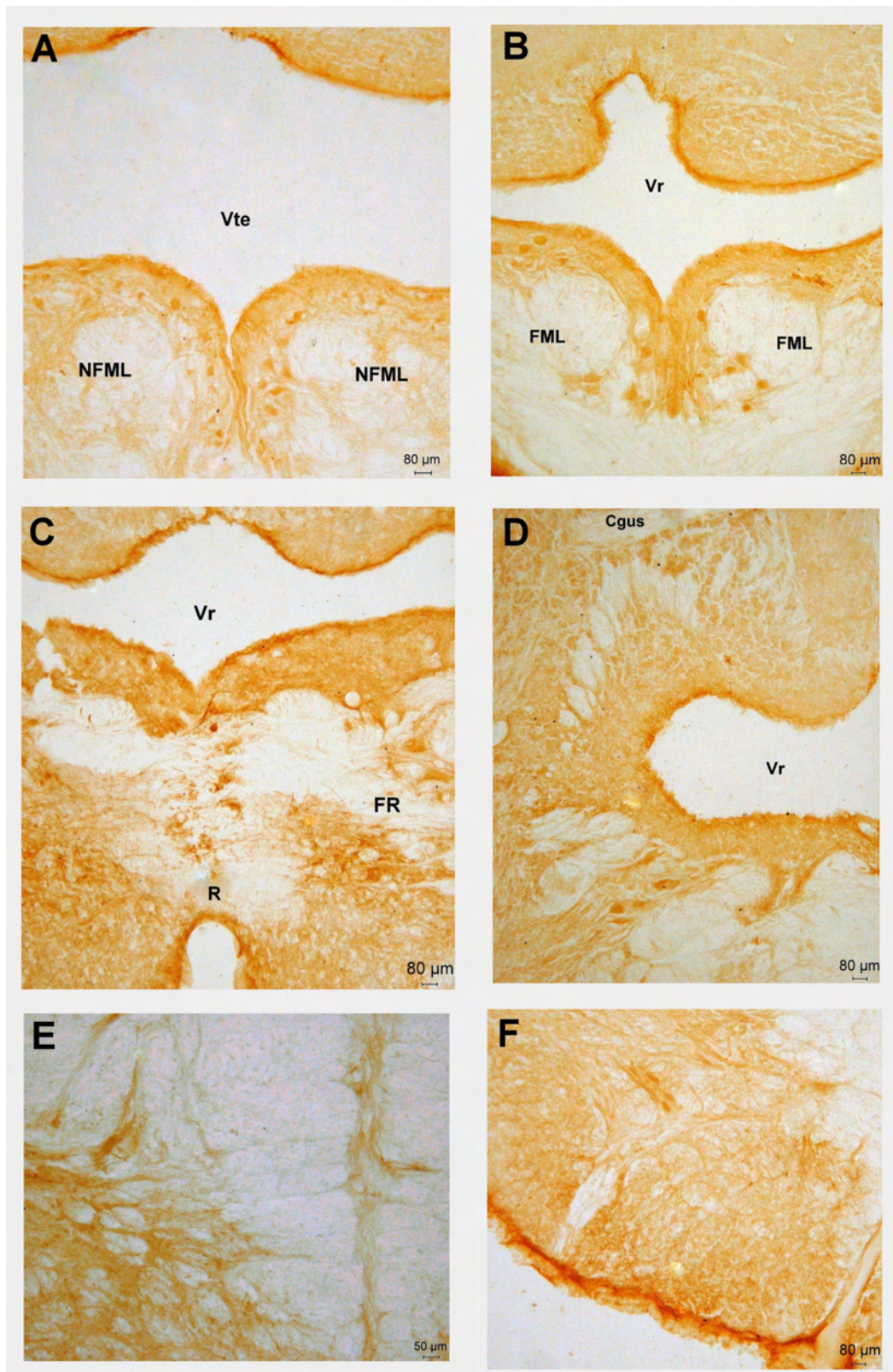


Figura 2. Fotomicrografias de encéfalos de matrinxã (*Brycon amazonicus*) evidenciando os neurônios serotoninérgicos imunorreativos das regiões do mesencéfalo e romboencéfalo.

Cgus – Comissura do nervo gustatório secundário; **FML** – Fascículo medial longitudinal; **FR** – Formação reticular; **NFML** – Núcleo do fascículo medial longitudinal; **R** – Rafe; **Vr** – Ventrículo romboencefálico; **Vte** – Ventrículo tectal.

CONCLUSÕES

Concluimos que a distribuição dos neurônios serotoninérgicos do matrinxã se assemelha a de outras espécies de peixes, com grupos celulares espalhados por praticamente todas as regiões encefálicas, representados na região diencefálica, mesencefálica e romboencefálica, sem células em contato com o líquido cerebrospinal. Entretanto, a despeito dessa ampla distribuição, o sistema serotoninérgico do matrinxã é mais desenvolvido nas regiões mais caudais (tegmento mesencefálico, rafe e formação reticular), com grupos de células bastante densos, sendo encontrados poucos grupos celulares nas regiões mais rostrais.

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. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, v. 34, p. 29-46, 2007.
- Adrio, F.; Anadón, R.; Rodríguez-Moldes, I. Distribution of serotonin (5HT)-Immunoreactive structures in the central nervous system of two chondrosteian species (*Acipenser baeri* and *Huso huso*). *The Journal of Comparative Neurology*, v. 407, p. 333-348, 1999.
- Alee, S.J.; Markham, M.R.; Salazar, V.L.; Stoddard, P.K. Opposing actions of 5-HT_{1A} and 5-HT₂-like serotonin receptors on modulations of the electric signal waveform in the electric fish *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Hormones and Behavior*, v.53, p. 481-488, 2008.
- Brandão, M.L. As bases biológicas do comportamento: introdução à neurociência. São Paulo: EPU, 223p, 2004.
- Carrera, I.; Molist, P.; Anadón, R.; Rodríguez-Moldes, I. Development of the serotonergic system in the central nervous system of a shark, the lesser spotted dogfish *Scyliorhinus canícula*. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 511, p. 804-831, 2008.
- Chiba, A. Immunohistochemical mapping of serotonin-containing neurons in the brain of the Senegal bichir, *Polypterus senegalus* (Brachiopterygii, Osteichthyes). *Zoological Science*, v. 16, p. 395-399, 1999.
- Ekström, P.; Van Veen, T. Distribution of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the brain of the teleost *Gasterosteus aculeatus* L. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 226, p. 307-320, 1984.
- Hannon, J.; Hoyer, D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research*. v. 195, p. 198-213, 2008.
- Hay-Schmidt, A. The evolution of the serotonergic nervous system. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 267, p. 1071-1079, 2000.
- Kah, O.; Chambolle, P. Serotonin in the brain of the goldfish, *Carassius auratus*. *Cell and Tissue Research*. v. 234, p. 319-333, 1983.
- Khan, I.A.; Thomas, P. Immunocytochemical localization of serotonin and gonadotropin-releasing hormone in the brain and pituitary gland of the Atlantic croaker *Micropogonias undulatus*. *General and comparative endocrinology*. v. 91, p. 167-180, 1993.
- Oliveri, D.; Candiani, S.; Parodi, M.; Bertini, E.; Pestarino, M. A serotonergic system in the brain of the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. *Polar Biology*, v. 28, p. 366-371, 2005.
- Parent, A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic systems. *American Zoology*, v. 24, p. 783-790, 1984.
- Piñuela, C.; Northcutt, R.G. Immunohistochemical organization of the forebrain in the white sturgeon *Acipenser transmontanus*. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 69, p. 229-253, 2007.

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*: an immunohistochemical study. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 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 Behavior Evolution*. v. 38, p. 39-52, 1991.

Stuesse, S.L.; Stuesse, D.C.; Cruce, W.L.R. Raphe nuclei in three cartilaginous fishes, *Hydrolagus colliei*, *Heterodontus francisci*, and *Squalus acanthias*. *The journal of comparative neurology*. v. 358, p. 414-427, 1995.

Williman, M.F.; Rupp, B.; Reichert, H. *Neuroanatomy of the zebrafish brain: a topological atlas*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1996.

CAPÍTULO 3

SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE JUVENIS DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)
COM TRIPTOFANO.

INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO AGRESSIVO, EM INDICADORES
FISIOLÓGICOS DE ESTRESSE E EM NEUROTRANSMISSORES REGULADORES DA
AGRESSÃO.

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito do triptofano (TRP), no comportamento agressivo, nas variáveis fisiológicas de estresse e nos principais neurotransmissores reguladores da agressão de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Para tanto, os peixes foram distribuídos em aquários individuais onde permaneceram por 3 dias recebendo ração comercial e 7 dias recebendo as rações experimentais: Controle (4.7g TRP.kg⁻¹), 2X (9.4g TRP.kg⁻¹) e 4X (18.8g TRP.kg⁻¹). No experimento 1, após esse período, foi realizada a coleta de sangue, encéfalo e fígado para análises fisiológicas e neuroendócrinas (glicose; hemoglobina, hematócrito, número e volume dos eritrócitos; serotonina (5-HT) e seu principal metabólito (5-HIAA), dopamina (DA) e seu principal metabólito (DOPAC) e noradrenalina (NA); glicogênio e lipídeo hepático), e gônadas para determinação do gênero. No experimento 2, após o mesmo período, foi inserido um intruso no aquário, sendo o comportamento avaliado após o agrupamento (0 h), e após 3, 6 h de luta. As coletas fisiológicas foram realizadas após o agrupamento (0 h) e após 24 h de luta. O TRP diminuiu a agressão direta e aumentou as latências para os ataques e os comportamentos de ameaça, sendo esse efeito restrito ao início da luta. Além disso, diminuiu a ativação dopaminérgica durante a luta e não influenciou a atividade serotoninérgica, embora a 5-HT tenha apresentado correlação negativa com as tentativas de mordida e positiva com a latência para a primeira mordida e o tempo de vigia. O TRP promoveu, também, alteração no perfil metabólico dos animais, com aumentos na glicemia e no índice hepatossomático. A interação social desencadeou aumento nos níveis de glicose plasmática e nas variáveis hematológicas e diminuição do índice hepatossomático. Foram, também, observadas diferenças entre os gêneros, com machos apresentando comportamento mais agressivo e maiores níveis de NA, e as fêmeas apresentando menores latências para os ataques e maior número de colisões. Além disso, fêmeas apresentaram parâmetros sanguíneos mais elevados que os machos em animais não submetidos à luta. Os resultados demonstram que o TRP desencadeia uma modificação da estratégia comportamental dos peixes apenas no início da luta, sendo esse efeito relacionado com a atividade da serotonina e a diminuição da ativação dopaminérgica durante a interação. Além disso, foi observado que a interação social com um intruso é estressante para a espécie, sendo que machos e fêmeas podem responder diferentemente à luta.

Palavras-chave: agressividade, estresse social, matrinxã, monoaminas, triptofano.

INTRODUÇÃO

O comportamento agressivo é um conjunto complexo de comportamentos ofensivos e/ou ameaçadores com várias funções adaptativas (Hickman et al., 2004; Soma et al., 2008), sendo fundamental na competição por recursos limitados, assegurando acesso à comida e segurança, sucesso reprodutivo e proteção da prole (Karl et al., 2004; De Almeida et al., 2005). Esse comportamento é realizado por praticamente todos os animais, e embora possa trazer uma série de vantagens competitivas, consome tempo e pode causar injúrias no animal, principalmente quando o ambiente restringe as oportunidades de fuga e sinalização social (Nelson e Trainor, 2007). Na criação intensiva, por exemplo, o espaço reduzido e o adensamento impedem a fuga e o comportamento agressivo dos animais se torna um problema, tanto pelas perdas diretas causadas pelas lutas entre os indivíduos quanto pelo estresse social gerado pelas interações agressivas. Além disso, a interação agressiva e a formação e manutenção de hierarquias sociais são altamente estressantes, tanto para os animais dominantes quanto para os subordinados, causando perdas econômicas e infringindo o bem estar dos peixes (Winberg e Lepage, 1998; Øverli, 1999a; Summers, 2002; Ashley, 2006).

A agressividade é finamente regulada por regiões específicas do sistema nervoso central por meio de um complexo sistema neuroendócrino, composto de uma série de neurotransmissores e hormônios (Nelson e Chiavegatto, 2001; Hrabovszky et al., 2005; Nelson e Trainor, 2007), sendo a serotonina o neurotransmissor chave desta regulação (Nelson e Chiavegatto, 2001; Popova, 2006). Estudos indicam que a serotonina exerce um papel inibitório no comportamento agressivo de vertebrados, entretanto, seus mecanismos de ação no controle deste comportamento ainda não foram completamente elucidados (Nelson e Chiavegatto, 2001). Sendo assim, a compreensão dos mecanismos de ação da serotonina na regulação da agressividade pode auxiliar o desenvolvimento de tecnologias de produção visando o controle deste comportamento, permitindo o aumento do bem estar dos animais e a diminuição dos efeitos deletérios causados pelo estresse social dentro do ambiente de produção.

A suplementação da alimentação com o aminoácido essencial L-triptofano (L-TRP), precursor da serotonina, tem sido usada como estratégia de controle da agressividade e redução do estresse em várias espécies de peixes (Hseu et al., 2003; Höglund et al., 2005; Lepage et al., 2002; Lepage et al., 2003; Lepage et al., 2005). A reação de biossíntese da serotonina é catalizada pelas enzimas triptofano hidroxilase (TPH), que promove a hidroxilação do triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e a descarboxilase de aminoácidos

(L) aromáticos que converte o 5-HTP em serotonina, sendo que a TPH é específica para esta reação e controla a taxa de biossíntese da serotonina. Em peixes, assim como em mamíferos, a TPH não é saturada pelo substrato, sendo a disponibilidade de triptofano o fator limitante para a síntese de serotonina (Fernstrom e Wurtman, 1972; Aldegunde et al., 1998; Aldegunde et al., 2000). Estudos indicam que a suplementação alimentar com triptofano eleva a atividade serotoninérgica cerebral em peixes (Hseu et al., 2003; Höglund et al., 2005; Lepage et al., 2002; Lepage et al. 2003; Lepage et al. 2005), diminuindo o comportamento agressivo (Hseu et al., 2003; Höglund et al., 2005; Lepage et al. 2005), e alterando a responsividade ao estresse (Winberg et al., 1997; Höglund et al., 2002; Lepage et al. 2002; Lepage et al. 2005).

Sendo assim, neste estudo foi avaliado o efeito da suplementação alimentar com diferentes níveis de triptofano no estresse, no comportamento agressivo e nos neurotransmissores reguladores da agressão em juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*).

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local (CEBEA) (Protocolo 005021/09).

1. Animais

O presente estudo utilizou matrinxãs juvenis (*Brycon amazonicus*) ($110,56 \pm 1,33$ g e $20,25 \pm 0,16$ cm), que foram mantidos por 10 dias em caixas de 500 L, para adaptação às condições laboratoriais, antes da realização dos experimentos. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, às 9:00 e às 17:00 h, até a saciedade aparente, com ração comercial Fri-Aqua 32 (Rações Fri-Ribe S.A.).

2. Unidades experimentais

Foram utilizados aquários de 96 L (60cm X 40cm X 40 cm), sem renovação de água, com aeração constante e temperatura controlada. As laterais dos aquários foram cobertas com papel pardo para impedir a visualização dos animais dos aquários vizinhos e a parte de trás do aquário foi coberta com um papel quadriculado que divida a área em nove quadrantes iguais, utilizados durante a análise comportamental. Foram utilizadas, ainda, caixas de 50 L, sem renovação de água e com aeração.

3. Tratamentos

Os tratamentos experimentais foram os seguintes:

- Tratamento 1 (Controle): Ração comercial (0,47 g de L-TRP / 100g de ração)
- Tratamento 2 (2X): Ração comercial enriquecida 2X (0,94 g de L-TRP/ 100g de ração)
- Tratamento 3 (4X): Ração comercial enriquecida 4X (1,88 g de L-TRP/ 100g de ração)

3.1. Preparação da ração

A concentração de L-triptofano a ser utilizada na suplementação da ração considerou os valores existentes na ração comercial Fri-Aqua 32 (Rações Fri-Ribe S.A.). Para a preparação de 1kg de ração suplementada, a quantidade de L-triptofano puro em pó, referente a cada tratamento (tratamento 2X: 4,7 g; tratamento 4X: 14,1 g), foi diluída em 60 mL de solução de ácido clorídrico 10% e acrescida a 80 mL de álcool etílico. A ração comercial foi

pesada, espalhada uniformemente em uma bandeja e borrifada com as soluções descritas acima. Em seguida, a ração foi seca em estufa ventilada a 35°C por 24 h. Para o controle de efeitos de palatabilidade, a ração administrada aos peixes do grupo controle também foi borrifada com a solução de 60 mL de ácido clorídrico 10% + 80 mL de álcool etílico, sem adição de L-triptofano, e seca nas mesmas condições descritas.

4. Procedimentos de coleta de material biológico

Para a realização das coletas os peixes foram anestesiados em benzocaína (100 mg.L⁻¹). Foi realizada a coleta de sangue por punção do vaso caudal. O sangue foi acrescido de 15 µl do anticoagulante (EDTA fluoretado - Glistab Labtest) e resfriado, sendo destinado às análises no sangue total e à obtenção de plasma. Em seguida, os animais foram submetidos à decaptação e remoção do encéfalo; os encéfalos foram colocados em folhas de alumínio, imediatamente congelados em gelo seco e armazenados a -70°C (menos de 2 min após a decaptação). Após esse procedimento, realizou-se uma incisão ventral para a exposição das vísceras e dissecação do fígado e das gônadas. O fígado foi pesado, para obtenção do índice hepatossomático, congelado em gelo seco e armazenado a -20°C. As gônadas foram observadas *in loco* com relação aos aspectos anatômicos, coloração, espessura, intensidade de irrigação sanguínea superficial e disposição em relação a outros órgãos da cavidade abdominal e, em seguida, foram dissecadas e fixadas em solução de formol tamponado 10%.

5. Análises laboratoriais

5.1. Sangue total

No sangue total foram determinadas as variáveis hematológicas (HGB - hemoglobina, HCT- hematócrito, RBC - número de eritrócitos e VCM - volume dos eritrócitos) por meio do contador de células sanguíneas Celm DA-500.

5.2. Plasma

O plasma foi obtido pela centrifugação do sangue total a 3000 RPM por 10 min, à temperatura de 4°C (Centrífuga refrigerada ALC-PK121R). No plasma foram determinados os níveis de glicose plasmática, pelo método enzimático (Kit Labtest).

