

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITOS DA COR DE FUNDO DO AMBIENTE DE ESTOQUE NO AJUSTE DA TILÁPIA-DO-NILO
INTRODUZIDA EM AMBIENTE NOVO

VICTÓRIA CRISTINA LUCIFERO CARNEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Junho - 2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITOS DA COR DE FUNDO DO AMBIENTE DE ESTOQUE NO AJUSTE DA TILÁPIA-DO-NILO
INTRODUZIDA EM AMBIENTE NOVO

VICTÓRIA CRISTINA LUCIFERO CARNEIRO

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Egydio Barreto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Junho - 2026

C289e

Carneiro, Victória Cristina Lucifero

Efeitos da cor de fundo do ambiente de estoque no ajuste da
tilápia-do-Nilo introduzida em ambiente novo / Victória Cristina
Lucifero Carneiro. -- Botucatu, 2026

32 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Rodrigo Egydio Barreto

1. tilápia-do-Nilo. 2. comportamento. 3. cores. 4. estresse. 5.
ambiente. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITOS DA COR DE FUNDO DO AMBIENTE DE ESTOQUE NO AJUSTE DA TILÁPIA-DO-NILO INTRODUZIDA EM AMBIENTE NOVO

AUTORA: VICTÓRIA CRISTINA LUCIFERO CARNEIRO

ORIENTADOR: RODRIGO EGYDIO BARRETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Mestre em Zootecnia, área: Nutrição e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Associado RODRIGO EGYDIO BARRETO (Participação Virtual)
Departamento de Fisiologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB

Prof. Associado MARCOS LIVIO PANHOZA TSE (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMVZ

Prof. Dr. LEONARDO JOSÉ GIL BARCELLOS (Participação Virtual)
Universidade de Passo Fundo

Botucatu, 12 de junho de 2026.



Documento assinado digitalmente

CLAUDIA CRISTINA MORECI

Data: 16/06/2026 11:46:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

BIOGRAFIA DO AUTOR

Victória Cristina Lucifero Carneiro, nascida em 02 de março de 1999, na cidade de Botucatu/SP. Iniciou a vida acadêmica em 2018 ao ingressar no curso de Zootecnia na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu e concluiu o bacharelado em 2023. Conclui o curso de Mestrado em Zootecnia com ênfase em fisiologia animal focando nos agentes estressores de *Oreochromis niloticus* a fim de reduzir efeitos estressores e contribuir com o bem-estar dos animais em criações.

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista ao meu pai, Carlos Roberto Carneiro, que esteve ao meu lado em todas as fases e momentos até aqui.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Deus por me dar saúde e para prosseguir a cada dia.

Às amigas que intensifiquei aqui, Clara, Lucas e Camila, que me ajudaram a amenizar a tensão durante a caminhada acadêmica.

E ao Professor Doutor Rodrigo Egydio Barreto, que tem me acompanhado desde a graduação e me impulsiona a prosseguir no mundo das pesquisas e meio acadêmico.

Obrigada!