5.3. Encéfalo

Para as microdissecções dos encéfalos congelados, foram realizados cortes coronais a -10°C em criostato (Microm HM 505). No início da região diencefálica, após a separação da comissura horizontal, foram realizados dois cortes consecutivos de 1000 µm cada um, abrangendo a região do hipotálamo (Figura 1). Os cortes foram montados em lâminas de vidro refrigeradas para a microdissecção pela técnica de “punch” (Palkovits, 1973). O hipotálamo foi dissecado em ambos os cortes utilizando-se uma agulha perfuradora quadrada de 2,0 mm², centralmente na região ventral do corte. Os “punchs” foram colocados em tubos plásticos graduados (500 µl) e homogenizados em 300 µl de solução de ácido perclórico 0,2 M e EDTA 0,1 mM. Os homogenizados foram centrifugados por 20 min a 12.000 *x g*, o sobrenadante filtrado em filtro de 0,22 µm (Millex PVDF, Millipore) e colocado em frascos auto-injetores para a determinação dos níveis de serotonina (5-hidroxitriptamina - 5-HT) e seu metabólito (ácido 5-hidroxiindoleacético - 5-HIAA), dopamina (DA) e seu metabólito (ácido diidroxifenilacético - DOPAC) e noradrenalina (NE), pelo método de cromatografia líquida de alta pressão com detecção eletroquímica (HPLC-ED). O precipitado remanescente foi utilizado na determinação de proteína (Bradford, 1976).

Na análise de HPLC-ED, 30 µl de cada amostra foram injetados por um auto-injetor (SIL – 10Advp, Shimadzu), sendo a separação realizada a 35°C em uma coluna de fase reversa C18 de 250 x 4,6 mm (Shim-pack VP-ODS, 5µm, Shimadzu), precedida por uma coluna “guarda” C18 de 10 x 4,6 mm. A fase móvel foi preparada com água Mili-Q (Simplicity 185, Millipore), consistindo de diidrogenofosfato de sódio monohidratado a 100 mM (Merck), cloreto de sódio a 10 mM (Merck), EDTA a 0,1 mM (Merck), ácido 1-octanesulfônico sódico a 0,20mM (Sigma) e metanol a 14% (Omnisolv, EMD Chemical Inc.), sendo o pH ajustado para 3,5 com ácido fosfórico (Merck). O fluxo de injeção das amostras foi ajustado para 0,8 mL.min⁻¹, em uma bomba de pistão duplo (LC-10 Advp, Shimadzu). O potencial detector foi 0,60 V *versus* Ag/AgCl *in situ* (Decade, VT-03 eletrochemical flow cell, Antec Leyden, Netherlands). Os dados da cromatografia foram analisados usando o programa Class-VP (Shimadzu), sendo as substâncias (serotonina, 5-HIAA, dopamina, DOPAC e noradrenalina) identificadas por seus picos de tempo de retenção e quantificadas pelo método de padrão externo baseado na área abaixo do pico. O coeficiente de variação de intra-ensaio foi menor que 3% para todos os componentes analisados (5-HT: 1,89%; 5-HIAA: 2,90%; DA: 1,89%, DOPAC: 1,67%; NA: 0,15%).

As variáveis neuroendócrinas foram avaliadas apenas em animais não submetidos à interação social (experimento 1) e submetidos a 20 minutos de interação (0 h) (experimento 2).

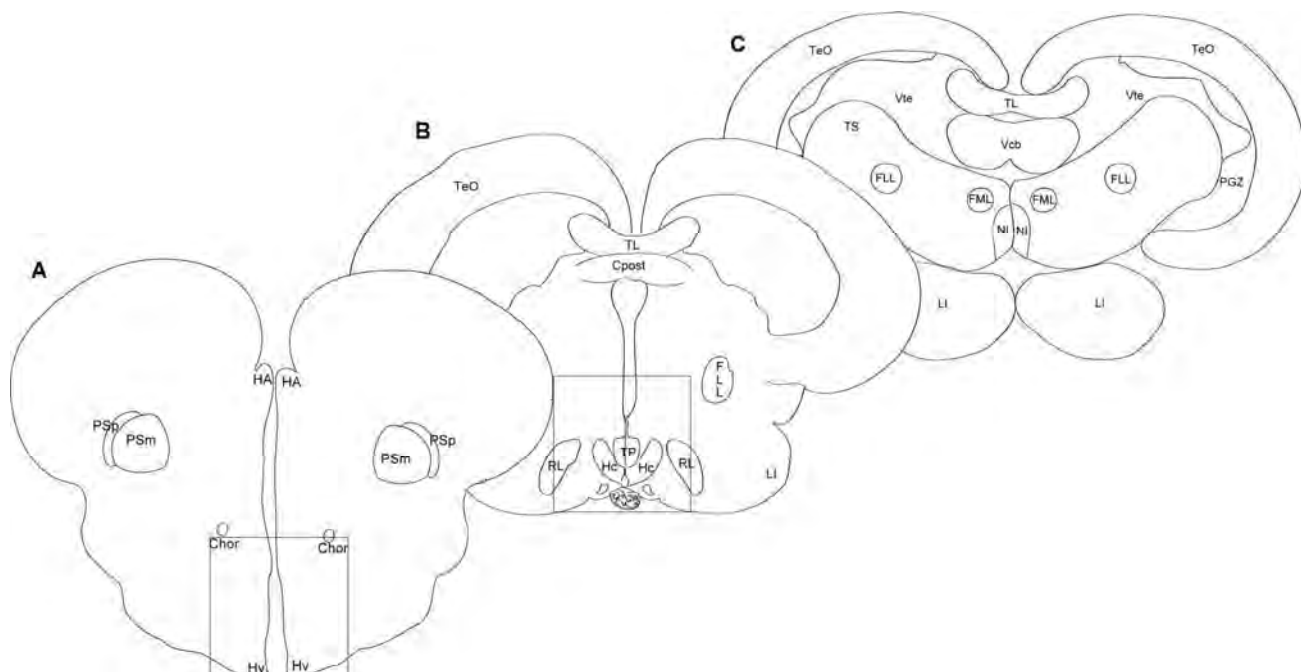


Figura 1. Desenho esquemático dos cortes coronais do encéfalo de matrinxã (*Brycon amazonicus*) realizados para microdissecção pelo método do “punch”. A – Região onde foi realizada a primeira secção coronal; B – Região onde foi realizada a segunda secção coronal; C – Região de finalização das secções coronais. Os quadrados marcam a região onde foi inserida a agulha de microdissecção.

Chor – Comissura horizontal; **Cpost** – Comissura posterior; **FLL** – Fascículo lateral longitudinal; **FML** – Fascículo medial longitudinal; **HA** – Habenula; **Hc** – Hipotálamo caudal; **Hv** – Hipotálamo ventral; **LI** – Lobo inferior do hipotálamo; **NI** – núcleo interpeduncular; **PGZ** – Zona cinzenta periventricular do teto óptico; **PSm** – Núcleo pretectal superficial, porção magnocelular; **PSp** – Núcleo pretectal superficial, porção parvocelular; **TeO** – Teto óptico; **TL** – Torus longitudinalis; **Vcb** – Válvula cerebral; **Vte** – Ventrículo tectal.

5.4. Fígado

Os fígados coletados e armazenados a -20°C foram utilizados para a determinação das concentrações de glicogênio (Moon et al., 1989) e lipídeo total (Bligh e Dyer, 1957).

5.5. Gônadas

As gônadas foram mantidas em solução de formol tamponado 10% por 24 h. Após fixação, foram submetidas ao processamento para microscopia de luz. Procederam-se lavagens em álcool 70⁰GL, desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em série de xilóis, inclusão em parafina, microtomia de 5 µm e coloração pela técnica da hematoxilina de Harris - eosina (HE). Os cortes histológicos foram analisados para a determinação do gênero.

6. Registro do comportamento

O comportamento agonístico foi avaliado a partir das filmagens realizadas. Os comportamentos avaliados no presente estudo foram determinados e descritos por meio da análise do comportamento e montagem de um etograma com a descrição do repertório agressivo da espécie em condições laboratoriais. O etograma foi validado por membros do grupo de trabalho que não participaram da sua montagem, sendo a validação realizada pela leitura da descrição dos comportamentos e posterior reconhecimento deles nas filmagens. Os comportamentos avaliados foram separados em comportamentos de agressão direta (comportamentos de alta intensidade agressiva, em que há contato físico e/ou resultam em uma fuga intensa do oponente) e de ameaça (comportamentos de baixa intensidade agressiva, sem contato físico e sem resultar em fuga intensa do oponente). Os comportamentos de agressão direta avaliados foram:

1. *Mordida corporal*: mordida no corpo do oponente, exceto na cabeça.
2. *Mordida na cabeça*: mordida na cabeça do oponente. A região da cabeça foi delimitada pelos opérculos.
3. *Colisão*: colisão com qualquer parte do corpo do oponente, causada tanto por deslocamento do corpo quanto pelo desvio da rota para atingir oponente.
4. *Perseguição*: explosão de movimento em direção ao oponente, que por sua vez foge do agressor. Para ser considerada como perseguição, o movimento deve exceder um quadrante.

Os comportamentos de ameaça avaliados foram:

1. *Tentativa de mordida*: realização do comportamento de mordida, sem efetivamente morder.
2. *Acompanhamento*: acompanhamento do deslocamento do oponente. O agressor posiciona-se atrás ou na lateral do oponente e segue seu deslocamento, na mesma velocidade.
3. *Vigia*: permanência parada ao lado do oponente, que não está se movimentando, mantendo a cabeça voltada para o oponente.
4. *Ronda*: movimento em torno do oponente, que não está se movimentando.
5. *Arrasto*: nado apoiando assoalho bucal externo no substrato, de forma que seu corpo fique perpendicular ao fundo.
6. *Ciranda*: natação em círculos de ambos os animais, sendo os dois posicionados com a região da cabeça próxima à cauda do oponente. Esse comportamento não

é atribuído a um agressor específico e sim considerado um comportamento comum a ambos os oponentes.

A latência para cada um dos comportamentos agressivos avaliados foi quantificada apenas no primeiro período de observação (0 h).

O índice de dominância foi calculado a partir do número e tempo de comportamentos agressivos realizados e recebidos por cada indivíduo, utilizando-se a equação (Adaptado de Winberg et al., 1992):

$$ID = [Agg_n^+ / (Agg_n^+ + Agg_n^-)] + [Agg_s^+ / (Agg_s^+ + Agg_s^-)] / 2$$

Onde: Agg_n^+ : o número de atos agressivos realizados

Agg_n^- : o número de atos agressivos recebidos

Agg_s^+ : o tempo de comportamentos agressivos realizados

Agg_s^- : o tempo de comportamentos agressivos recebidos

7. *Análise estatística*

Os dados foram analisados como um modelo linear misto, usando o procedimento MIXED do SAS V9.2. O modelo incluiu o efeito randômico dos blocos, blocos x tratamentos x gênero e aquários dentro dos blocos x tratamentos x gênero, e os efeitos fixos do tratamento, gênero, tempo (apenas no experimento 2) e todas as interações entre eles. A correlação das medidas repetidas do mesmo peixe no tempo foi modelada utilizando uma estrutura autoregressiva de primeiro grau (a estrutura AR no MIXED). Contrastes ortogonais polinomiais para os efeitos lineares foram usados para decompor o efeito do tratamento e do tempo em contrastes de graus de liberdade simples. As variáveis que não apresentavam distribuição normal foram analisadas utilizando a transformação em log. As médias (ou seus anti-logs para as variáveis transformadas) e seus erros padrão são apresentados. As médias foram comparadas pelo teste de Fisher (diferenças significativas protegidas) a um nível de significância de $P < 0,05$, enquanto as tendências foram avaliadas ao nível de significância de $0,05 < P < 0,07$.

Para examinar o efeito das variáveis neuroendócrinas sobre o comportamento do residente, e do comportamento do intruso sobre o comportamento do residente foi realizada a correlação entre os resíduos do modelo estatístico linear misto e as medidas das variáveis neuroendócrinas dos residentes e dos comportamentos do intruso, utilizando-se coeficiente de correlação não paramétrico SPEARMAN.

8. Experimento 1: Suplementação alimentar com triptofano em juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Influência nos indicadores fisiológicos de estresse e em neurotransmissores reguladores da agressão

8.1. *Delineamento experimental*

Foram utilizados 36 peixes separados em dois blocos experimentais amostrados em períodos diferentes. Em cada bloco, 18 peixes foram distribuídos aleatoriamente nos três tratamentos descritos (6 animais por tratamento em cada bloco, n=12). Os animais permaneceram em aquários individuais por 10 dias, sendo três dias para aclimação (alimentados com ração comercial) e sete dias recebendo as rações experimentais. A alimentação foi oferecida duas vezes ao dia (9:00 e 17:00 h), e o consumo diário foi quantificado pela contagem dos pêletes ingeridos. Após esse período, os peixes foram submetidos à coleta de sangue e fígado para análises fisiológicas, encéfalo para as análises neuroendócrinas e gônadas para determinação do gênero.

As variáveis físico-químicas da água foram mantidas dentro dos limites recomendados para espécies tropicais durante todo o experimento (Boyd, 1982). A temperatura foi de $29,21 \pm 0,12$ °C, o pH foi de $8,33 \pm 0,05$, a concentração de oxigênio dissolvido foi de $5,88 \pm 0,15$ mg.L⁻¹ e as concentrações de amônia ionizada e não-ionizada foram $3,41 \pm 0,54$ mg.L⁻¹ e $0,60 \pm 0,12$ mg.L⁻¹, respectivamente.

9. Experimento 2: Suplementação alimentar com triptofano em juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à interação social com um intruso intraespecífico. Influência no comportamento agressivo, em indicadores fisiológicos de estresse e em neurotransmissores reguladores da agressão

9.1. *Delineamento experimental*

Foram utilizados 144 peixes, sendo 72 residentes e 72 intrusos. O experimento foi conduzido em quatro blocos de 36 animais cada (18 residentes e 18 intrusos) amostrados em períodos diferentes. Em cada bloco, 18 peixes foram anestesiados, marcados com um corte no lobo superior da nadadeira caudal (para a diferenciação na análise comportamental) e distribuídos em aquários individuais (residentes). Do mesmo modo, outros 18 peixes foram anestesiados, marcados com um corte no lobo inferior da nadadeira caudal, e distribuídos em caixas individuais (intrusos). Cada bloco experimental foi amostrado por 10 dias (três dias

para aclimação e sete dias para alimentação experimental). Os tratamentos foram aplicados apenas aos peixes residentes, e foram distribuídos aleatoriamente entre os aquários (6 animais por tratamento em cada bloco). A alimentação foi oferecida duas vezes ao dia (9:00 e 17:00 h), e o consumo de ração registrado por contagem do número de péletes ingeridos. Após os sete dias de alimentação experimental, foi aplicado o desafio social de confronto. Para isso, um peixe intruso, de peso e comprimento semelhante ao residente (diferença menor que 10% do peso), foi colocado no aquário de um residente, caracterizando uma relação residente/intruso. Os aquários foram filmados por 20 min após o agrupamento (0 h). Posteriormente, três aquários de cada tratamento foram submetidos à amostragem de sangue e fígado para análises fisiológicas, encéfalo para análises neuroendócrinas e gônadas para determinação do gênero.

Os demais animais permaneceram juntos (relação residente/intruso), sendo filmados novamente três, seis e vinte e quatro horas após o agrupamento, por um período de 20 min. Após a última filmagem, os animais foram submetidos ao mesmo procedimento de amostragem descrito anteriormente. Nas coletas de material biológico, apenas os animais residentes foram amostrados.

As variáveis físico-químicas da água foram mantidas dentro dos limites recomendados para espécies tropicais durante todo experimento (Boyd, 1982). A temperatura foi de $28,29 \pm 0,22$ °C, o pH foi de $7,89 \pm 0,03$, a concentração de oxigênio dissolvido foi de $6,18 \pm 0,079$ mg.L⁻¹ e as concentrações de amônia ionizada e não-ionizada foram $0,50 \pm 0,14$ mg.L⁻¹ e $0,03 \pm 0,03$ mg.L⁻¹, respectivamente.

RESULTADOS

A análise das gônadas permitiu a determinação do gênero dos animais, mesmo se tratando de juvenis. As características das gônadas foram semelhantes nos dois experimentos. Os machos possuíam testículos pares, em forma de fio transparente, localizados ventralmente ao sistema renal e ventrolateralmente à bexiga natatória. Microscopicamente, os testículos eram constituídos por túnica albugínea e tecido conjuntivo que envolvia os túbulos seminíferos, que apresentaram apenas espermatogônias em seu interior. As fêmeas possuíam ovários pares achatados dorsoventralmente em forma de fita transparente. Estruturalmente eram constituídos por uma túnica albugínea da qual se projetavam prolongamentos de tecido conjuntivo formando as lamelas ovulíferas, que continham, em seu interior, ovócitos pré-vitelogênicos na fase perinucleolar. O núcleo das células era esférico e com presença de nucléolos em toda a sua extensão periférica. O citoplasma era basófilo.

1. Experimento 1

1.1. Variáveis fisiológicas

O número de eritrócitos ($P=0,3803$), o hematócrito ($P=0,2750$), o volume corpuscular médio ($P=0,3236$) e a hemoglobina ($P=0,4752$) não foram influenciados significativamente pela suplementação alimentar com triptofano (Tabela 1). Entretanto, o gênero influenciou significativamente as variáveis hematológicas, independente do tratamento. O número de células sanguíneas ($P=0,0295$), o hematócrito ($P=0,0149$) e a hemoglobina ($P=0,0460$) foram maiores em fêmeas que em machos (Figuras 2, 3 e 4). O volume corpuscular médio ($P=0,8554$) não variou entre os sexos.

A glicose plasmática não foi significativamente afetada pela suplementação alimentar com triptofano ($P=0,2206$) e o pelo gênero de maneira isolada ($P=0,1429$). Entretanto, houve uma interação significativa entre tratamento e gênero ($P=0,0500$) (Tabela 2). Os níveis de glicose foram significativamente mais elevados em machos alimentados com ração 4X quando comparados com machos e fêmeas alimentados com ração controle e fêmeas alimentadas com ração 2X e 4X. As concentrações de glicogênio e lipídio total não foram afetadas pelos tratamentos ($P=0,9144$ e $P=0,4957$, respectivamente) e pelo gênero ($P=0,7635$ e $P=0,7705$, respectivamente). O tratamento também não influenciou significativamente o índice hepatossomático ($P=0,2559$). Entretanto, houve um aumento linear nesse índice ($P=0,0386$) com o aumento das concentrações de triptofano dietário (Figura 5).

1.2. Variáveis neuroendócrinas

As variáveis neuroendócrinas estão apresentadas na Tabelas 3. Os níveis de dopamina (DA) e seu principal metabólito, ácido diidroxifenilacético (DOPAC), não foram influenciados pelo tratamento ($P=0,9389$ e $P=0,9178$) e pelo gênero ($P=0,9560$ e $P=0,9912$). Os níveis de serotonina (5-HT) e seu metabólito principal, ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA), também não foram afetados pela suplementação da alimentar com triptofano ($P=0,8535$ e $P=0,9466$) e pelo gênero ($P=0,8632$ e $P=0,6763$). O tratamento e o gênero também não influenciaram os níveis de noradrenalina (NA) ($P=0,8154$ e $P=0,5168$), a taxa DOPAC/DA ($P=0,9135$ e $P=0,9366$) e a taxa 5-HIAA/5-HT ($P=0,8683$ e $P=0,6270$).

Os níveis de serotonina foram positivamente correlacionados com a noradrenalina ($P<0,0001$), a dopamina ($P<0,0001$) e o 5-HIAA ($P=0,0006$) e negativamente correlacionados com a taxa DOPAC/DA ($P=0,0005$) e com a taxa 5-HIAA/5-HT ($P=0,0138$). O 5-HIAA também foi positivamente correlacionado com a noradrenalina ($P=0,0005$) e o DOPAC ($P<0,0001$). Os níveis de dopamina foram positivamente correlacionados com a noradrenalina ($P<0,0001$), o DOPAC ($P=0,0020$) e o 5-HIAA ($P<0,0001$) e negativamente correlacionados com a taxa 5-HIAA/5-HT ($P=0,0137$). Os níveis de DOPAC foram positivamente correlacionados com a noradrenalina ($P=0,0007$) e com a taxa DOPAC/DA ($P=0,0064$). Houve, ainda, correlação negativa entre a taxa DOPAC/DA e a taxa 5-HIAA/5-HT ($P<0,0001$).

Tabela 1. Variáveis hematológicas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano.

	Controle	2X	4X
RBC ($10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$)	2,86 $\pm$ 0,14	2,65 $\pm$ 0,14	2,61 $\pm$ 0,11
HCT (%)	31,43 $\pm$ 1,47	29,67 $\pm$ 1,41	28,35 $\pm$ 1,16
VCM (μm^3)	110,12 $\pm$ 1,66	112,13 $\pm$ 1,6	108,98 $\pm$ 1,31
HGB (g.dL ⁻¹)	15,38 $\pm$ 0,95	14,3 $\pm$ 0,92	13,89 $\pm$ 0,76

RBC: Número de Eritrócitos; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; HGB: Hemoglobina.
Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 2. Variáveis metabólicas (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano.

	Macho			Fêmea		
	Controle	2X	4X	Controle	2X	4X
Glicose plasmática (mg.dL ⁻¹)	55,15±5,23 B	69,97±8,56 AB	76,41±5,94 A	62,82±5,23 B	55,79±4,12 B	58,93±5,23 B
Glicogênio hepático (%)	6,23±0,81	6,27±1,19	5,89±0,83	5,43±0,73	5,93±0,58	6,40±0,81
Lípídeo hepático (%)	0,52±0,10	0,54±0,15	0,47±0,10	0,61±0,09	0,43±0,07	0,41±0,10
Índice hepatossomático	1,60±0,09	1,55±0,14	1,73±0,10	1,38±0,08	1,57±0,07	1,65±0,08
Controle: 4,7 g de L-TRP.kg ⁻¹ ; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg ⁻¹ ; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg ⁻¹ .						

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 3. Variáveis neuroendócrinas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano.

	Controle	2X	4X
5-HT (pg.ug ⁻¹)	10,34 $\pm$ 1,88	10,86 $\pm$ 2,82	11,77 $\pm$ 1,74
5-HIAA (pg.ug ⁻¹)	8,13 $\pm$ 1,39	8,04 $\pm$ 2,09	8,67 $\pm$ 1,29
5-HIAA/5-HT	0,83 $\pm$ 0,094	0,76 $\pm$ 0,141	0,85 $\pm$ 0,087
DA (pg.ug ⁻¹)	11,35 $\pm$ 1,83	11,63 $\pm$ 2,74	12,21 $\pm$ 1,68
DOPAC (pg.ug ⁻¹)	2,98 $\pm$ 0,52	3,37 $\pm$ 0,78	3,14 $\pm$ 0,48
DOPAC/DA	0,27 $\pm$ 0,031	0,29 $\pm$ 0,048	0,28 $\pm$ 0,029
NA (pg.ug ⁻¹)	20,63 $\pm$ 3,08	21,216 $\pm$ 4,62	23,22 $\pm$ 2,84

5-HT: serotonina; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindoleacético; DA: dopamina; DOPAC: ácido 3,4-diidroxiifenilacético; NA: noradrenalina

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

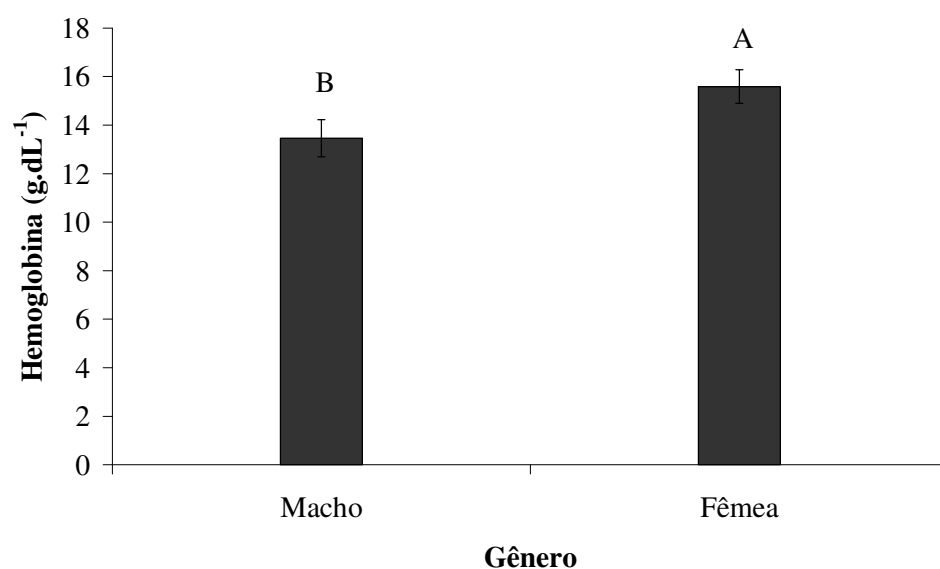


Figura 2. Concentração de hemoglobina (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

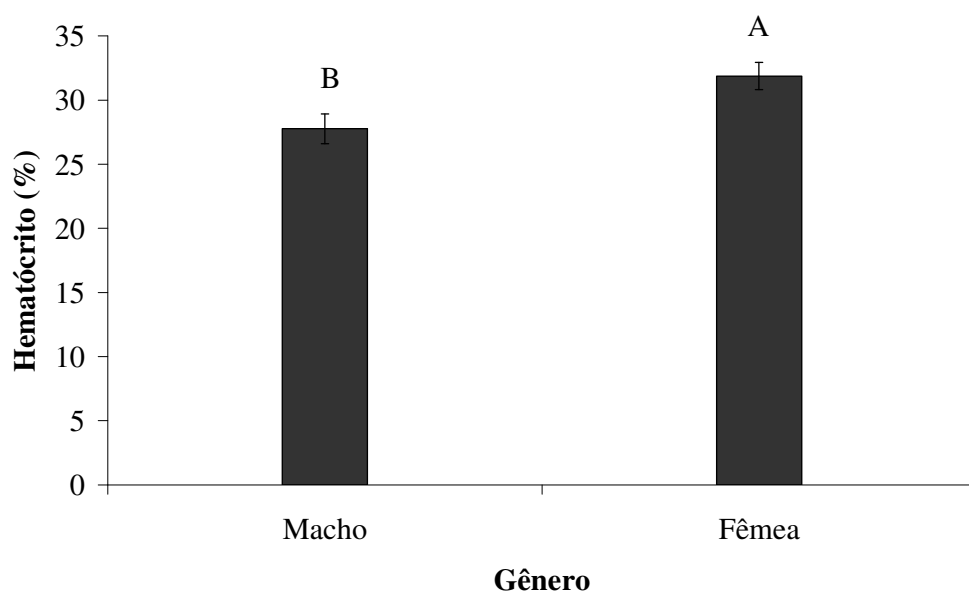


Figura 3. Hematócrito (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis matrinxã (*Brycon amazonicus*). Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

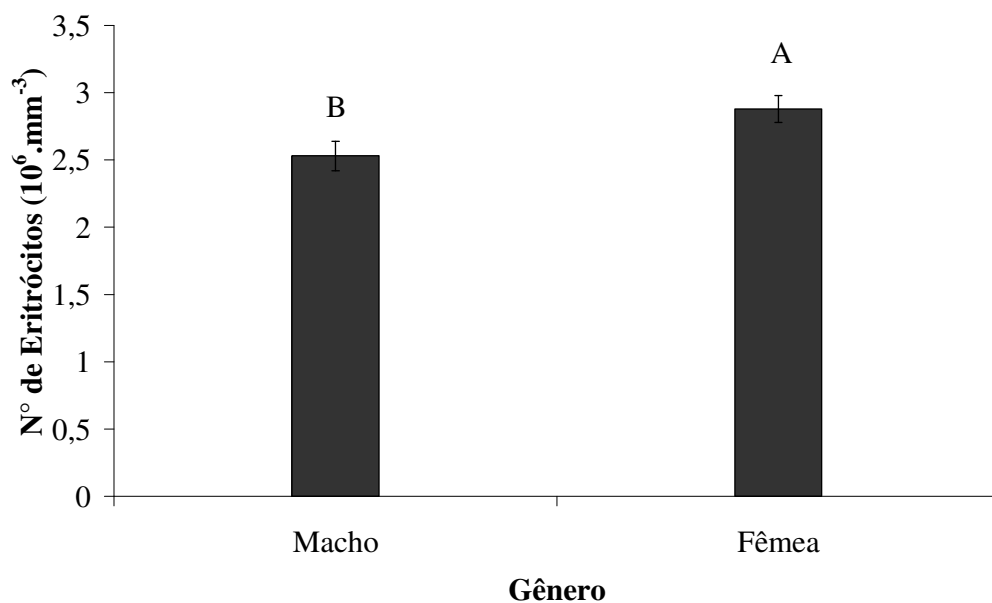


Figura 4. Número de eritrócitos (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Letras diferentes indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

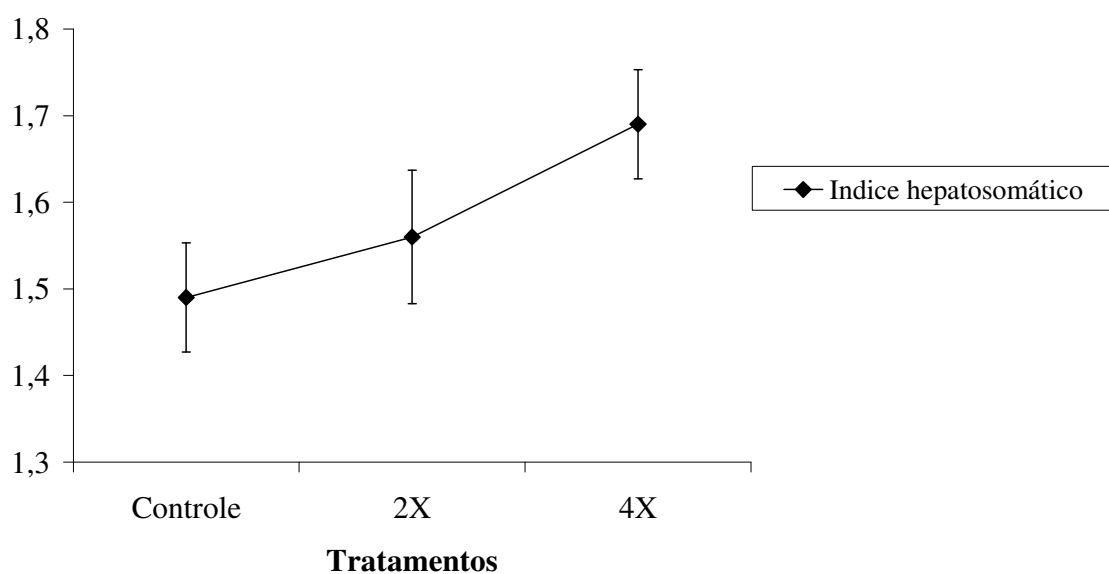


Figura 5. Índice hepatossomático (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano.
 Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

2. Experimento 2

2.1. Variáveis fisiológicas

As variáveis hematológicas são apresentadas nas Tabelas 4 e 5. A suplementação da ração com triptofano, o gênero e o tempo de luta não influenciaram o número de eritrócitos ($P=0,6329$, $P=0,2603$ e $P=0,8468$, respectivamente), o hematócrito ($P=0,4718$, $P=0,1391$ e $P=0,3730$, respectivamente), o volume corpuscular médio ($P=0,3939$, $P=0,3546$ e $P=0,1742$, respectivamente) e a hemoglobina ($P=0,3323$, $P=0,5521$ e $P=0,2654$, respectivamente).

As variáveis metabólicas são apresentadas nas Tabelas 6 e 7. A glicose plasmática não foi influenciada pelo tratamento ($P=0,8734$), pelo gênero ($P=0,3676$) e pelo tempo de luta ($P=0,7980$). O glicogênio hepático também não foi afetado pelo tratamento ($P=0,7621$), pelo gênero ($P=0,4305$) e pelo tempo de luta ($P=0,8412$). O lipídeo total não foi afetado pelo tratamento ($P=0,6401$), pelo gênero ($P=0,0709$) e pelo tempo de luta ($P=0,0850$). O tratamento e o gênero não afetaram o índice hepatossômico ($P=0,8445$ e $P=0,3455$, respectivamente), entretanto, houve um efeito significativo do tempo de luta ($P=0,0064$), ocorrendo uma diminuição após 24 h.

2.2. Variáveis neuroendócrinas

As variáveis neuroendócrinas estão apresentadas nas Tabelas 8, 9 e 10. Os níveis de noradrenalina não foram afetados pelo tratamento ($P=0,9588$), entretanto, houve um efeito do gênero ($P=0,0329$), com os machos apresentando níveis mais elevados que as fêmeas. Os níveis de dopamina não foram afetados pelo tratamento ($P=0,4897$) e pelo gênero ($P=0,9819$). Os níveis de DOPAC também não foram influenciados pelo tratamento ($P=0,4718$) e pelo gênero ($P=0,6964$). A taxa DOPAC/DA não foi significativamente afetada pelo tratamento ($P=0,2338$) e pelo gênero ($P=0,8867$), entretanto, houve uma interação entre o tratamento e o gênero ($P=0,0494$), com os machos do grupo controle apresentando níveis significativamente mais elevados que os machos alimentados com ração 2X e machos e fêmeas alimentados com ração 4X. Os níveis de serotonina também não foram afetados pelo tratamento ($P=0,5627$) e pelo gênero ($P=0,6588$). O tratamento também não afetou os níveis de 5-HIAA ($P=0,9871$), entretanto houve um efeito do gênero ($P=0,0652$), com os machos apresentando uma tendência a concentrações mais elevadas que as fêmeas. A taxa 5-HIAA/5-HT não foi influenciada pelo tratamento ($P=0,6909$) e pelo gênero ($P=0,1230$).

Houve correlação entre os níveis dos neurotransmissores e metabólitos após 20 min de interação social. A serotonina foi positivamente correlacionada com os níveis de noradrenalina ($P<0,0001$), dopamina ($P<0,0001$) e 5-HIAA ($P=0,0013$), havendo uma tendência de correlação positiva com os níveis de DOPAC ($P=0,0688$). O 5-HIAA se correlacionou positivamente com a noradrenalina ($P<0,0001$), a dopamina ($P=0,0003$), o DOPAC ($P<0,0001$) e a taxa DOPAC/DA ($P=0,0229$). A taxa 5-HIAA/5-HT foi positivamente correlacionada com o DOPAC ($P=0,0008$) e com a taxa DOPAC/DA ($P<0,0001$). Houve, também, uma correlação positiva entre a dopamina e a noradrenalina ($P<0,0001$), entre a dopamina e o DOPAC ($P=0,0081$) e entre a noradrenalina e o DOPAC ($P=0,0021$).

2.3. Variáveis comportamentais

As variáveis comportamentais após 24 h de luta não foram apresentadas devido a morte de um grande número de intrusos antes do término do experimento.

O índice de dominância do residente está apresentado na Tabela 11. Não houve efeito do tratamento ($P=0,8631$) e do gênero ($P=0,8903$), entretanto, o tempo de luta afetou o índice de dominância ($P=0,0005$), havendo um aumento linear com o decorrer da luta ($P=0,0061$).

As variáveis de agressão direta estão apresentadas nas Tabelas 12, 13, 14 e 15. E a latência para cada comportamento de agressão direta, nas Tabelas 20 e 21.

O número de mordidas corporais variou com o tempo de observação ($P<0,0001$), independente do tratamento, havendo um aumento linear com o aumento do tempo de luta ($P<0,0001$) (Figura 6). O tratamento e o gênero não afetaram o número de mordidas corporais ($P=0,4412$ e $P=0,9247$, respectivamente). O número de mordidas corporais foi positivamente correlacionado com o índice de dominância dos peixes residentes ($P<0,0001$). A latência para a primeira mordida corporal não foi afetada pelo tratamento ($P=0,1906$) e pelo gênero ($P=0,3189$). Houve correlação negativa entre a latência para a primeira mordida corporal e o índice de dominância ($P=0,0004$).

O número de mordidas na cabeça também não foi afetado pela suplementação com triptofano ($P=0,2394$) e pelo gênero ($P=0,6296$), entretanto, houve um efeito significativo do tempo de luta ($P<0,0001$), havendo um aumento linear no decorrer do confronto ($P=0,0043$) (Figura 7). Houve correlação positiva entre o número de mordidas na cabeça e o índice de dominância do residente ($P<0,0001$). A latência para a primeira mordida na cabeça não foi influenciada pelo tratamento ($P=0,6533$) e pelo gênero ($P=0,3415$). Houve uma correlação negativa entre a latência para a primeira mordida na cabeça e o índice de dominância do residente ($P=0,0001$).

O número de colisões foi afetado pela suplementação com triptofano ($P=0,0073$), havendo uma diminuição linear no número de colisões com o aumento da concentração de triptofano dietário ($P=0,0023$) (Tabela 12; Figura 8). O gênero também afetou o número de colisões ($P=0,0298$), com as fêmeas apresentando mais colisões que os machos, independente do tratamento. O tempo de luta também afetou o número de colisões ($P<0,0001$), havendo uma diminuição linear com o aumento do tempo de luta ($P<0,0001$), independente do tratamento (Figura 9). A latência para a primeira colisão não foi afetada pelo tratamento ($P=0,4208$), entretanto houve um efeito do gênero ($P=0,0297$), com os machos apresentando maior latência para primeira colisão que as fêmeas (Tabela 21).

O número de perseguições foi afetado pelo tratamento ($P=0,0268$), sendo que os animais alimentados com a ração 4X apresentaram menos perseguições que os demais tratamentos, sendo esta diminuição linear com o aumento da concentração de triptofano dietário ($P=0,0127$) (Tabela 12; Figura 10). O gênero e o tempo de luta não afetaram o número de perseguições ($P=0,5917$ e $P=0,5198$). Houve correlação positiva entre o número de perseguições e o índice de dominância do residente ($P=0,0045$). A latência para a primeira perseguição não foi afetada pelo tratamento ($P=0,4855$) e pelo gênero ($P=0,9758$), entretanto, foi negativamente correlacionada com o índice de dominância do residente ($P=0,0050$).