RESUMO GERAL

A introdução de peixes em ambientes novos representa um estressor comum na aquicultura, podendo comprometer a homeostase e o bem-estar animal. Entre os fatores ambientais capazes de influenciar as respostas fisiológicas e comportamentais dos peixes, destaca-se a coloração do ambiente, especialmente a cor de fundo (“background color”). Estudos prévios demonstram que a cor azul tende a promover efeitos positivos em tilápias-do-Nilo, enquanto a vermelha pode intensificar respostas de estresse. Nesse contexto, o presente estudo buscou investigar se a cor de fundo do ambiente de estoque poderia influenciar a capacidade de adaptação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) quando introduzida em um ambiente novo. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos das cores azul, vermelha e branca do ambiente de origem sobre variáveis fisiológicas e comportamentais relacionadas ao ajuste e ao bem-estar da espécie após a transferência para um ambiente neutro. Foram utilizados alevinos machos de tilápia-do-Nilo mantidos individualmente durante sete dias em aquários monocromáticos. Em seguida, os animais foram transferidos para aquários neutros, onde foram conduzidos dois experimentos independentes. No Experimento 01, foram avaliados parâmetros comportamentais, incluindo latência alimentar, ingestão alimentar, atividade locomotora e comportamento agressivo frente ao espelho. No Experimento 02, foram mensurados parâmetros fisiológicos, como frequência ventilatória e cortisol plasmático, imediatamente após a transferência e uma hora depois. Os resultados demonstraram que a cor de fundo do ambiente de estoque não exerceu efeito significativo sobre nenhuma das variáveis analisadas. Em relação ao comportamento alimentar, observou-se redução progressiva da latência para alimentação e aumento do consumo de alimento ao longo dos dias, independentemente da cor. A atividade locomotora também não diferiu entre os tratamentos, assim como o comportamento agressivo. Quanto às variáveis fisiológicas, não houve efeito das cores sobre a frequência ventilatória ou sobre os níveis de cortisol plasmático. Entretanto, verificou-se aumento do cortisol após uma hora da introdução no ambiente novo, independentemente do tratamento, indicando resposta ao estressor da transferência. Concluímos que, tais cores de fundo do ambiente de estoque não influenciam significativamente o ajuste fisiológico e comportamental da tilápia-do-Nilo em ambiente novo.

Palavras-chave: tilápia-do-Nilo; estresse; cores; ajustabilidade; comportamento; ambiente.

ABSTRACT

The introduction of fish into novel environments represents a common stressor in aquaculture, potentially compromising homeostasis and animal welfare. Among the environmental factors capable of influencing the physiological and behavioral responses of fish, environmental coloration, especially background color, stands out. Previous studies have shown that blue environments tend to promote positive effects in Nile tilapia, whereas red environments may intensify stress responses. In this context, the present study investigated whether the background color of the stocking environment could influence the adaptive capacity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) when introduced into a novel environment. The objective of this study was to evaluate the effects of blue, red, and white background colors of the original environment on physiological and behavioral variables related to the adjustment and welfare of the species after transfer to a neutral environment. Male Nile tilapia fingerlings were individually maintained for seven days in monochromatic aquaria. Subsequently, the animals were transferred to neutral aquaria, where two independent experiments were conducted. In Experiment 01, behavioral parameters were evaluated, including feeding latency, food intake, locomotor activity, and aggressive behavior toward a mirror. In Experiment 02, physiological parameters such as ventilatory frequency and plasma cortisol levels were measured immediately after transfer and one hour later. The results demonstrated that the background color of the stocking environment had no significant effect on any of the analyzed variables. Regarding feeding behavior, there was a progressive reduction in feeding latency and an increase in food consumption over the days, regardless of color. Locomotor activity also did not differ among treatments, nor did aggressive behavior. Concerning physiological variables, no effect of color was observed on ventilatory frequency or plasma cortisol levels. However, cortisol levels increased one hour after introduction into the novel environment, regardless of treatment, indicating a response to transfer stress. We conclude that these background colors of the stocking environment do not significantly influence the physiological and behavioral adjustment of Nile tilapia in a novel environment.

Keywords: Nile tilapia; stress; colors; adaptability; behavior; environment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 01. Esquema do projeto.....	19
Figura 02. Comportamento alimentar.....	21
Figura 03. Atividade locomotora.....	22-24
Figura 04. Latência de ataque.....	25
Figura 05. Frequência ventilatória.....	26
Figura 06. Efeito do cortisol.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

UNESP	Universidade Estadual de São Paulo
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
ANOVA	Análise de variância
GIFT	Genetically Improved Farmed Tilapia

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	13
1. Considerações iniciais.....	14
2. Revisão de literatura.....	14
 CAPÍTULO 2.....	 16
1. Introdução.....	17
2. Objetivos.....	18
3. Materiais e Métodos.....	18
4. Resultados.....	20
4.1. Comportamento alimentar.....	20
4.2. Atividade locomotora.....	21
4.3. Comportamento agressivo.....	24
4.4. Frequência ventilatória.....	26
4.5. Cortisol plasmático.....	26
5. Discussão.....	27
6. Referências.....	29
IMPLICAÇÕES.....	32