As variáveis de ameaça estão apresentadas nas Tabelas 16, 17, 18 e 19. E a latência para cada comportamento de agressão direta, nas Tabelas 22 e 23.

O número de tentativas de mordidas não foi afetado pelo tratamento ($P=0,6448$), pelo gênero ($P=0,1656$) e pelo tempo de luta ($P=0,8661$). Houve correlação positiva entre o número de tentativas de mordidas e o índice de dominância do residente ($P<0,0001$). A latência para a primeira tentativa de mordida foi afetada pelo tratamento ($P=0,0377$), sendo que animais tratados com ração 4 X apresentaram latência maior que o grupo controle, sendo o aumento na latência linear com o aumento da concentração de triptofano dietário ($P=0,0145$) (Tabela 22; Figura 11). A latência também foi influenciada pelo gênero ($P=0,0098$), sendo que os machos levaram mais tempo para a primeira tentativa de mordida que as fêmeas (Tabela 23). Além disso, houve uma correlação negativa da latência da primeira tentativa de mordida com o índice de dominância do residente ($P=0,0032$).

Não houve efeito do tratamento ($P=0,2383$) e do gênero ($P=0,9873$) no tempo absoluto de acompanhamento. Entretanto, o tempo de luta afetou esse parâmetro ($P=0,0008$), havendo uma diminuição linear no tempo de acompanhamento com o aumento do tempo de luta ($P=0,0005$) (Figura 12). O tempo absoluto de acompanhamento foi mais longo no início da luta (0 h), que após 3 e 6 h, independente do tratamento. Além disso, houve correlação positiva do tempo absoluto de acompanhamento com o índice de dominância ($P=0,0086$). A

latência para o primeiro acompanhamento não foi afetada pelo tratamento ($P=0,1956$) e pelo gênero ($P=0,0925$).

O tempo absoluto de vigia não foi afetado pelo tratamento ($P=0,7155$), pelo tempo de luta ($P=0,8818$) e pelo gênero ($P=0,5816$). A latência para a primeira vigia também não foi afetada pelo tratamento ($P=0,8413$) e pelo gênero ($P=0,8206$).

O tempo absoluto de ronda foi afetado pelo tempo de luta ($P<0,0001$), sendo menor no início do confronto (0 h), havendo um aumento linear com o decorrer da luta ($P<0,0001$) (Figura 13). O tratamento ($P=0,6913$) e o gênero ($P=0,6300$) não influenciaram o tempo absoluto de ronda. A latência para a primeira ronda não foi afetada pelo tratamento ($P=0,2476$) e pelo gênero ($P=0,5461$).

O tempo absoluto de arrasto não foi afetado pela suplementação da dieta com triptofano ($P=0,3730$) e pelo gênero ($P=0,7803$). Entretanto, tempo de luta afetou o arrasto ($P<0,0001$), sendo mais longo no início da luta, que após 3 e 6 h, apresentando diminuição linear ($P<0,0001$) (Figura 14). Além disso, houve interação significativa entre o tratamento e o tempo de luta ($P=0,0449$), sendo que peixes alimentados com a ração 2X e 4X permaneceram mais tempo realizando arrastos no início da luta que os demais tratamentos e tempos de luta. Dentro de todos os tratamentos o tempo gasto na realização de arrastos diminuiu com o aumento do tempo de luta, não havendo diferença significativa entre os tratamentos após 3 e 6 h de luta (Tabela 18). A latência para o primeiro arrasto não foi afetada pelo tratamento ($P=0,1149$) e pelo gênero ($P=0,9014$).

O tempo absoluto de ciranda não foi afetado pelo tratamento ($P=0,8924$) e pelo gênero ($P=0,8214$). O tempo de luta afetou a ciranda ($P<0,0001$), sendo que o tempo absoluto de ciranda foi maior no início da luta (0 h) que após 3 e 6 h de confronto, sendo esta diminuição linear ($P<0,0001$) (Figura 15). A latência para a primeira ciranda não foi afetada pelo tratamento ($P=0,6614$) e pelo gênero ($P=0,1001$).

2.4. Correlação entre os comportamentos agressivos dos residentes e intrusos

O número de mordidas corporais realizadas pelo residente foi correlacionado negativamente com o número de colisões ($P=0,0026$) e positivamente com a latência para a primeira colisão do intruso ($P=0,0070$). A latência para a primeira mordida corporal não foi correlacionada com nenhum comportamento do intruso.

O número de mordidas na cabeça não foi correlacionado com nenhum comportamento realizado pelo intruso. Entretanto, a latência para a primeira mordida na cabeça apresentou correlação positiva com o número de colisões ($P=0,0410$) realizado pelo intruso.

O número de colisões apresentou uma tendência à correlação positiva com o número de colisões realizado pelo intruso ($P=0,0542$). A latência para a primeira colisão não foi correlacionada com nenhum comportamento do intruso.

O número de perseguições foi negativamente correlacionado com o número de colisões ($P=0,0206$) e a latência para o primeiro arrasto realizado pelo intruso ($P=0,0377$) e positivamente com o tempo para a primeira colisão ($P=0,0490$) e o tempo absoluto de arrastos ($P=0,0303$). A latência para a primeira perseguição apresentou correlação positiva com o número de colisões ($P=0,0088$) e negativa com a latência para a primeira colisão ($P=0,0479$) realizada pelo intruso.

O número de tentativas de mordidas foi correlacionado negativamente com o número de colisões ($P=0,0391$). A latência para a primeira tentativa de mordida não apresentou correlação com nenhum comportamento do intruso.

O tempo absoluto de acompanhamentos apresentou uma tendência de correlação negativa com o número de mordidas na cabeça ($P=0,0561$). A latência para o primeiro acompanhamento não foi correlacionada com nenhum comportamento do intruso.

O tempo absoluto de vigia foi correlacionado negativamente com o número de mordidas corporais ($P=0,0469$) e positivamente com a latência para a primeira mordida corporal ($P=0,0474$) do intruso. A latência para a primeira vigia apresentou correlação negativa com o número de tentativas de mordidas ($P=0,0233$) e positiva com a latência para a primeira tentativa de mordida ($P=0,0250$) realizados pelo intruso.

O tempo absoluto de ronda não foi correlacionado com nenhum comportamento do intruso. A latência para a primeira ronda apresentou tendência à uma correlação positiva com o número de mordidas na cabeça ($P=0,0533$) e negativa com a latência para a primeira mordida na cabeça ($P=0,0556$) e para a primeira ciranda ($P=0,0514$) do intruso.

O tempo absoluto de arrasto foi positivamente correlacionado com o tempo de arrasto ($P<0,0001$) e negativamente correlacionado com a latência para o primeiro arrasto ($P<0,0001$) do intruso. A latência para o primeiro arrasto apresentou correlação positiva com a latência para a primeira colisão ($P=0,0481$) e para o primeiro arrasto ($P<0,0001$) e negativa com o número de arrastos ($P<0,0001$) realizados pelo intruso.

O tempo absoluto de ciranda foi positivamente correlacionado com o tempo de ciranda ($P=0,0026$) e negativamente correlacionado com a latência para a primeira ciranda ($P=0,0254$) do intruso. A latência para a primeira ciranda foi positivamente correlacionada com a latência para a primeira ciranda ($P<0,0001$) e negativamente com o tempo absoluto de ciranda ($P<0,0001$) realizados pelo intruso.

2.5. Correlação entre os comportamentos agressivos do residente e as variáveis neuroendócrinas

Os níveis de serotonina se correlacionaram negativamente com o número de tentativas de mordidas ($P=0,0498$) e houve uma tendência a correlação positiva com a latência para a primeira mordida corporal ($P=0,0599$). Já os níveis de 5-HIAA se correlacionaram positivamente com o tempo absoluto de arrasto ($P=0,0002$) e negativamente com a latência para o primeiro arrasto ($P=0,0008$). Além disso, a taxa 5-HIAA/5-HT apresentou correlação positiva com o tempo absoluto de acompanhamento ($P=0,0307$) e de arrasto ($P=0,0174$) e negativa com a latência para o primeiro arrasto ($P=0,0024$).

A dopamina e o DOPAC também demonstraram correlação positiva com o tempo absoluto de arrasto ($P=0,0325$ e $P<0,0001$, respectivamente) e negativa com a latência para o primeiro arrasto ($P=0,0504$ e $P<0,0001$, respectivamente). Os níveis de DOPAC também foram correlacionados negativamente com a latência para a primeira colisão ($P=0,0459$). A taxa DOPAC/DA se correlacionou positivamente com o tempo absoluto de arrasto ($P=0,0422$) e negativamente com a latência para o primeiro arrasto ($P=0,0147$).

A noradrenalina apresentou correlação positiva com o tempo absoluto de arrasto ($P=0,0086$) e negativa com a latência para o primeiro arrasto ($P=0,0261$).

Tabela 4. Variáveis hematológicas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Controle		2X		4X	
	0 h	24 h	0 h	24 h	0 h	24 h
RBC ($10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$)	2,88 $\pm$ 0,14	3 $\pm$ 0,13	2,96 $\pm$ 0,13	2,97 $\pm$ 0,26	3,08 $\pm$ 0,15	3,12 $\pm$ 0,15
HCT (%)	33,24 $\pm$ 1,55	34,01 $\pm$ 1,47	33,24 $\pm$ 1,43	36,18 $\pm$ 3,2	35,06 $\pm$ 1,76	35,79 $\pm$ 1,79
VCM (μm^3)	112,03 $\pm$ 3,02	111,71 $\pm$ 2,81	111,51 $\pm$ 2,76	123,44 $\pm$ 6,35	111,36 $\pm$ 3,45	113,5 $\pm$ 3,51
HGB (g.dL ⁻¹)	15,23 $\pm$ 0,63	15,08 $\pm$ 0,56	14,98 $\pm$ 0,56	13,36 $\pm$ 1,36	15,96 $\pm$ 0,73	15,3 $\pm$ 0,74

RBC: Número de Eritrócitos; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; HGB: Hemoglobina.

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 5. Variáveis hematológicas (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
RBC ($10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$)	3,09 $\pm$ 0,13	2,95 $\pm$ 0,10
HCT (%)	35,70 $\pm$ 1,40	33,47 $\pm$ 1,01
VCM (μm^3)	115,29 $\pm$ 2,66	112,56 $\pm$ 1,85
HGB (g.dL ⁻¹)	15,17 $\pm$ 0,53	14,80 $\pm$ 0,34

RBC: Número de Eritrócitos; HCT: Hematócrito; VCM: Volume Corpuscular Médio; HGB: Hemoglobina.

Tabela 6. Variáveis metabólicas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Controle		2X		4X	
	0 h	24 h	0 h	24 h	0 h	24 h
Glicose plasmática (mg.dL ⁻¹)	63,23 $\pm$ 11,51	57,68 $\pm$ 9,57	72,73 $\pm$ 9,94	65,26 $\pm$ 30,52	63,6 $\pm$ 12,81	65,66 $\pm$ 13,40
Glicogênio hepático (%)	6,79 $\pm$ 0,69	6,84 $\pm$ 0,62	7,06 $\pm$ 0,60	7,92 $\pm$ 1,49	7,45 $\pm$ 0,78	6,09 $\pm$ 0,80
Lípídeo hepático (%)	0,72 $\pm$ 0,11	0,74 $\pm$ 0,10	0,73 $\pm$ 0,1	1,07 $\pm$ 0,29	0,56 $\pm$ 0,12	0,94 $\pm$ 0,13
Índice hepatossomático	1,47 $\pm$ 0,13	1,09 $\pm$ 0,11	1,69 $\pm$ 0,11	1,005 $\pm$ 0,27	1,48 $\pm$ 0,13	1,19 $\pm$ 0,15

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 7. Variáveis metabólicas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	0 h	24 h
Glicose plasmática (mg.dL ⁻¹)	66,52 $\pm$ 6,02	62,87 $\pm$ 11,23
Glicogênio hepático (%)	7,10 $\pm$ 0,38	6,94 $\pm$ 0,58
Lípídeo hepático (%)	0,67 $\pm$ 0,07	0,91 $\pm$ 0,11
Índice hepatossomático	1,54 $\pm$ 0,07 A	1,11 $\pm$ 0,11 B

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 8. Variáveis neuroendócrinas (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Controle	2X	4X
5-HT (pg.ug ⁻¹)	13,86 $\pm$ 2,14	16,22 $\pm$ 1,67	15,08 $\pm$ 2,09
5-HIAA (pg.ug ⁻¹)	9,91 $\pm$ 1,4	9,88 $\pm$ 1,16	10,07 $\pm$ 1,37
5-HIAA/5-HT	0,72 $\pm$ 0,08	0,64 $\pm$ 0,06	0,66 $\pm$ 0,08
DA (pg.ug ⁻¹)	12,78 $\pm$ 2,25	15,43 $\pm$ 1,79	13,98 $\pm$ 2,21
DOPAC (pg.ug ⁻¹)	3,77 $\pm$ 0,71	3,58 $\pm$ 0,61	2,96 $\pm$ 0,70
DOPAC/DA	0,29 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,05
NA (pg.ug ⁻¹)	31,22 $\pm$ 3,42	31,48 $\pm$ 2,61	30,45 $\pm$ 3,34

5-HT: serotonina; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindoleacético; DA: dopamina; DOPAC: ácido 3,4-diidroxiifenilacético; NA: noradrenalina.
Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 9. Variáveis neuroendócrinas (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
5-HT (pg.ug ⁻¹)	15,51 $\pm$ 2,08	14,60 $\pm$ 1,42
5-HIAA (pg.ug ⁻¹)	11,17 $\pm$ 1,38	8,74 $\pm$ 1,05
5-HIAA/5-HT	0,74 $\pm$ 0,08	0,60 $\pm$ 0,05
DA (pg.ug ⁻¹)	14,09 $\pm$ 2,20	14,04 $\pm$ 2,20
DOPAC (pg.ug ⁻¹)	3,55 $\pm$ 0,70	3,33 $\pm$ 0,56
DOPAC/DA	0,25 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,04
NA (pg.ug ⁻¹)	35,08 $\pm$ 3,31 A	27,02 $\pm$ 2,17 B

5-HT: serotonina; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindoleacético; DA: dopamina; DOPAC: ácido 3,4-diidroxiifenilacético; NA: noradrenalina.
 Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 10. Variáveis neuroendócrinas (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho			Fêmea		
	Controle	2X	4X	Controle	2X	4X
5-HT (pg.ug^{-1})	13,49 $\pm$ 3,60	15,70 $\pm$ 2,29	17,35 $\pm$ 3,52	14,23 $\pm$ 1,99	16,74 $\pm$ 1,99	12,82 $\pm$ 1,63
5-HIAA (pg.ug^{-1})	11,58 $\pm$ 2,20	9,63 $\pm$ 1,49	12,29 $\pm$ 2,13	8,23 $\pm$ 1,32	10,13 $\pm$ 1,32	7,85 $\pm$ 1,14
5-HIAA/5-HT	0,86 $\pm$ 0,14	0,64 $\pm$ 0,09	0,72 $\pm$ 0,14	0,57 $\pm$ 0,08	0,64 $\pm$ 0,08	0,60 $\pm$ 0,06
DA (pg.ug^{-1})	11,98 $\pm$ 3,73	14,58 $\pm$ 2,41	15,70 $\pm$ 3,64	13,58 $\pm$ 2,10	16,27 $\pm$ 2,10	12,26 $\pm$ 1,75
DOPAC (pg.ug^{-1})	4,48 $\pm$ 1,06	2,97 $\pm$ 0,75	3,19 $\pm$ 1,03	3,06 $\pm$ 0,67	4,19 $\pm$ 0,67	2,73 $\pm$ 0,60
DOPAC/DA	0,35 $\pm$ 0,073 A	0,19 $\pm$ 0,05 B	0,19 $\pm$ 0,07 B	0,22 $\pm$ 0,045 AB	0,28 $\pm$ 0,045 AB	0,22 $\pm$ 0,04 B
NA (pg.ug^{-1})	35,85 $\pm$ 5,85	33,36 $\pm$ 3,66	36,03 $\pm$ 5,74	26,58 $\pm$ 3,16	29,59 $\pm$ 3,16	24,88 $\pm$ 2,56

5-HT: serotonina; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindoleacético; DA: dopamina; DOPAC: ácido 3,4-diidroxifenilacético; NA: noradrenalina.