CAPÍTULO 1

1. Considerações iniciais

A introdução de peixes em ambientes novos é uma prática rotineira na aquicultura, ocorrendo durante etapas como transporte, classificação, transferência entre tanques e povoamento de sistemas de cultivo. Contudo, esse procedimento representa um desafio potencialmente estressante, capaz de desencadear alterações fisiológicas e comportamentais que comprometem a homeostase, o desempenho produtivo e o bem-estar dos animais. Embora diversas estratégias tenham sido propostas para minimizar os impactos dessa transição, a maior parte dos estudos concentra-se em modificações realizadas no ambiente de destino, enquanto pouca atenção tem sido dada às características do ambiente de origem e ao seu potencial de preparar os animais para enfrentar mudanças futuras.

Entre os fatores ambientais que podem influenciar o estado fisiológico e comportamental dos peixes, a cor do ambiente tem despertado crescente interesse. Estudos prévios demonstraram que diferentes cores podem afetar parâmetros relacionados ao crescimento, alimentação, agressividade, reprodução e resposta ao estresse em tilápias-do-Nilo, sugerindo que a coloração do ambiente constitui uma ferramenta de manejo com potencial para influenciar o bem-estar animal. Entretanto, permanece pouco compreendido se a exposição prévia a determinadas cores pode alterar a capacidade dos peixes de lidar com desafios subsequentes, como a introdução em um ambiente novo.

Essa lacuna é particularmente relevante pois, caso determinadas cores favoreçam a resiliência dos animais frente a mudanças ambientais, a simples manipulação da cor de fundo dos tanques de estoque poderia representar uma estratégia prática, de baixo custo e facilmente aplicável para reduzir os impactos do manejo na aquicultura. Além de contribuir para o aprimoramento do bem-estar animal, tal conhecimento poderia auxiliar no desenvolvimento de protocolos de criação mais eficientes, minimizando respostas de estresse e favorecendo a adaptação dos peixes durante etapas críticas da produção. Dessa forma, investigar o papel das cores de fundo na capacidade de ajuste da tilápia-do-Nilo a ambientes novos não apenas amplia a compreensão dos efeitos da coloração ambiental sobre a biologia da espécie, mas também possui potencial aplicação direta nos sistemas de cultivo comerciais.

2. Revisão de Literatura

A cor do ambiente é um componente visual capaz de influenciar diversos aspectos da biologia dos peixes, incluindo comportamento, fisiologia, crescimento, reprodução e respostas ao estresse. Embora fatores como temperatura, qualidade da água e densidade de estocagem sejam tradicionalmente considerados os principais determinantes do bem-estar em sistemas de cultivo, evidências crescentes demonstram que características visuais do ambiente também modulam a forma como os peixes percebem e respondem às condições ao seu redor (McLean, 2021).

Os efeitos da coloração ambiental podem ser investigados por diferentes abordagens experimentais, incluindo a utilização de luzes monocromáticas, tanques com paredes e fundos coloridos (*background color*) ou a oferta de estruturas coloridas dentro do ambiente (Volpato & Barreto, 2001; Maia & Volpato, 2017; Bentsen, 2021). Independentemente da metodologia empregada, diversos estudos demonstram que os peixes são capazes de discriminar cores e utilizar informações visuais para orientar comportamentos relacionados à alimentação, busca por abrigo, reconhecimento social e avaliação de riscos ambientais (Maia & Volpato, 2017; Li *et al.*, 2022).