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 11. Índice de dominância (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Controle			2X			4X		
	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h
Índice de dominância	0,84 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,03	0,96 $\pm$ 0,05	0,96 $\pm$ 0,07	0,87 $\pm$ 0,03	0,95 $\pm$ 0,04	0,92 $\pm$ 0,5

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 12. Variáveis comportamentais de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Controle	2X	4X
Mordida corporal (n°)	130,39 $\pm$ 13,89	110,83 $\pm$ 19,61	99,83 $\pm$ 15,75
Mordida na cabeça (n°)	8,51 $\pm$ 1,54	8,04 $\pm$ 2,31	12,32 $\pm$ 1,78
Colisão (n°)	10,23 $\pm$ 1,11 A	7,09 $\pm$ 1,43 AB	5,79 $\pm$ 0,76 B
Perseguição (n°)	3,52 $\pm$ 1,50 A	3,92 $\pm$ 1,92 A	1,92 $\pm$ 0,85 B

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.
 Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 13. Variáveis comportamentais de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
Mordida corporal (n°)	114,62 $\pm$ 14,17	112,74 $\pm$ 9,79
Mordida na cabeça (n°)	10,17 $\pm$ 1,82	9,08 $\pm$ 1,24
Colisão (n°)	5,98 $\pm$ 0,94 B	9,18 $\pm$ 0,89 A
Perseguição (n°)	3,20 $\pm$ 1,48	2,78 $\pm$ 1,18

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 14. Variáveis comportamentais de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Controle			2X			4X		
	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h
Mordida corporal (n°)	76,55 $\pm$ 18,5	168,11 $\pm$ 21,36	146,5 $\pm$ 22,12	34,39 $\pm$ 17,59	135,31 $\pm$ 30,37	162,79 $\pm$ 41,11	37,81 $\pm$ 18,15	148,9 $\pm$ 24,74	112,78 $\pm$ 27,85
Mordida na cabeça (n°)	5,22 $\pm$ 2,21	11,34 $\pm$ 2,58	8,98 $\pm$ 2,68	2,46 $\pm$ 2,12	10,7 $\pm$ 3,72	10,97 $\pm$ 5,07	4,1 $\pm$ 2,18	18,5 $\pm$ 3	14,35 $\pm$ 3,38
Colisão (n°)	28,84 $\pm$ 5,34	6,17 $\pm$ 1,43	5,89 $\pm$ 1,37	21,38 $\pm$ 64,18	5,01 $\pm$ 1,77	3,31 $\pm$ 1,58	16,98 $\pm$ 3,14	6,31 $\pm$ 1,61	1,70 $\pm$ 0,52
Perseguição (n°)	2,93 $\pm$ 1,51	4,09 $\pm$ 2,28	3,65 $\pm$ 2,07	1,86 $\pm$ 0,94	6,81 $\pm$ 4,81	4,74 $\pm$ 4,23	2,70 $\pm$ 1,39	1,62 $\pm$ 0,98	1,62 $\pm$ 1,06

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 15. Variáveis comportamentais de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Macho			Fêmea		
	0 horas	3 horas	6 horas	0 horas	3 horas	6 horas
Mordida corporal (n°)	49,73 $\pm$ 15,18	134,99 $\pm$ 23,19	159,14 $\pm$ 29,59	49,44 $\pm$ 12,14	166,56 $\pm$ 16,42	122,24 $\pm$ 18,61
Mordida na cabeça (n°)	4,68 $\pm$ 1,94	13,22 $\pm$ 2,96	12,61 $\pm$ 2,33	3,16 $\pm$ 1,58	13,81 $\pm$ 2,08	10,26 $\pm$ 2,33
Colisão (n°)	19,63 $\pm$ 3,36	3,45 $\pm$ 0,95	3,15 $\pm$ 1,12	24,43 $\pm$ 3,39	9,73 $\pm$ 1,82	3,26 $\pm$ 0,68
Perseguição (n°)	2,44 $\pm$ 1,22	3,79 $\pm$ 2,34	3,53 $\pm$ 2,53	2,46 $\pm$ 1,15	3,34 $\pm$ 1,70	2,62 $\pm$ 1,39

Tabela 16. Variáveis comportamentais de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Controle	2X	4X
Tentativa de mordida (n°)	6,98 $\pm$ 1,18	9,35 $\pm$ 2,44	7,52 $\pm$ 1,46
Acompanhamento (s)	267,11 $\pm$ 46,11	337,71 $\pm$ 64,40	211,80 $\pm$ 51,22
Vigia (s)	422,72 $\pm$ 66,47	371,50 $\pm$ 82,41	447,70 $\pm$ 71,63
Ronda (s)	170,71 $\pm$ 25,84	143,08 $\pm$ 33,61	154,77 $\pm$ 28,12
Arrasto (s)	1,52 $\pm$ 0,31	1,89 $\pm$ 0,49	2,45 $\pm$ 0,55
Ciranda (s)	1,59 $\pm$ 0,15	1,43 $\pm$ 0,27	1,52 $\pm$ 0,73

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 17. Variáveis comportamentais de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
Tentativa de mordida (n°)	9,44 $\pm$ 1,90	6,59 $\pm$ 0,90
Acompanhamento (s)	272,66 $\pm$ 54,88	271,75 $\pm$ 41,77
Vigia (s)	435,17 $\pm$ 72,41	392,77 $\pm$ 58,40
Ronda (s)	149,17 $\pm$ 29,43	163,21 $\pm$ 23,71
Arrasto (s)	1,99 $\pm$ 0,39	1,84 $\pm$ 0,27
Ciranda (s)	1,54 $\pm$ 0,19	1,48 $\pm$ 0,97

Tabela 18. Variáveis comportamentais de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

Controle				2X			4X		
	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h
Tentativa de mordida (n°)	7,08 $\pm$ 1,81	6,02 $\pm$ 1,83	7,94 $\pm$ 2,41	8,91 $\pm$ 2,28	9,55 $\pm$ 4,31	9,77 $\pm$ 6,2	8,71 $\pm$ 2,23	1,02 $\pm$ 0,36	4,68 $\pm$ 1,88
Acompanhamento (s)	367,37 $\pm$ 60,53	236,45 $\pm$ 69,79	197,49 $\pm$ 72,1	492,49 $\pm$ 59,1	363,15 $\pm$ 98,04	157,51 $\pm$ 130,97	338,82 $\pm$ 60,38	168,87 $\pm$ 79,52	127,69 $\pm$ 88,87
Vigia (s)	379,34 $\pm$ 77,33	438,76 $\pm$ 86,16	450,06 $\pm$ 88,44	322,69 $\pm$ 75,72	395,89 $\pm$ 113,98	395,92 $\pm$ 148,19	488,65 $\pm$ 77,21	428,01 $\pm$ 96,42	426,43 $\pm$ 105,62
Ronda (s)	81,73 $\pm$ 33,22	193,26 $\pm$ 37,41	237,15 $\pm$ 38,54	39,19 $\pm$ 32,39	175,87 $\pm$ 50,62	214,19 $\pm$ 67,04	62,82 $\pm$ 33,12	209,98 $\pm$ 42,15	191,52 $\pm$ 46,66
Arrasto (s)	2,25 $\pm$ 0,55 BD	1,25 $\pm$ 0,35 C	1,24 $\pm$ 0,35 C	6,92 $\pm$ 1,61 A	1,16 $\pm$ 0,44 CD	0,85 $\pm$ 0,43 C	3,96 $\pm$ 0,96 AB	1,60 $\pm$ 0,51 CD	2,32 $\pm$ 0,82 BC
Ciranda (s)	4,36 $\pm$ 0,77	0,96 $\pm$ 0,21	0,96 $\pm$ 0,21	2,64 $\pm$ 0,45	1,07 $\pm$ 0,35	1,05 $\pm$ 0,49	3,29 $\pm$ 0,56	1,04 $\pm$ 0,26	1,02 $\pm$ 0,30

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.
 Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 19. Variáveis comportamentais de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos a diferentes tempos de luta com um intruso.

	Macho			Fêmea		
	0 h	3 h	6 h	0 h	3 h	6 h
Tentativa de mordida (n°)	9,40 $\pm$ 2,14	9,64 $\pm$ 3,37	9,29 $\pm$ 4,22	7,23 $\pm$ 1,32	7,28 $\pm$ 1,78	5,44 $\pm$ 1,48
Acompanhamento (s)	372,93 $\pm$ 56,73	293,33 $\pm$ 81,01	151,77 $\pm$ 100,60	426,19 $\pm$ 48,58	218,98 $\pm$ 59,43	170,08 $\pm$ 64,68
Vigia (s)	428,87 $\pm$ 72,29	473,05 $\pm$ 96,23	402,59 $\pm$ 115,94	364,91 $\pm$ 62,98	368,72 $\pm$ 73,47	444,68 $\pm$ 78,75
Ronda (s)	66,38 $\pm$ 31,13	165,89 $\pm$ 42,53	215,24 $\pm$ 52,18	56,12 $\pm$ 27,27	220,18 $\pm$ 32,17	213,34 $\pm$ 34,70
Arrasto (s)	4,40 $\pm$ 0,90	1,38 $\pm$ 0,41	1,29 $\pm$ 0,48	3,54 $\pm$ 0,59	1,26 $\pm$ 0,27	1,40 $\pm$ 0,33
Ciranda (s)	3,21 $\pm$ 0,47	1,08 $\pm$ 0,27	1,06 $\pm$ 0,34	3,52 $\pm$ 0,39	0,97 $\pm$ 0,16	0,97 $\pm$ 0,19

Tabela 20. Latência para o primeiro comportamento de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Controle	2X	4X
Mordida corporal (s)	207,01 $\pm$ 68,40	445,65 $\pm$ 144,00	314,77 $\pm$ 104,00
Mordida na cabeça (s)	563,64 $\pm$ 202,70	743,02 $\pm$ 252,71	476,43 $\pm$ 164,36
Colisão (s)	59,84 $\pm$ 21,81	70,79 $\pm$ 24,94	111,94 $\pm$ 40,53
Perseguição (s)	966,64 $\pm$ 113,8	1095,61 $\pm$ 112,36	1057,66 $\pm$ 113,41

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Tabela 21. Latência para o primeiro comportamento de agressão direta (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
Mordida corporal (s)	366,44 $\pm$ 113,98	258,23 $\pm$ 69,18
Mordida na cabeça (s)	479,73 $\pm$ 143,45	711,21 $\pm$ 187,15
Colisão (s)	127,35 $\pm$ 42,08 A	47,75 $\pm$ 13,13 B
Perseguição (s)	1038,57 $\pm$ 109,16	1041,37 $\pm$ 102,02

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 22. Latência para o primeiro comportamento de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Controle	2X	4X
Tentativa de mordida (s)	123,02 $\pm$ 30,91 B	263,03 $\pm$ 61,10 AB	323,59 $\pm$ 75,17 A
Acompanhamento (s)	59,16 $\pm$ 36,20	34,01 $\pm$ 20,67	80,35 $\pm$ 49,28
Vigia (s)	28,25 $\pm$ 14,93	23,60 $\pm$ 12,35	29,99 $\pm$ 15,85
Ronda (s)	61,38 $\pm$ 35,43	29,38 $\pm$ 16,99	27,61 $\pm$ 16,19
Arrasto (s)	754,7 $\pm$ 123,2	372,42 $\pm$ 119,12	547,27 $\pm$ 122,18
Ciranda (s)	110,15 $\pm$ 69,95	55,46 $\pm$ 33,72	104,47 $\pm$ 65,49

Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 23. Latência para o primeiro comportamento de ameaça (médias $\pm$ erro padrão) de machos e fêmeas de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) e submetidos à luta com um intruso intraespecífico.

	Macho	Fêmea
Tentativa de mordida (s)	333,43 $\pm$ 80,61 A	144,21 $\pm$ 21,32 B
Acompanhamento (s)	81,28 $\pm$ 49,85	36,47 $\pm$ 20,52
Vigia (s)	26,00 $\pm$ 13,40	28,38 $\pm$ 13,68
Ronda (s)	42,27 $\pm$ 24,45	31,99 $\pm$ 16,82
Arrasto (s)	549,38 $\pm$ 110,69	566,87 $\pm$ 91,42
Ciranda (s)	158,49 $\pm$ 87,50	46,66 $\pm$ 20,72

Letras diferentes indicam diferenças significativas (P<0,05).

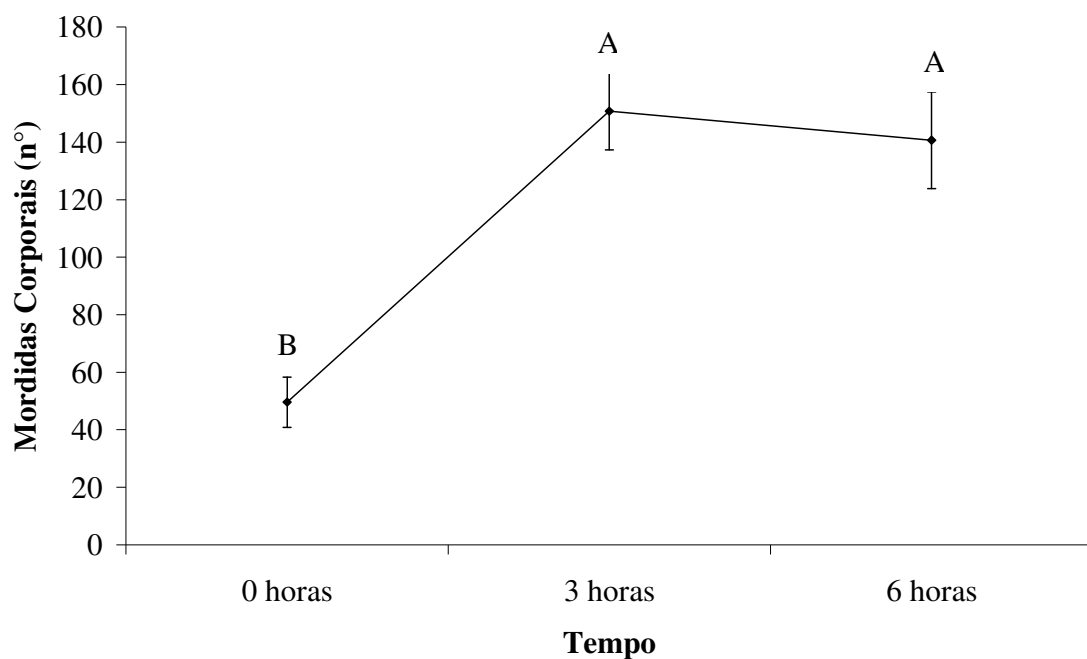


Figura 6. Número de mordidas corporais (médias $\pm$ erro padrão) realizadas por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

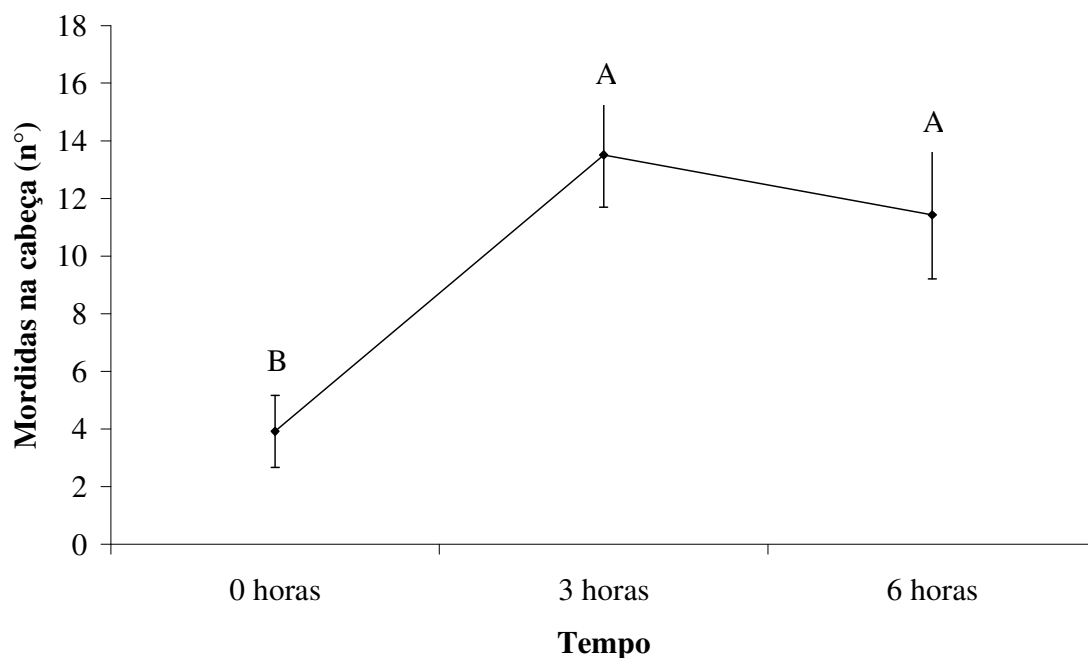


Figura 7. Número de mordidas na cabeça (médias $\pm$ erro padrão) realizadas por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

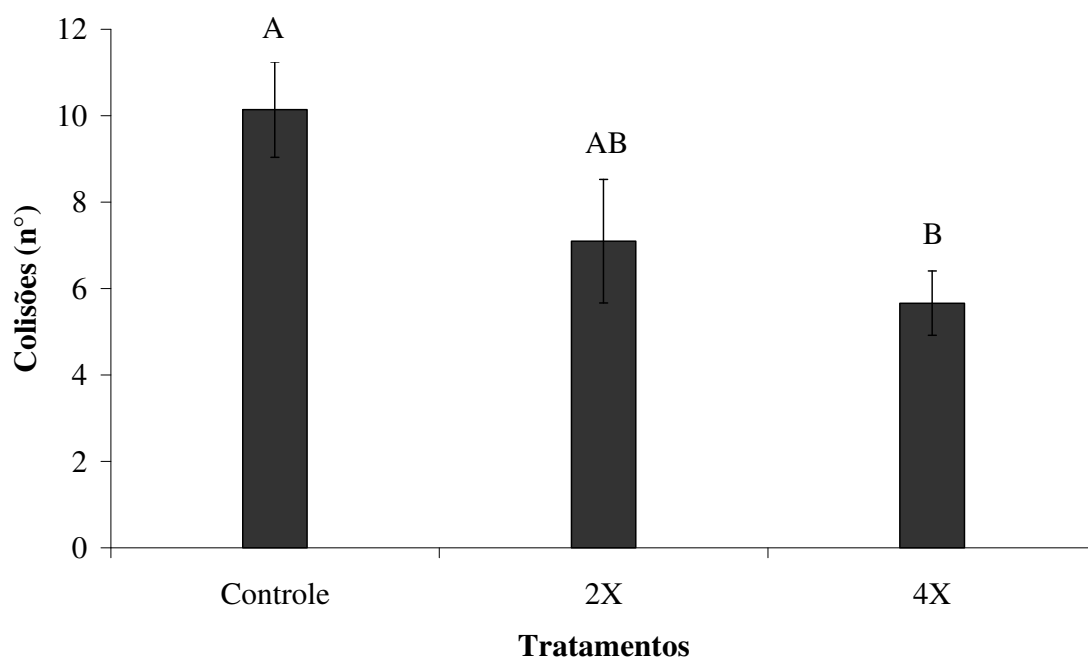


Figura 8. Número colisões (médias $\pm$ erro padrão) realizadas por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).
 Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

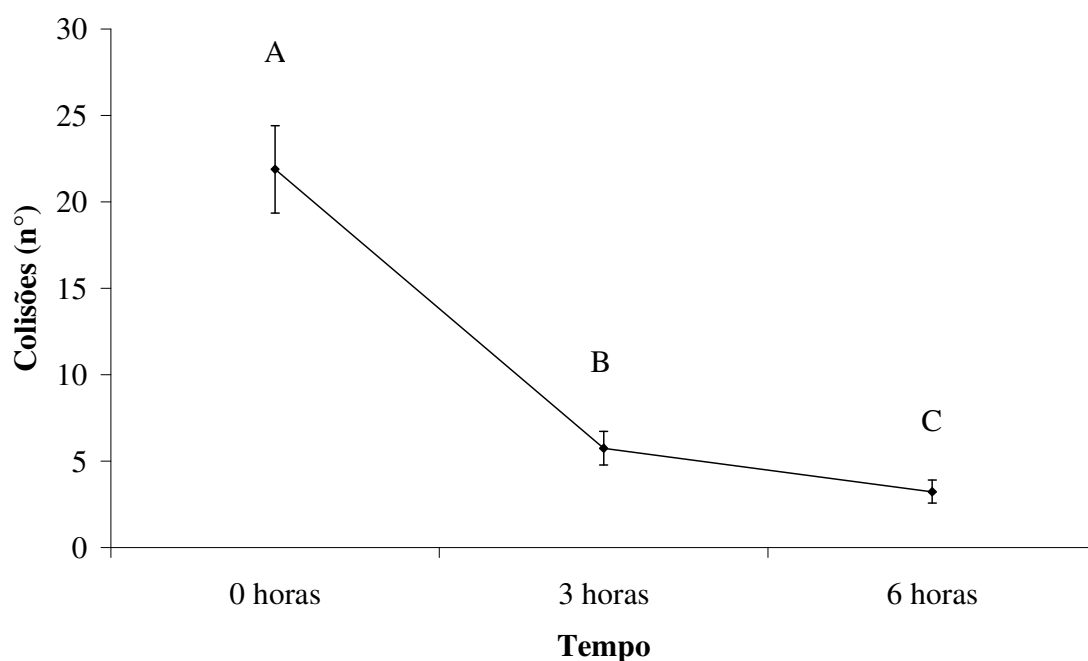


Figura 9. Número colisões (médias $\pm$ erro padrão) realizadas por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