A influência das cores sobre o bem-estar animal tem sido observada em diversas espécies de peixes. Em jundiás (*Rhamdia quelen*), por exemplo, a coloração do tanque alterou indicadores fisiológicos de estresse, demonstrando que características visuais do ambiente podem interferir diretamente na resposta dos animais a desafios ambientais (Barcellos *et al.*, 2009). Resultados semelhantes também foram observados em peixes-palhaço (*Amphiprion frenatus*), nos quais a cor do tanque influenciou tanto a resposta ao estresse quanto processos relacionados ao desenvolvimento durante a metamorfose (dos Santos *et al.*, 2023a; dos Santos *et al.*, 2023b).

Na tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), os efeitos da coloração ambiental têm recebido especial atenção devido à relevância econômica da espécie para a aquicultura mundial (Valenti *et al.*, 2021; Naylor *et al.*, 2021). Estudos pioneiros demonstraram que a exposição à luz azul reduz a magnitude da resposta fisiológica ao estresse, evidenciada por menores concentrações plasmáticas de cortisol quando comparada a outras condições luminosas (Volpato & Barreto, 2001). De forma semelhante, Maia e Volpato (2013)

observaram que a iluminação azul reduz alterações respiratórias associadas a eventos estressantes, reforçando a hipótese de que essa coloração possui efeitos atenuantes sobre a resposta ao estresse.

Por outro lado, a cor vermelha frequentemente tem sido associada a efeitos menos favoráveis ao bem-estar da espécie. Tilápias juvenis demonstram evitar abrigos vermelhos quando podem escolher entre diferentes opções de refúgio (Maia *et al.*, 2020), sugerindo uma possível aversão a essa coloração. Além disso, ambientes vermelhos foram associados ao aumento da agressividade, alterações histológicas em tecidos nervosos, redução da atividade imunológica e pior desempenho zootécnico (Luchiari & Freire, 2009; Elkadom *et al.*, 2023). Em um estudo recente utilizando monitoramento contínuo de glicose plasmática, Liu *et al.* (2024) observaram respostas metabólicas mais intensas sob iluminação vermelha quando comparadas à iluminação azul, corroborando a hipótese de que a cor vermelha potencializa respostas relacionadas ao estresse.

Os efeitos das cores não se restringem às respostas fisiológicas. Diversos estudos demonstram que características visuais do ambiente podem influenciar diretamente comportamentos associados à sobrevivência e ao sucesso adaptativo. A alimentação, por exemplo, pode ser modulada pela coloração do ambiente, uma vez que alterações na percepção visual afetam tanto a detecção quanto a motivação para consumir alimento (Volpato *et al.*, 2013). De maneira semelhante, a agressividade e as interações sociais podem ser influenciadas pelas condições visuais às quais os animais estão expostos (Elkadom *et al.*, 2023). Considerando que alimentação eficiente e controle da agressividade são elementos importantes para o desempenho produtivo e o bem-estar dos peixes, compreender a influência das cores sobre esses comportamentos possui grande relevância prática para a aquicultura.

Além disso, a coloração ambiental pode afetar processos biológicos de longo prazo. Em tilápias-do-Nilo, a cor azul foi associada a melhorias no desempenho reprodutivo (Volpato *et al.*, 2004), enquanto ambientes vermelhos estiveram relacionados a prejuízos no crescimento (Luchiari & Freire, 2009). Esses resultados sugerem que as cores não atuam apenas sobre respostas imediatas ao ambiente, mas podem influenciar processos fisiológicos complexos que afetam diretamente a aptidão biológica dos indivíduos.

Apesar do crescente número de estudos demonstrando efeitos da coloração ambiental sobre parâmetros comportamentais, fisiológicos e produtivos, ainda permanece pouco compreendido se a exposição prévia a determinadas cores pode influenciar a capacidade dos peixes de lidar com desafios ambientais subsequentes. Essa lacuna é particularmente relevante na aquicultura, onde os animais são frequentemente submetidos a manejos que envolvem captura, transporte e transferência para ambientes desconhecidos, situações reconhecidamente estressantes (Fürtbauer & Heistermann, 2016; Kleinhappel *et al.*, 2019).

Nesse contexto, torna-se plausível supor que a exposição prévia a ambientes visualmente distintos possa alterar o estado fisiológico dos peixes e, consequentemente, sua capacidade de adaptação a novos ambientes. Caso essa hipótese seja confirmada, a manipulação da cor de fundo dos tanques de estoque poderia representar uma estratégia simples, de baixo custo e facilmente aplicável para melhorar o bem-estar animal e reduzir os impactos negativos dos manejos rotineiros na produção aquícola. Portanto, investigar a relação entre a coloração do ambiente de origem e a capacidade de ajuste da tilápia-do-Nilo diante de um novo ambiente representa uma importante contribuição para a compreensão dos efeitos das cores sobre a biologia dos peixes e suas potenciais aplicações no manejo aquícola.

CAPÍTULO 2

1. Introdução

Dentro da gama de procedimentos que os peixes em cativeiro são submetidos, a introdução em um ambiente novo é reconhecida como algo potencialmente estressante (Fürtbauer & Heistermann, 2016; Kleinhappel *et al.*, 2019). Analisando isso em uma perspectiva plausível do animal, um novo ambiente constitui possivelmente uma mudança imprevisível, mesmo que o animal tenha sido alterado para uma condição ambiental melhor (Fürtbauer e Heistermann, 2016; Kleinhappel *et al.*, 2019). Assim, estudar medidas que resultem na diminuição de efeitos adversos da introdução de peixes em um novo ambiente é uma forma de facilitar a aclimação e a manutenção da homeostase desses animais em ambientes de cultivo.

Para facilitar o ajuste do animal a um ambiente novo, podemos pensar em duas perspectivas pelo menos. Primeiramente, pode-se imaginar alterações no ambiente novo, aquele que o animal será introduzido e não é familiarizado com ele e, nesse sentido, realizar procedimentos, prover estruturas ou qualquer outra medida que melhore a ajustabilidade dos animais ao ambiente novo. Em outras palavras, pode-se, por exemplo, prover enriquecimentos ambientais que atendam a premissa essencial para serem considerado como tal, ou seja, ser medidas/manejos que promovem ajuste ao ambiente e melhorem o bem-estar do animal (Newberry, 1995). Nessa linha, identificar fatores que impactam positiva ou negativamente os peixes em cativeiro a serem transferidos para um novo ambiente contribuem para o entendimento do que leva a melhorias do bem-estar de peixes. Um exemplo disso foi prover um ambiente novo com enriquecimento hidrodinâmico (maior circulação de água) que facilitou com que tilápias ajustassem sua taxa respiratória ao tal novo ambiente, evitando hiperventilação (Roza-e-Silva *et al.*, 2020), que é uma resposta de estresse (Barreto & Volpato, 2004) e que levaria a gasto energético desnecessário (Fernandes & Rantin, 1994).

Além dessa possibilidade acima, ao invés de se pensar no ambiente novo e no que ele pode ser modificado para receber os animais, podemos pensar no ambiente de origem do animal, o qual pode ser configurado para tornar o animal mais apto para lidar com um novo ambiente, visto que pode não ser possível mudar o ambiente novo. Essa ideia de manter o animal em um ambiente que possa torná-lo mais resiliente ao ser introduzido em um ambiente novo é a ideia norteadora deste projeto.

Uma série de variáveis ambientais afetam a vida dos peixes. Uma variável que vem sendo estudada, mas ainda de modo menos incisivo (perto de outras variáveis como: o pH ou a temperatura) é a coloração do ambiente. Nos experimentos que avaliam efeitos da cor do ambiente em variáveis da biologia dos peixes, pelo menos três possibilidades vêm sendo consideradas para elucidar esses efeitos da cor. Primeiramente, e a mais comum das possibilidades, os peixes podem ser expostos a ambientes com luzes monocromáticas (Volpato & Barreto, 2001; Volpato *et al.*, 2004; Luchiari & Freire, 2009; Maia & Volpato, 2013; Volpato *et al.*, 2013; Elkadom *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024). Os animais podem também ser expostos a tanques (ou outros recipientes) com as paredes e o fundo monocromáticos ('background color') (Barcellos *et al.*, 2009; Maia & Volpato, 2017; Maia *et al.*, 2017; McLean, 2021; Li *et al.*, 2022; dos Santos *et al.*, 2023a,b). Por fim, os animais podem ser expostos apenas a objetos de cores diferentes, como, por exemplo, tocas (Maia *et al.*, 2020; Bentsen 2021).