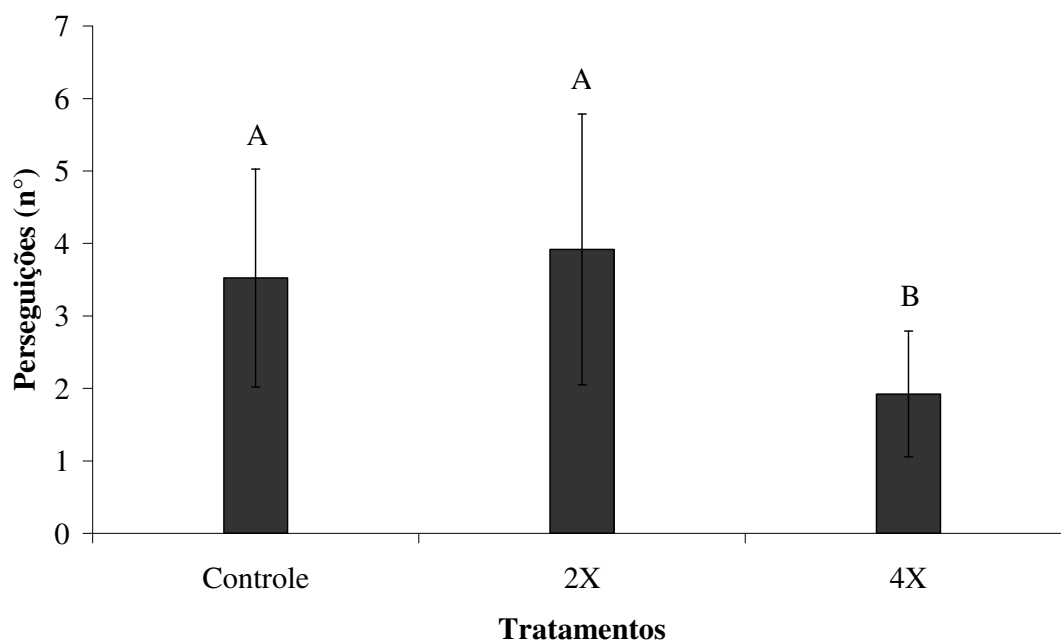


Figura 10. Número perseguições (médias $\pm$ erro padrão) realizadas por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P<0,05$).
 Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

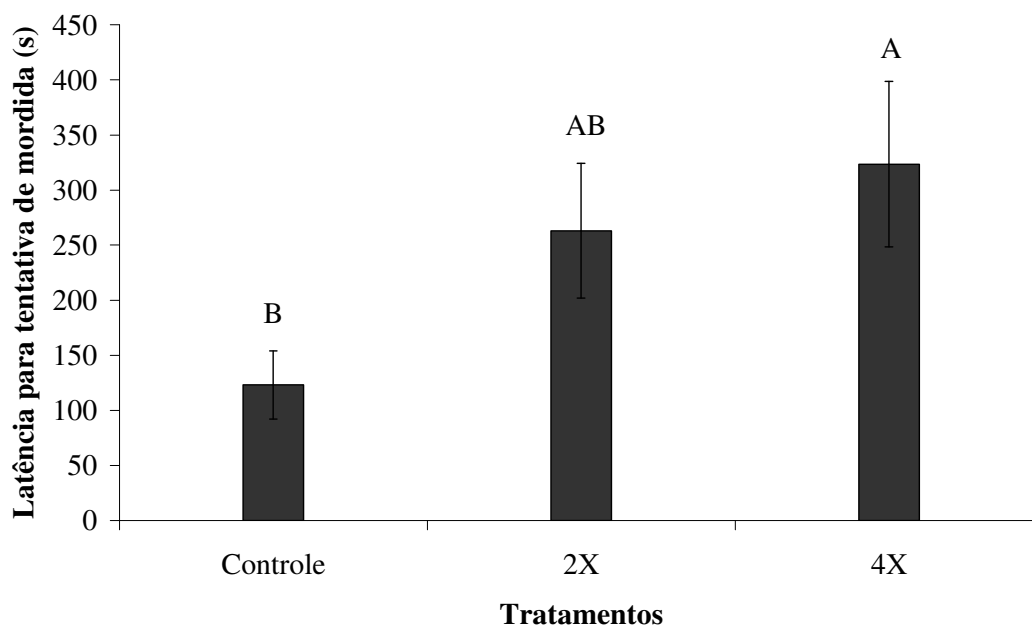


Figura 11. Latência para a primeira tentativa de mordida (médias $\pm$ erro padrão) realizada por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano e submetidos à luta com um intruso intraespecífico. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P<0,05$).
 Controle: 4,7 g de L-TRP.kg⁻¹; 2X: 9,4 g de L-TRP.kg⁻¹; 4X: 18,8 g de L-TRP.kg⁻¹.

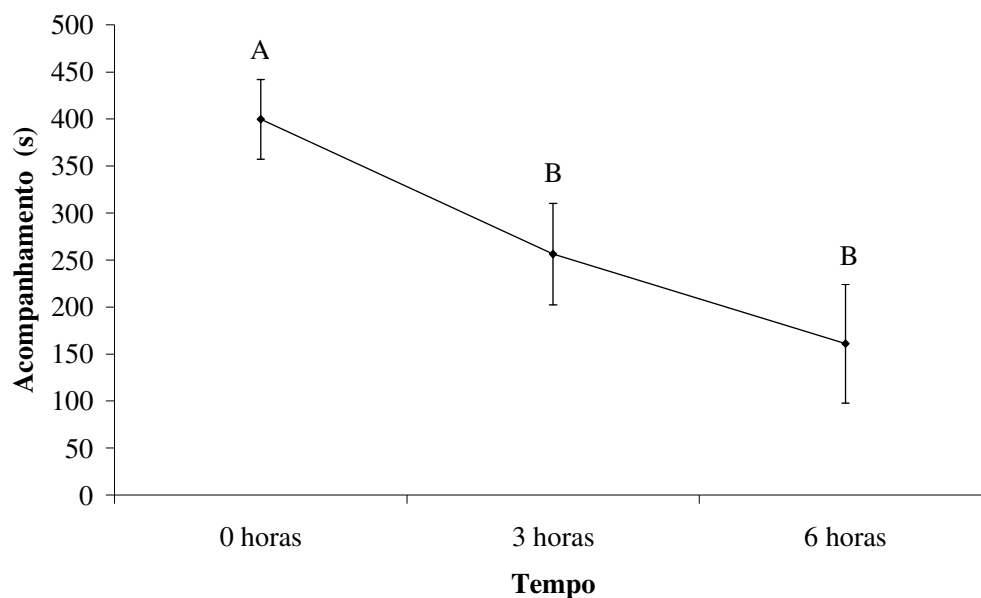


Figura 12. Tempo absoluto de acompanhamento (médias $\pm$ erro padrão) realizado por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) alimentados com diferentes níveis de triptofano no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

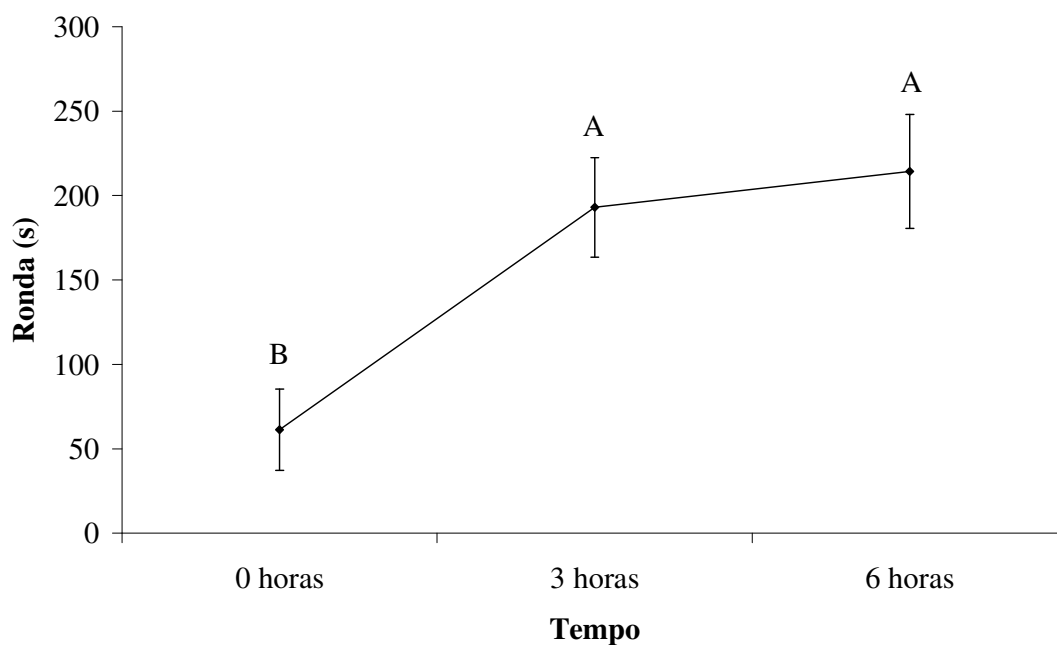


Figura 13. Tempo absoluto de ronda (médias $\pm$ erro padrão) realizado por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

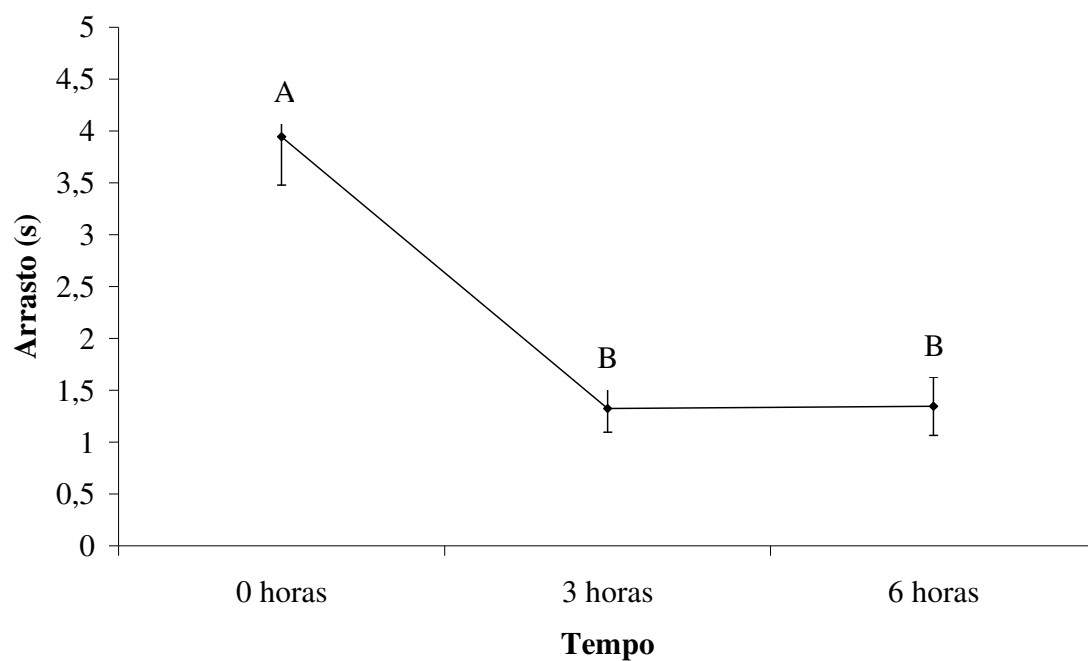


Figura 14. Tempo absoluto de arrasto (médias $\pm$ erro padrão) realizado por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

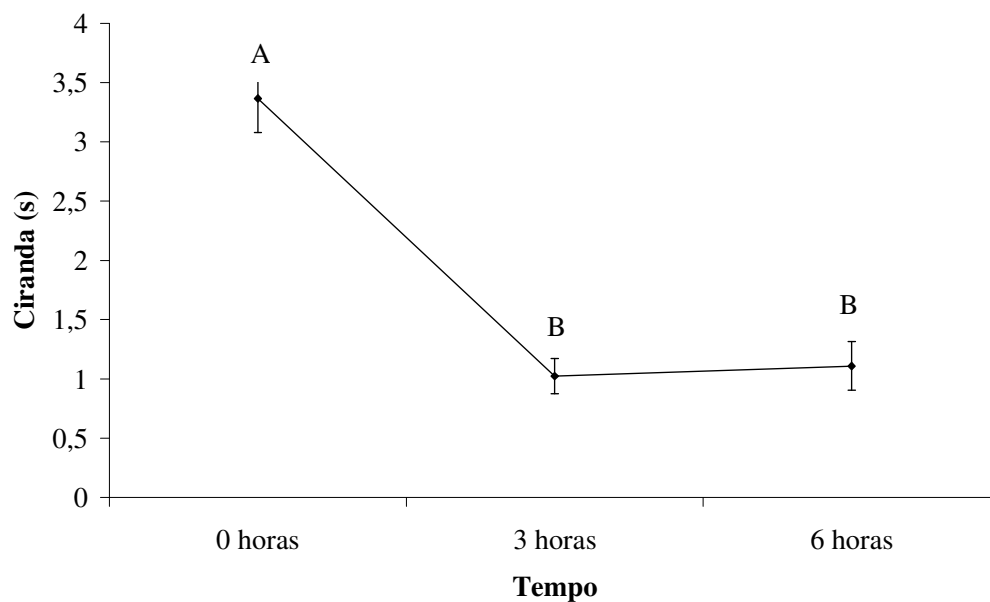


Figura 15. Tempo absoluto de ciranda (médias $\pm$ erro padrão) realizado por juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*) no decorrer da luta contra um intruso. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

O presente estudo analisou o repertório comportamental agressivo de matrinxãs juvenis submetidos a interação social com um intruso intraespecífico de tamanho similar e demonstrou que a reação à presença de um intruso é agressiva, independente do tratamento e do sexo. De modo geral, quando o intruso foi inserido no aquário, os residentes apresentaram comportamentos de ameaça, realizando vigia, e nadando em torno do oponente (ronda). Esses comportamentos podem indicar uma avaliação do oponente. Segundo Johnsson et al. (2006), em uma situação de competição social, os animais são capazes de avaliar a habilidade de briga do oponente e escolher a melhor estratégia para a luta, evitando a possibilidade de sofrer injúrias. Embora os animais avaliassem o intruso, em todas as lutas o residente se portou de maneira mais agressiva e assumiu a posição de dominante na relação social, demonstrando que a residência foi o fator preponderante para a resposta comportamental. Esse resultado corrobora estudo de Chellappa et al. (1999), que demonstrou que, em acará bandeira, *Pterophyllum scalare*, residentes venceram os intrusos em todas as lutas, mesmo quando eram de menor tamanho, embora as brigas mais intensas acontecessem entre indivíduos de tamanho semelhante. Já em juvenis de *Diplodus sargus cadenati* o peixe residente iniciou a luta mesmo contra um intruso de maior tamanho, indicando o papel preponderante da residência sobre a avaliação da habilidade de briga do oponente (Caballero e Castro, 1999).

No início da luta o comportamento do residente variou de acordo com a resposta comportamental do intruso, intercalando momentos de acompanhamento, quando o intruso se movimentava, com momentos de vigia, quando o intruso se mantinha sem movimento. A realização do acompanhamento pelo residente pareceu inibir os comportamentos agressivos diretos do intruso, estando relacionada à diminuição do número e aumento da latência para a primeira mordida na cabeça realizada pelo intruso. Além disso, antes do estabelecimento da dominância social pelo residente, o comportamento de acompanhamento apresentou uma característica bidirecional, onde ambos animais seguiam um ao outro em uma ciranda. Um comportamento semelhante foi descrito em *Diplodus sargus cadenati*, sendo caracterizado como o nado em círculo com a nadadeira dorsal estendida e agitação dos corpos (Caballero e Castro, 1999). A ciranda é um comportamento em que ambos animais permanecem em uma posição privilegiada, atrás do oponente, ocorrendo principalmente no início da luta, e diminuindo após três e seis horas, com o estabelecimento da dominância pelo residente.

No decorrer da luta pôde-se observar a realização de comportamentos de colisão. A colisão é um comportamento estimulado pelo sistema dopaminérgico, já que o aumento nos níveis de DOPAC pós-luta foi correlacionado com a diminuição na latência para a primeira

colisão. A dopamina é um dos principais neurotransmissores responsáveis pela motivação para a luta (Summers e Winberg, 2006), sendo assim, a colisão é um comportamento de agressão direta possivelmente realizado como uma forma de demonstrar a motivação para a briga. Além disso, a realização de colisões por um dos peixes parece estimular a realização de colisões pelo oponente, sugerindo que, assim como o residente, o peixe intruso também possui motivação para a briga. Estudos com peixes indicam que motivação para a briga em animais residentes é bastante elevada, já que a manutenção do território lhe permite acesso a recursos escassos (Johnsson et al., 2006), entretanto, indivíduos sem território também são altamente motivados para a luta, já que a conquista do território também pode lhe permitir o acesso a esses recursos (Johnsson e Forses, 2002). A realização de colisões pelo intruso também é afetada pelo comportamento do residente, sendo menor quando o residente se mostra mais agressivo. Quanto maior o número de perseguições e quanto menor a latência para a primeira mordida na cabeça e perseguição do residente, menor o número de colisões realizadas pelo intruso. Esses resultados demonstram que, embora o intruso esteja motivado, ele diminui sua agressão em resposta a alta agressividade do residente, assumindo uma postura reativa. Em ambiente natural, esse tipo de comportamento diminui as chances de sofrer injúrias, reduzindo os custos da luta (Cartwright, 2002; Korte et al., 2005).

Foi observada uma alteração no padrão comportamental durante o tempo de luta, com a diminuição de comportamentos com menor chance de ocasionar injúrias, como as colisões e aumento de comportamentos de mais alto risco e gasto energético, como as mordidas e perseguições, sendo esses comportamentos realizados, principalmente, pelo residente. Durante a perseguição ativa e mordida, o intruso procurava os cantos do aquário, principalmente na superfície, e algumas vezes no fundo, enquanto o residente mantinha-se, principalmente, na região média do aquário. Esses resultados corroboram estudo com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em que o peixe dominante foi caracterizado por se manter posicionado no meio da coluna d'água, demonstrando um movimento extensivo em torno do tanque, mordendo e/ou perseguindo o subordinado, enquanto os subordinados ficavam na base do aquário frequentemente adjacentes à parede, exibindo pouca atividade de nado e sem atos diretos contra os dominantes (Pottinger e Carrick, 2001). O aumento no número de mordidas e perseguições no decorrer da luta, demonstra que os animais se tornaram mais agressivos com o tempo, mesmo já tendo estabelecido a posição de dominância. Outro estudo com truta arco-íris (*O. mykiss*) também demonstrou que animais dominantes continuam atacando os subordinados, mesmo que estes se mantenham passivos (Øverli et al., 1999). Esse comportamento pode estar relacionado a reafirmação da posição social, demonstrando ao intruso, a todo momento, a supremacia do residente na dominância.