Neste estudo, para avaliar os efeitos das cores do ambiente dentro do contexto a ser apresentado abaixo, optou-se por escolher a tilápia-do-Nilo como modelo experimental pois esse peixe é um dos mais importantes na aquicultura tanto no Brasil (Valenti *et al.*, 2021) quanto no mundo (Naylor *et al.*, 2021), com uma produção em constante crescimento trazendo desenvolvimento econômico pelos estados e países que a cultivam (Portinho *et al.*, 2021; Valenti *et al.*, 2021; Naylor *et al.*, 2021). Primeiramente, será analisado como a cor afeta a alimentação, visto

que ingerir alimento é algo obviamente adaptativo. Ainda, será observado o comportamento agressivo do animal, uma vez que é uma espécie com certo grau dessa atividade e é esperado a manifestação desse comportamento.

Independentemente do modo de exposição à cor, considerando a tilápia-do-Nilo como nosso modelo, pelo motivo anteriormente explicado, há alguns estudos que mostram efeitos das cores em variáveis associadas a seu bem-estar, crescimento, reprodução. Dadas as evidências encontradas e descritas abaixo, foram elegidas as cores azul e vermelha para o presente estudo.

Considerando os efeitos da cor vermelha na tilápia, independentemente da via de exposição (luz ou cor de fundo), temos que a tilápia, que é um animal que possui o hábito de usar tocas, evita tocas de cor vermelha (Maia *et al.*, 2020). A cor vermelha aumenta sua agressividade (Elkadam *et al.*, 2023) e possui efeitos desfavoráveis quanto ao crescimento (Luchiari & Freire, 2009) e à ingestão alimentar (Volpato *et al.*, 2013). Esta cor afeta ainda processos fisiológicos como diminuir a atividade imunológica e causa degeneração neuronal (Elkadam *et al.*, 2023). Em relação à resposta de estresse, uma magnitude de resposta maior foi achada em relação à luz vermelha, ao se medir a glicose plasmática, em comparação à cor azul (Liu *et al.*, 2024), indicando a ideia de existir algum efeito protetivo da cor azul na tilápia-do-Nilo em relação ao estresse. De modo geral, a cor vermelha tende a impactar negativamente o bem-estar da tilápia. Nessa linha, de fato, temos que a cor azul diminui a magnitude de respostas a estressores, medindo-se indicadores de estresse em específico: como o cortisol plasmático (Volpato & Barreto, 2001) e a taxa respiratória (Maia & Volpato, 2013). A cor azul ainda tem um efeito facilitador da reprodução em tilápias-do-Nilo (Volpato *et al.*, 2004) havendo a tendência de gerar efeitos positivos.

Com isso, formulou-se a hipótese em que, assim que as tilápias fossem retiradas do meio monocromático azul, apresentariam maior facilidade em se ajustar em um ambiente novo e evitaria uma queda em seu desenvolvimento ao retornar com mais velocidade a suas atividades consideradas normais. Enquanto para o meio vermelho, apresentaria uma recuperação demorada.

2. Objetivos

Com base em estudos anteriores, avaliaremos o efeito da cor de fundo dos tanques de estoque sobre respostas fisiológicas e comportamentais de tilápias-do-Nilo após sua introdução em um ambiente novo. Para isso, serão analisados o comportamento alimentar, o comportamento agressivo e indicadores fisiológicos de estresse.

A alimentação será utilizada como um indicativo da capacidade de adaptação dos animais, uma vez que a redução do consumo pode refletir dificuldade de ajuste ao novo ambiente. Da mesma forma, embora a tilápia apresente naturalmente comportamento agressivo, aumentos excessivos na agressividade serão considerados indesejáveis.

Em um segundo experimento, serão avaliadas variáveis fisiológicas relacionadas ao estresse em peixes oriundos de ambientes com diferentes cores de fundo monocromáticas. Com esses resultados, pretende-se verificar se a manipulação da cor de fundo pode ser utilizada como ferramenta para facilitar a adaptação das tilápias a novos ambientes, contribuindo para a melhoria do seu bem-estar.

3. Materiais e métodos

Este estudo esteve de acordo com a legislação brasileira regulamentada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com os Princípios Éticos em Pesquisa Animal formulados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de

Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu - SP (protocolo nº 000.208/2024).

Foram utilizados alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus* L.) da linhagem GIFT, pesando aproximadamente 40g, medindo aproximadamente 10,50cm, todos machos, obtidos por reversão sexual. Os animais foram mantidos em um tanque de alvenaria indoor com capacidade de 1000 L, o qual abrigava a população de estoque. A temperatura da água foi controlada entre 26 e 27 °C, com aeração contínua, filtragem mecânico-biológica e fluxo constante de água desclorada, mantendo baixos níveis de amônia e nitrato. O pH foi mantido entre 7,0 e 7,5, e o fotoperíodo controlado em 12 horas de luz (das 6h às 18h) e 12 horas de escuro. A alimentação foi realizada diariamente até a saciedade.

O experimento foi conduzido em duas etapas independentes, cada uma com 15 animais por bateria para obtermos 5 animais por cor (n = 10 por cor). Foram utilizados 15 aquários de 27 L, com suas quatro laterais revestidas com papel contact nas cores azul, vermelha e branca, cobrindo-as completamente para abrigar cada indivíduo. Cada aquário foi preenchido com água desclorificada, foi equipado com um sistema de aeração com pedra porosa anexado a um compressor por mangueira plástica de silicone e um filtro mecânico-biológico. Os aquários eram sempre limpos retirando-se as fezes dos animais, para evitar acúmulo de matéria orgânica e resíduos de amônia tóxica eram quimicamente removidos pelo uso de aditivo (AmGuard®).

Conforme a Figura 01 abaixo, no Experimento 01, após os sete dias de exposição ao ambiente monocromático, os peixes foram transferidos para aquários neutros (completamente exposto ao ambiente do laboratório), sem influência de uma cor específica. O novo ambiente apresentava as mesmas condições físico-químicas ditas acima. Imediatamente após a transferência, foram realizados os seguintes testes comportamentais: latência alimentar, quantificação da ingestão alimentar, atividade locomotora, latência de ataque e número de ataques ao espelho.