Concomitantemente a estas alterações comportamentais, houve uma diminuição no tempo absoluto de acompanhamento no decorrer da luta, e um aumento no tempo de vigia e de ronda. Esse resultado sugere que, com a dominância social estabelecida, ocorre a diminuição da atividade do intruso, que permanece mais tempo parado. Em resposta o residente permanece fazendo vigias, ou nadando em torno do intruso, sem necessidade de segui-lo. Esse resultado corrobora estudos com truta arco-íris (*O. mykiss*), em que animais que se tornam subordinados diminuem a atividade locomotora, e permanecem inativos nos cantos e fundo do aquário (Øverli et al., 1999; Pottinger e Carrick, 2001; Øverli et al., 2005). A realização de vigias em movimento também pode ter sido utilizada como uma estratégia para a inibição da agressão do oponente, já que esse comportamento realizado pelo residente parece inibir a agressão do intruso. No presente estudo foi observado que, quanto mais tempo o residente demora a apresentar esse comportamento, maior o número e menor a latência para a primeira mordida na cabeça realizada pelo intruso. Além disso, a ronda parece inibir a realização de cirandas, sendo que, quanto mais cedo o residente inicia a ronda, maior o tempo para o intruso realizar uma ciranda.

Em alguns momentos da luta, pôde-se observar a realização de arrastos. O arrasto é um comportamento de ameaça realizado principalmente no início da luta, diminuindo com três e seis horas de briga. A realização do arrasto por um dos animais estimulava a realização pelo outro, sendo, na maioria das vezes, um comportamento bidirecional em que um realizava o arrasto atrás do outro. Alguns comportamentos do residente, como a perseguição e o acompanhamento, estimulavam a realização de arrasto pelo intruso. Os resultados indicam que a realização de arrasto pode ser regulada pela ação conjunta dos sistemas monoaminérgicos, sendo que o aumento nos níveis de dopamina, DOPAC e na taxa DOPAC/DA está correlacionado com o aumento no tempo absoluto de arrastos. Além disso, a ativação serotoninérgica, dopaminérgica e noradrenérgica foi correlacionada com a diminuição na latência para o primeiro arrasto. Esse resultado sugere que o arrasto é um comportamento relacionado ao início da luta, no momento em que a dominância está sendo estabelecida, ocorrendo concomitante à ativação dos sistemas serotoninérgico e dopaminérgico (Summers e Winberg, 2006).

Segundo Johnsson e Forses (2002), o sucesso na defesa do território depende da duração da residência. Trutas marrom (*Salmo trutta*) que permaneceram em um território por 4 dias, defenderam e venceram mais lutas contra antigos donos do território que as que permaneceram por 2 dias. Além disso, a residência mais longa levou a lutas mais agressivas e duradouras. No presente estudo, o período de sete dias foi suficiente para o estabelecimento de território e expressão de comportamento altamente agressivo contra o intruso, sendo que

todos os matrinxãs residentes assumiram uma posição de dominância. O índice de dominância demonstrou que os principais comportamentos relacionados ao estabelecimento de dominância foram os de agressão direta, indicando que os matrinxãs residentes utilizam uma estratégia proativa (“gavião”) no estabelecimento da posição de dominante. Esse resultado corrobora a hipótese da assimetria arbitrária de Maynard-Smith (1979 *in* Johnsson e Forses 2002), em que os donos do território geralmente adotam uma estratégia de briga agressiva e escalada (“gavião”) e os intrusos adotam uma estratégia de retirada (“pombos”).

O índice de dominância e as agressões diretas aumentaram no decorrer da luta, enquanto os comportamentos de ameaça diminuíram, resultado na morte de muitos intrusos antes de 24 h. A maior parte dos intrusos que sobreviveram a 24 h estavam bastante debilitados ao final da luta, com o corpo sem escamas na região abdominal, e a nadadeira dorsal bastante mordida. Esses resultados sugerem que a manutenção do território é primordial para esta espécie, havendo um grande investimento energético nas lutas, chegando a causar a morte do intruso. Na natureza, acredita-se que uma interação agressiva breve causaria a fuga do intruso, permitindo a manutenção do território, sem necessidade de uma luta mais violenta (Caballero e Castro, 1999).

A agressão é um comportamento amplamente distribuído no reino animal (Popova, 2004), regulado por um complexo sistema neuroendócrino, sendo a serotonina a molécula chave no seu controle inibitório (Nelson e Chiavegatto, 2001). No presente estudo, não houve efeito significativo do triptofano nos níveis de serotonina hipotalâmica de animais não submetidos a interação social. Também não foram observadas alterações nos níveis de 5-HIAA e na taxa 5-HIAA/5-HT em resposta ao aumento da concentração de triptofano na ração. Entretanto, o triptofano suprimiu a agressividade de juvenis de matrinxã de maneira seletiva no início da luta, promovendo uma alteração na estratégia comportamental dos peixes durante a interação agressiva com um intruso, diminuindo a agressão direta e aumentando o comportamento de ameaça. Além disso, houve um aumento na latência para a realização da primeira mordida corporal, colisão, perseguição e tentativa de mordida. Em truta arco-íris (*O. mykiss*), a suplementação alimentar com triptofano também promoveu alterações comportamentais, sem alterar significativamente os níveis de serotonina no hipotálamo (Winberg et al., 2001). É possível que a suplementação alimentar com triptofano tenha causado alterações na atividade serotoninérgica em outras regiões cerebrais não avaliadas neste estudo. O sistema serotoninérgico do matrinxã é pouco desenvolvido na região diencefálica, onde está localizado o hipotálamo, apresentando os grupos celulares mais extensos em regiões mais caudais (dados do presente estudo). Além disso, considerando que o aumento da atividade da enzima triptofano hidroxilase em resposta ao aumento do triptofano é

rápido (Aldegunde et al., 2000), outros mecanismos além do aumento da biosíntese de serotonina podem estar envolvidos no controle da agressão exercido pelo triptofano.

O efeito inibitório do triptofano pode ter sido desencadeado por alterações na atividade da dopamina e da noradrenalina, já que esses neurotransmissores estão envolvidos na motivação para a agressão (Summers e Winberg, 2006; Nelson e Trainor, 2007). Os níveis de noradrenalina, dopamina, DOPAC e a taxa DOPAC/DA não foram afetados pelo triptofano em animais não estressados. Entretanto, o aumento da taxa DOPAC/DA pós-luta foi menor em machos e fêmeas alimentados com ração suplementada. Esses resultados indicam que a suplementação com triptofano pode ter inibido o aumento da atividade dopaminérgica durante a interação social, alterando o comportamento. A tirosina, precursor da dopamina, é um aminoácido neutro que compete com o triptofano para ser transportado para o encéfalo, por compartilharem o mesmo transportador na barreira hematocefálica (Fernstrom, 1983; Aldegunde et al., 1998). Sendo assim, o aumento da atividade dopaminérgica desencadeado pela interação social (Summers e Winberg, 2006) pode ter sido menor em animais tratados com triptofano pela diminuição nas concentrações de tirosina disponível, diminuindo a motivação desses animais para a briga.

Outra hipótese para o mecanismo de ação do triptofano é a alteração da densidade e sensibilidade dos receptores serotoninérgicos pré e pós sinápticos em regiões específicas do encéfalo, de maneira semelhante ao efeito das drogas anti-depressivas. Segundo estudo de Lepage et al. (2005), o efeito antiagressivo da suplementação alimentar com triptofano por sete dias pode ser mimetizado pelo tratamento com citalopran (bloqueador da recaptação de serotonina). A ação deste tipo de droga parece envolver a retroalimentação negativa dos autoreceptores somatodendríticos, causando uma retroalimentação positiva atrasada na neurotransmissão terminal (Mongeau et al., 1997). Segundo Jacobs e Fornal (1991), a principal variável que controla a atividade serotoninérgica cerebral é a retroalimentação negativa neuronal. O uso de precursores leva a um aumento na produção de serotonina, e em seguida a uma diminuição da atividade neuronal, pela ação dos autoreceptores somatodendríticos. Esta diminuição é uma resposta homeostática que opera sob condições fisiológicas para compensar os aumentos nos níveis de serotonina sináptica (Jacobs e Fornal et al., 1991). A administração crônica de precursores ou de drogas bloqueadoras da recaptação de serotonina pode desensibilizar estes receptores, promovendo aumento da atividade neuronal e consequente aumento nos efeitos pós sinápticos da serotonina (Artigas et al., 1996).

Embora não tenham sido observadas alterações significativas nos níveis de serotonina hipotalâmica em resposta a alimentação com triptofano, foi observado que o aumento dos níveis de serotonina pós-luta está correlacionado com a diminuição no número de tentativas de

mordidas e com o aumento da latência para a primeira mordida. Além disso, o aumento nos níveis de 5-HIAA está correlacionado com o aumento no tempo de vigia. Esses resultados indicam que a serotonina apresentou efeito inibitório em comportamentos de agressão direta e estimulatório nos comportamentos de ameaça. Estudos utilizando a suplementação da alimentação com triptofano em outras espécies de peixe relacionaram a serotonina com a diminuição de variáveis de agressão direta (Winberg et al., 2001; Lepage et al., 2005), entretanto, esses estudos não avaliaram o efeito do triptofano sobre a ameaça, sendo, em apenas um estudo, avaliado um comportamento de ameaça, a aproximação (Hoglund et al., 2005). Embora a aproximação tenha sido avaliada nesse estudo, este comportamento foi agrupado com outros comportamentos de agressão direta, não sendo analisado separadamente.

A diminuição na agressão desencadeada pela suplementação alimentar com triptofano não foi generalizada, diminuindo alguns comportamentos e elevando outros, sugerindo que os comportamentos realizados pelo matrinxã durante a luta possam ser controlados por mecanismos distintos. Em estudo com *Betta splendens* confrontados com espelho, o tratamento crônico com fluoxetina (bloqueador da recaptação de serotonina) também alterou o comportamento agressivo de maneira seletiva, diminuindo apenas alguns comportamentos de agressão (Lynn et al., 2007). Além disso, a supressão da agressão direta pelo triptofano também não se estendeu por toda luta, sendo observado um aumento na agressão após 3 e 6 h, de maneira semelhante ao grupo controle. Esses resultados sugerem um efeito transitório do triptofano sobre o comportamento agressivo, sendo sua ação restrita apenas às fases iniciais da agressão, diminuindo a motivação para a briga. Estudos destacam o efeito antiagressivo do triptofano no início da interação social (Winberg et al., 2001; Lepage et al., 2005; Hoglund et al., 2005), entretanto, o efeito da suplementação alimentar com esse aminoácido em lutas mais longas e ininterruptas ainda não foi descrito em outras espécies de peixe.

Embora o tratamento com triptofano não tenha alterado a atividade dos neurotransmissores avaliados em animais não estressados, foi possível observar uma correlação negativa entre a atividade serotoninérgica e dopaminérgica, indicando que esses neurotransmissores possam exercer efeitos distintos no controle da agressão, sendo que a ativação de um sistema inibe o outro e vice versa, em situações não estressantes. Esses resultados corroboram estudos que indicam que o sistema dopaminérgico tem efeitos comportamentais opostos aos da serotonina, estando relacionado ao aumento da motivação para a luta (Johnsson et al. 2006; Winberg e Summers, 2006). Em mamíferos, a ativação dopaminérgica farmacologicamente induzida aumenta o comportamento agressivo (De Almeida et al., 2005). Além disso, estudo com *S. alpinus* indica que o tratamento com L-Dopa,

precursor da dopamina, diminui a taxa 5-HIAA/5-HT no tronco cerebral e no hipotálamo (Höglund et al., 2001).

As interações agressivas resultam em uma rápida ativação da neurotransmissão monoaminérgica cerebral em peixes, assim como em outros vertebrados (Winberg e Nilsson, 1993). Em matrinxãs alimentados com triptofano, a interação social influenciou o perfil neuroendócrino, havendo um aumento na atividade serotoninérgica, dopaminérgica e nos níveis de noradrenalina no hipotálamo após a interação. Além disso, as taxas serotoninérgica e dopaminérgica passaram a apresentar uma correlação positiva entre si. Segundo Summers e Winberg (2006) a interação social promove modificações neuroendócrinas rápidas, com aumento na atividade serotoninérgica, dopaminérgica e corticosteróide. Aumentos na atividade das monoaminas também foram observados em lagartos verdes (*Anolis carolinesis*) submetidos a ameaça social (Watt et al., 2007) e em trutas arco-íris (*O. mykiss*) submetidas a lutas com pares de mesmo tamanho (Øverli et al. 1999). O aumento da atividade dopaminérgica está mais relacionado à motivação para a luta, enquanto a elevação da atividade serotoninérgica e corticosteróide ocorrem em resposta ao estresse social desencadeado pela briga (Summers e Winberg, 2006).

Embora os matrinxãs utilizados no presente estudo fossem juvenis, houve um efeito discreto do gênero no comportamento dos animais, com machos sendo numericamente mais agressivos. Segundo Nelson e Chiavegatto (2001), em mamíferos, os machos são marcadamente mais agressivos que fêmeas. Em peixes, estudos com juvenis de truta arco-íris (*O. mykiss*) (Johnsson e Åkerman, 1998) e de truta marrom (*S. trutta*) (Johnsson et al., 2001), também demonstraram diferenças sexo específicas no comportamento agressivo, sendo os machos mais agressivos que as fêmeas. As diferenças comportamentais em peixes juvenis podem estar relacionadas a padrões de seleção genética diferencial, onde os machos possuam genes que promovam alta agressividade, utilizada na maturidade para a competição por fêmeas (Johnsson e Åkerman, 1998; Johnsson et al., 2001). Segundo Korte et al. (2005), a seleção natural mantém um balanço preservando genes para a alta agressão e para a baixa agressão dentro da população, entre os sexos, e mesmo dentro do mesmo sexo. Além disso, no presente estudo, os machos apresentaram um perfil neuroendócrino distinto das fêmeas com um maior aumento nos níveis de noradrenalina e de 5-HIAA após a luta. Segundo Haller et al. (1998), a ativação noradrenérgica central é necessária para a expressão da agressão, sendo que um pequeno aumento nos níveis de noradrenalina aumenta a agressão. Já o aumento nos níveis de 5-HIAA pode indicar que a atividade da enzima que degrada a serotonina, a monoamina oxidase A (MAO A), é maior em machos que em fêmeas. Segundo Nelson e Trainor (2007), tanto o aumento quanto a diminuição na atividade da enzima MAO A podem aumentar a

agressividade. No decorrer da luta, os machos demonstraram um aumento gradativo na agressividade enquanto as fêmeas apresentaram um aumento após três horas, diminuindo novamente a agressão após seis horas. Esses resultados podem indicar a utilização de uma estratégia comportamental distinta entre machos e fêmeas, em que as fêmeas apresentam uma diminuição na agressividade após o estabelecimento da dominância, enquanto os machos continuam aumentando a agressão mesmo depois de se tornarem dominantes.

A despeito da maior agressividade dos machos, as fêmeas foram as primeiras a realizar a maior parte dos ataques e apresentaram um o número maior de colisões. Esses resultados indicam que as fêmeas apresentam um comportamento menos cauteloso no início da luta, avaliando o intruso e iniciando a briga antes dos machos. Estudo com truta arco-íris (*O. mykiss*) também indicou que machos são mais cautelosos que fêmeas diante de uma situação nova, demorando mais para reassumir a alimentação após serem transferidos para o isolamento (Øverli et al. 2006). Além disso, a diferença comportamental observada entre machos e fêmeas no presente estudo foi bastante discreta, indicando que a residência é o principal fator determinando a resposta comportamental dos animais.

No presente estudo a suplementação alimentar com triptofano por 7 dias afetou seletivamente as variáveis fisiológicas indicadoras de estresse, promovendo uma modificação no perfil metabólico tanto dos animais não perturbados quanto dos submetidos à interação social. Além disso, a interação com um intruso demonstrou ser estressante para peixes, desencadeando respostas metabólicas adaptativas típicas de uma resposta ao estresse.

Além do papel no controle do comportamento agressivo, a serotonina está envolvida na regulação do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal em peixes, podendo causar aumento nos níveis basais de cortisol em animais não estressados (Winberg et al., 1997; Øverli et al., 1999; Höglund et al., 2002; Lepage et al., 2002). Embora os níveis de cortisol não tenham sido avaliados no presente estudo, sugere-se que as variações metabólicas observadas possam ter sido desencadeadas por aumento no cortisol. Foi observado um aumento nos níveis de glicose plasmática em machos, diminuição no lipídio hepático, e aumento no índice hepatossomático com o aumento da concentração de triptofano na alimentação. O cortisol afeta o metabolismo de carboidratos, desencadeando hiperglicemia pelo aumento da capacidade gliconeogênica hepática (Wendelaar Bonga, 1997). As alterações nos níveis de glicose não foram acompanhadas por modificações no glicogênio, entretanto os níveis de lipídeo hepático apresentaram uma pequena diminuição numérica. Os efeitos do cortisol nas reservas lipídicas ainda são contraditórios, contudo estudos indicam uma ação lipolítica desse hormônio, com a liberação de glicerol como substrato para a gliconeogênese (Mommensen et al., 1999). Esse resultado corrobora estudos com truta arco-íris (*O. mykiss*) (Papoutsoglou et al., 2005a,

Papoutsoglou et al., 2005b), em que houve a diminuição nos níveis de lipídeo hepático em animais alimentados com ração suplementada com triptofano. Além disso, o aumento no índice hepatossomático devido ao aumento da concentração de triptofano na alimentação observado no presente estudo, também foi descrito Papoutsoglou et al. (2005a), segundo o qual trutas alimentadas com triptofano (2, 47 g/100g de ração) por 11 semanas apresentaram um fígado 4,7 vezes maior que animais tratados com ração não suplementada. O aumento do índice hepatossomático de matrinxãs foi discreto comparado com o estudo com trutas, provavelmente devido às menores concentrações de triptofano e ao menor tempo de alimentação. O aumento no índice hepatossomático pode ter sido desencadeado por um aumento da atividade hepática em resposta ao aumento da concentração de triptofano e serotonina na corrente sanguínea. Segundo, Caamaño-Tubio et al. (2007), o fígado é um dos órgãos responsáveis pela metabolização da serotonina. Uma outra hipótese para o aumento no índice hepatossomático seria um possível desbalanço metabólico desencadeado pela ingestão de uma ração com níveis de aminoácidos desbalanceados (Papoutsoglou, 2005a).

Em animais não submetidos a interação social, pode-se observar um efeito do gênero nas variáveis hematológicas. Foi encontrado um número de eritrócitos, hematócrito e hemoglobina mais elevado em fêmeas que em machos. Estudo com salmão (*Oncorhynchus nerka*) demonstrou que fêmeas possuem 19% mais hemoglobina que machos, o que pode compensar a menor massa ventricular relativa, mantendo a capacidade de transporte de oxigênio semelhante entre os sexos (Clark et al., 2009). Outros estudos com peixes teleósteos não detectaram diferenças nos parâmetros hematológicos de machos e fêmeas não estressados (Vazquez e Guerrero, 2007). A interação social desencadeou uma alteração generalizada nos variáveis hematológicas, sendo observado um aumento após 20 min e um aumento ainda maior após 24 h de interação. Após a luta a diferença entre machos e fêmeas desapareceu, ocorrendo, uma discreta inversão, com machos apresentando valores hematológicos numericamente mais elevados. As interações sociais são altamente estressantes (Øverli et al., 1999), e causam a resposta de alarme em peixes, levando à elevação rápida nos níveis de catecolaminas periféricas, adrenalina e noradrenalina, e de cortisol, promovendo uma série de alterações adaptativas para habilitar o organismo a enfrentar a situação adversa (Wendelaar Bonga, 1997). Sendo assim, as alterações hematológicas podem ter sido causadas pelo estresse da interação social com o intruso. A ação das catecolaminas no organismo desencadeiam modificações fisiológicas objetivando o aumento da capacidade de transporte de oxigênio, dentre as quais o aumento do hematócrito sanguíneo, em função do aumento do número de eritrócitos e de seu volume, causado pela contração esplênica (Wendelaar Bonga, 1997). Esses

resultados corroboram outro estudo com matrinxã, em que situações de estresse social desencadearam alterações hematológicas adaptativas (Ferraz e Gomes, 2009).

O estresse social também promoveu alterações metabólicas, sendo observado um aumento nos níveis de glicose após os 20 min iniciais de luta e uma diminuição da após 24 h, em animais controle e tratados com ração suplementada 2X. Segundo Øverli et al. (1999), a interação social é estressante tanto para o peixe dominante, quanto para o subordinado, entretanto, apenas o animal subordinado apresenta resposta crônica de estresse. Sendo assim, a elevação dos níveis de glicemia no início da luta evidencia uma resposta de estresse à presença do intruso, enquanto, após 24 h já se pode observar a recuperação da situação basal, com níveis semelhantes aos animais não perturbados. Os animais tratados com ração suplementada 4X não apresentaram esse perfil, sendo os níveis de glicose mantidos praticamente sem alteração em animais não perturbados e submetidos a 20 min ou 24 h de interação social. Os níveis basais de glicose plasmática desse tratamento também eram os mais elevados. Estudos com truta indicam que a suplementação da alimentação com triptofano por 7 dias eleva os níveis basais de cortisol, diminuindo o aumento desse hormônio após o estresse (Lepage et al., 2002; Lepage et al., 2003). Sendo assim, o aumento nos níveis basais de cortisol pode ter diminuído o aumento em resposta ao estresse, com os níveis de glicose plasmática seguindo o mesmo padrão, já que o cortisol desencadeia hiperglicemia (Wendelaar Bonga, 1997). Houve ainda uma diminuição significativa no índice hepatossômico de animais submetidos a 24 h de interação social, quando comparados com animais que interagiram por 20 min. Esta variação poderia ter sido desencadeada pelo consumo das reservas energéticas do fígado durante a luta.

CONCLUSÕES

Concluimos neste estudo que a suplementação alimentar com triptofano promove alterações comportamentais seletivas em juvenis de matrinxã confrontados com intrusos intraespecíficos, alterando a estratégia comportamental agressiva da espécie. Matrinxãs tratados com triptofano por sete dias apresentam diminuição de comportamentos de agressão direta, aumento de comportamentos relacionados a ameaça e da latência para os ataques contra o intruso. Além disso, o efeito do triptofano sobre o comportamento dos peixes é restrito às fases iniciais da luta. Essas alterações comportamentais causadas pelo tratamento com triptofano estão relacionadas à ação inibitória da serotonina na agressão e à diminuição na motivação para a briga, em função da diminuição da ativação dopaminérgica durante a luta.

Concluimos, ainda, que o matrinxã apresenta um alto investimento energético na luta, aumentando a agressão contra o intruso no decorrer da briga, mesmo quando tratados com triptofano. Além disso, este trabalho permitiu demonstrar que a interação agressiva com um intruso intraespecífico é um fator estressante para os peixes, desencadeando respostas metabólicas, hematológicas e neuroendócrinas. As respostas fisiológicas e comportamentais desencadeadas pela luta podem variar de acordo com o gênero dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldegunde, M.; Garcia, J.; Soengas, J.L.; Rozas, G. Uptake of tryptophan into brain of rainbow trout. *The Journal of Experimental Zoology*, v. 282, p. 285-289, 1998.

Aldegunde, M.; Soengas, J.L.; Rozas, G. Acute effects of L-Tryptophan on tryptophan hidroxylation rate in brain regions (hypothalamus and medulla) of rainbow trout. *The Journal of Experimental Zoology*, v. 286, p. 131-135, 2000.

Artigas, F.; Romero, L.; Montigny, C.; Blier, P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends in Neuroscience*. v. 19, p. 378-383, 1996.

Ashley, P.J. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 104, p. 199-235, 2007.

Bligh, E.G., Dyer, W.J. Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. v. 37, p. 911-917, 1959.

Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. v. 72, p. 248-254, 1976.

Caamaño-Tubío, R.I.; Pérez, J.; Ferreiro, S.; Aldegunde, M. Peripheral serotonin dynamics in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 145, p. 245-255, 2007.

Caballero, C.; Castro, J.J. Effect of residence and size asymmetries upon the agonistic interactions between juvenile white-seabream (*Diplodus sargus candenati*). *Aggressive behavior*, v. 25, p. 297-303, 1999.

Cartwright, J.A. *Determinants of Animal Behaviour*. 1 ed., p. 31-41. New York: Routledge, 2002.

Chellappa, S.; Yamamoto, M.E.; Cacho, M.S.R.F.; Huntinfford, E.A. Prior residence, body size and the dynamics of territorial disputes between male freshwater angelfish. *Journal of Fish Biology*, v.55, p.1163-1170, 1999.

Clark, T.D.; Hinch, S.G.; Taylor, B.D.; Frappell, P.B.; Farrell, A.P. Sex differences in circulatory oxygen transport parameters of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) on the spawning ground. *Journal of Comparative Physiology B*. v. 179, p. 663-671, 2009.

De Almeida, R.M.M.; Ferrari, P.F.; Parmifiani, S.; Miczek, K.A. Escalated aggressive behavior: Dopamine, serotonin and GABA. *European Journal of Pharmacology*, v. 526, p. 51-64, 2005.

Fernstrom, J.D., Wurtman R.J. Brain serotonin content: regulation by plasma neutral amino acids. *Science*, v. 178, p. 414-416, 1972.

- Fernstrom, J.D. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiological Reviews*. V. 63, n.2, 1983.
- Ferraz, F.B.; Gomes, L.C. Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. v. 153, p. 293-296, 2009.
- Haller, J.; Makara, G.B.; Kruk, M.R. Catecholaminergic Involvement in the control of aggression: hormones, the peripheral sympathetic and central noradrenergic systems. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 22, n. 1, p. 85-97, 1998.
- Hickman, C.P.; Roberts, S.L.; Larson, A. *Princípios Integrados de Zoologia*. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 2004.
- Höglund, E.; Kolm, N.; Winberg, S. Stress-induced changes in brain serotonergic activity, plasma cortisol and aggressive behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is counteracted by L-DOPA. *Physiology & Behavior*, v. 74, p. 381-389, 2001.
- Höglund, E.; Balm, P.H.M.; Winberg, S. Stimulatory and inhibitory effects of 5-HT_{1A} receptors on adrenocorticotrophic hormone and cortisol secretion in a teleost fish, the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Neuroscience Letters*, v. 324, p. 193-196, 2002.
- Höglund, E.; Bakke, M.J.; Øverli, Ø.; Winberg, S.; Nilsson, G.E. Suppression of aggressive behavior in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by L-tryptophan supplementation. *Aquaculture*, v. 249, p. 525-531, 2005.
- Howes, G. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characidae). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v. 43, p. 1-47, 1982.
- Hseu, J.R.; Lu, F.I.; Su, H.M.; Wang, L.S.; Tsai, C.L.; Hwang, P.P. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism survivor and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, p. 0-12, 2003.
- Jacobs, B.L.; Fornal, C. A. Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacological Reviews*, v.43, n.4, 1991.
- Johnsson, J.I.; Åkerman, A. Intersexual differences in aggression in juvenile rainbow trout. *Journal of Fish Biology*. v. 52, p. 1292-1294, 1998.
- Johnsson, J.I. Sernland, E.; Blixt, M. Sex-specific aggression and antipredator behaviour in young brown trout. *Ethology*, v. 107, p. 587-599, 2001.
- Johnsson, J.I.; Carlsson, M.; Sundström, L.F. Habitat preference increases territorial defence in brown trout (*Salmo trutta*). *Behavioral Ecological Sociobiology*. v. 48, p. 373-377, 2002.
- Johnsson, J.I.; Forses, A. Residence duration influences the outcome of territorial conflicts in brown trout (*Salmo trutta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. v. 51, p. 282-286, 2002.
- Johnsson, J.I.; Winberg, S.; Sloman, K.A. Social Interactions. Fish Physiology. In: Sloman, KA, Wilson, RW, Balshine, S. (ed.) *Behaviour and Physiology of Fish*. London: Academic Press, p. 151-196, 2006.

- Karl, T.; Lin, S. Schwarzer, C.; Sainsbury, A.; Couzens, M.; Wittmann, W.; Boey, D.; von Hörsten, S.; Herzog, H. Y_1 receptors regulate aggressive behavior by modulating serotonin pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 34, p. 12742-12747, 2004.
- Korte, S.M.; Koolhaas, J.M.; Wingfield, J.C.; McEwen B.S. The Darwinian concept of the stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, v. 29, p. 3-28, 2005.
- Legage, O.; Tottmar, O.; Winberg, S. Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Experimental Biology*, v. 205, p. 3679-3687, 2002.
- Lepage, O.; Vilchez, I.M.; Pottinger, T.G.; Winberg, S. Time-course of the effect of dietary L-tryptophan on plasma cortisol levels in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *The Journal of Biology*, v. 206, p. 3589-3599, 2003.
- Lepage, O.; Larson, E.T.; Mayer, I.; Winberg, S. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationship and aggression in rainbow-trout. *Hormones and Behavior*, v. 48, p. 233-242, 2005.
- Lynn, S.E.; Egar, J.M.; Walker, B.G.; Sperry, T.S.; Ramenofsky, M. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. *Advances in Physiology Education*, v.31, p. 358-363, 2007.
- Maynard Smith, J. Game theory and the evolution of behaviour. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 205, p. 475-488, 1979. In: Johnsson, J.I.; Forser, A. Residence duration influences the outcome of territorial conflicts in brown trout (*Salmo trutta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v. 51, p. 282-286, 2002.
- Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 9, p. 211-268, 1999.
- Mongeau, R.; Blier, P. De Montigny, C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: Their interactions and the effects of antidepressant treatments. *Brain Research Reviews*, v. 32, n. 3, p. 145-195, 1997.
- Moon, T.W., Foster, G.D., Plisetskaya, E.M. Changes in peptide hormones and liver enzymes in the rainbow trout deprived of food 6 weeks. *Canadian Journal of Zoology*, v. 67, p. 2189-2193, 1989.
- Nelson, R.J.; Chiavegatto, S. Molecular basis of aggression. *Trends in Neuroscience*, v. 24, n.12, p. 713-719, 2001.
- Nelson, R.J.; Trainor, B.C. Neural mechanisms of aggression. *Nature Reviews – Neuroscience*, v. 8, 2007.
- Øverli, Ø.; Harris, C.; Winberg, S. Short-term effects of fights for social dominance and the establishment of dominant-subordinate relationships of brain monoamines and cortisol in rainbow-trout. *Brain, Behavior and Evolution*, v. 54, p. 263-275, 1999.

- Øverli, Ø.; Winberg, S.; Pottinger, T.G.; Behavioral and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout – a review. *Integrative and Comparative Biology*, v. 45, p. 463-474, 2005.
- Øverli, Ø. Sørensen, C.; Nilsson, G.E. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty. *Physiology & Behavior*. v. 87, p. 506-512, 2006.
- Palkovits, M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat. *Brain Research*. v. 59, p. 449-450, 1973.
- Papoutsoglou, S.E., Karakatsouli N., Koustas, P. Effects of dietary L-tryptophan and lighting conditions on growth performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a recirculating water system. *Journal of Applied Ichthyology*. v. 21, p. 520-524, 2005a
- Papoutsoglou, 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. *Aquaculture Engineering*. v. 32, p. 277-284, 2005b.
- Parent, A. Functional anatomy and evolution of monoaminergic systems. *American Zoology*, v. 24, p. 783-790, 1984.
- Popova, N.K. The role of brain serotonin in the expression of genetically determined defensive behavior. *Russian Journal of Genetics*, v. 40, n. 6, p. 624-630, 2004.
- Popova, N.K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system. *BioEssays*, v. 28, p. 495-503, 2006.
- Pottinger, T.G.; Carrick, T.R. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, v. 40, p. 419-427, 2001.
- Soma, K.K.; Scotti, M.A.L.; Newman, A.E.M.; Charlier, T.D.; Demas, G.E. Novel mechanisms for neuroendocrine regulation of aggression. *Frontiers in Neuroendocrinology*. v. 29, p. 476-489, 2008.
- 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.*
- Summers, C.H. Social interaction over time, implications for stress responsiveness. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, p. 591-599, 2002.
- Summers, C.H.; Winberg, S. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *The Journal of Experimental Biology*, v. 209, p.4581-4589, 2006.
- Vázquez, G.R.; Guerrero, G.A. Characterization of the blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell*. v. 39, p. 151-160, 2007.
- Watt, M.J.; Forster, G.L.; Korzan, W.J.; Renner, K.J.; Summers, C.H. Rapid neuroendocrine evoked at onset of social challenge. *Physiology & behavior*. v. 90, p. 567-575, 2007.

Wendelaar Bonga, S.E. The stress response in fish. American Physiological Society, 1997.

Winberg, S.; Nilsson, G.E. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behavior and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*. v. 106, p. 597-614.

Winberg, S.; Nilsson, A.; Hylland, P.; Söderström, V.; Nilsson, G.E. Serotonin as a regulator of hypothalamic-pituitary-interrenal activity in teleost fish. *Neuroscience Letters*, v. 230, p. 113-116, 1997.

Winberg, S.; Lepage, O. Elevation of brain 5-HT activity, POMC expression, and plasma cortisol in socially subordinate rainbow trout. *American Journal of Physiology*, v. 274, p. R645-R654, 1998.

Winberg, S.; Øverli, Ø.; Lepage, O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan. *The Journal of Experimental Biology*, v.204, p. 3867-3876, 2001.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aqüicultura é, atualmente, uma das atividades que apresenta as maiores taxas de crescimento, sendo cada vez mais importante o desenvolvimento de tecnologias que garantam a manutenção do bem estar dos animais e a lucratividade, produzindo carnes de alta qualidade e de boa aceitação tanto no mercado interno quanto externo. Para o desenvolvimento dessas tecnologias é de fundamental importância um conhecimento mais refinado acerca da biologia das espécies produzidas, incluindo seus processos fisiológicos, neuroendócrinos e comportamentais.

O matrinxã (*Brycon amazonicus*) é uma espécie de alto interesse econômico, entretanto, seu comportamento intraespecífico altamente agressivo dificulta a criação, causando perdas na produção e diminuição no bem estar dos animais, tanto em virtude do estresse social desencadeado por seu comportamento, quanto pelas lutas propriamente ditas. Os estudos envolvendo a espécie ainda são incipientes, sendo o comportamento agressivo ainda pouco estudado. Dessa forma, o presente estudo traz uma série de informações importantes acerca do comportamento agressivo da espécie, bem como de alguns sistemas neuroendócrinos envolvidos na sua regulação, podendo auxiliar no desenvolvimento de novas tecnologias de produção, além de servir de base para a realização de novos estudos abrangendo o complexo controle da agressão.

O controle do comportamento agressivo é realizado por um complexo sistema neuroendócrino, sendo a serotonina o principal neurotransmissor envolvido nessa regulação. Foi observado que o sistema serotoninérgico do matrinxã é bem desenvolvido, apresentando grupos celulares em praticamente toda a extensão encefálica, sendo os maiores grupos encontrados nas regiões caudais. Esta ampla distribuição e desenvolvimento indicam que o sistema serotoninérgico é extremamente importante para a espécie, estando diretamente relacionado ao controle inibitório da agressão.

Estudos com peixes têm demonstrado que a utilização do precursor da serotonina, o aminoácido essencial triptofano, na alimentação diminui o comportamento agressivo, sugerindo o uso desta ferramenta metodológica no desenvolvimento de tecnologias de produção visando o controle da agressividade. Entretanto, os estudos até então realizados não permitem afirmar que o uso do triptofano é uma ferramenta eficaz e benéfica para este propósito, devido à ausência de efeito em tratamentos de longo prazo já documentada, além da ausência de estudos avaliando os efeitos do triptofano em lutas mais longas (ininterruptas) e em comportamentos agressivos de ameaça. O efeito antiagressivo do triptofano parece ser restrito aos momentos iniciais da luta contra um intruso, afetando especificamente comportamentos de agressão direta. Foi observado um efeito estimulatório do triptofano em comportamentos de ameaça, além de um retorno à níveis elevados de agressividade após 3

horas de luta. Essas alterações comportamentais foram possivelmente ocasionadas pela diminuição da atividade dopaminérgica hipotalâmica durante a luta, estando diretamente relacionadas, também, à atividade serotoninérgica, embora não tenham sido observadas alterações significantes na atividade da serotonina hipotalâmica em resposta aos tratamentos. É possível que o sistema serotoninérgico esteja agindo em outras regiões cerebrais, já que foi observado que a região hipotalâmica possui um número bastante restrito de células serotoninérgicas, sendo as regiões do mesencéfalo e tronco cerebral mais desenvolvidas. Além disso, deve-se considerar as alterações metabólicas que podem ser causadas pelo desbalanço aminoácido na alimentação.

Sendo assim, embora o uso do triptofano seja uma alternativa interessante para o desenvolvimento de novas tecnologias de produção a análise acerca dos benefícios e custos de seu uso deve ser feita com cautela. É importante ressaltar que, para a definição do triptofano como uma ferramenta de controle da agressão em peixes, novos estudos devem ser realizados, visando a compreensão mais profunda dos mecanismos de ação desse aminoácido no organismo.