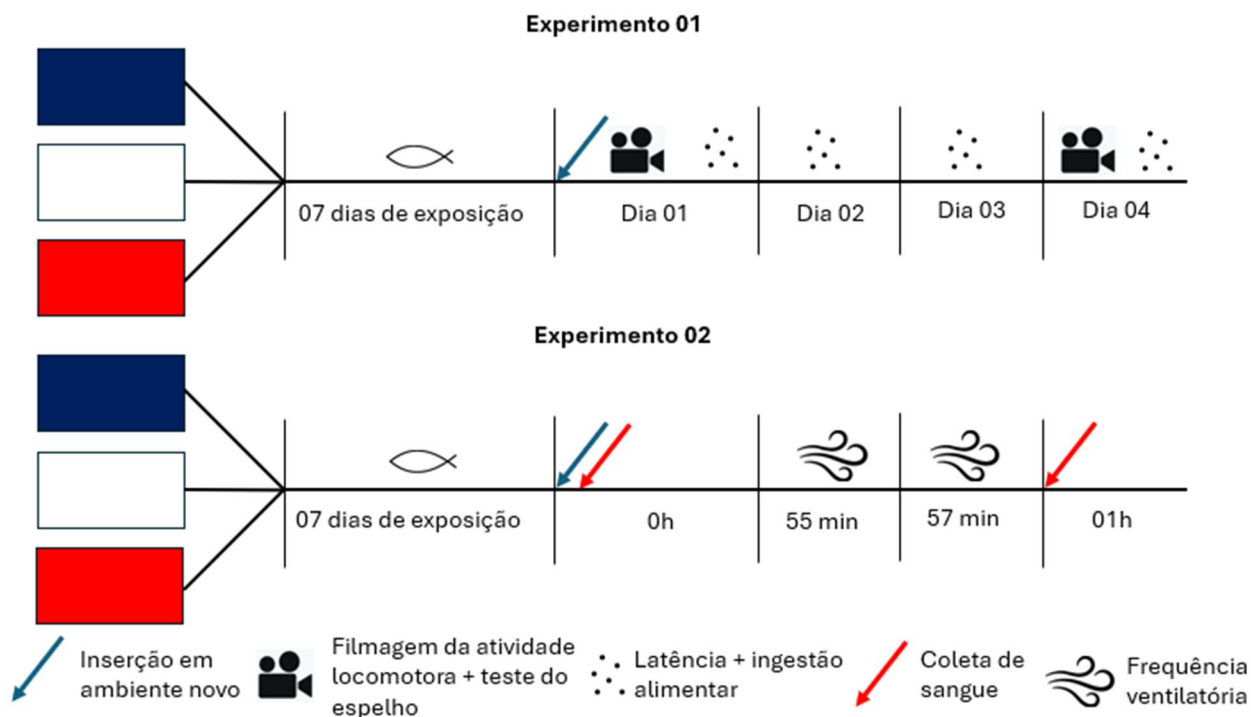


Figura 01. Esquema dos delineamentos experimentais dos experimentos 01 e 02.

Os testes foram conduzidos ao longo de quatro dias consecutivos. No primeiro dia, cada peixe recebeu 100 pellets de ração, sendo cronometrado o tempo necessário para demonstrar interesse pelo alimento, sendo a latência alimentar. Após cinco minutos, o alimento remanescente era retirado e quantificado. Cerca de uma hora após, eram realizadas as filmagens para avaliar a atividade locomotora que mensura a velocidade média, velocidade máxima, distância total percorrida no aquário, tempo parado total no aquário, tempo parado total, o número de voltas e número de voltas por minuto. Após cinco minutos de filmagem, introduzia-se um espelho em cada aquário para registrar o tempo até o primeiro ataque no momento em que o peixe toca o espelho e o número total de ataques durante dez minutos. Em seguida, o espelho era removido e a gravação encerrada.

Nos dias subsequentes (2º e 3º dias), apenas os testes de latência e ingestão alimentar foram repetidos. No quarto dia, todo o protocolo do primeiro dia foi replicado, e os animais foram posteriormente removidos dos aquários de experimentos e devolvidos para um tanque separado na mesma sala em que a população de estoque estava sendo abrigada.

No Experimento 02, após o período de exposição ao ambiente monocromático de sete dias, foram quantificados a frequência ventilatória e o cortisol plasmático. As coletas ocorreram nos tempos 0h, imediatamente após a remoção dos aquários monocromáticos, e 1h após a introdução e permanência em ambiente neutro.

Para as coletas sanguíneas, as seringas foram previamente heparinizadas para evitar a coagulação. O sangue foi centrifugado a 10000 rpm por 5 min para separação do plasma, o qual foi armazenado congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior análise.

Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) mista, tendo as cores como variável independente e o tempo como medida repetida, quando houve mais do que uma medida nos mesmos indivíduos configurando dependência amostral. ANOVA de um fator foi usada para comparar as variáveis respostas entre as cores. No caso do cortisol, embora houve avaliação em diferentes momentos, este hormônio foi avaliado em indivíduos diferentes, configurando independência amostral, nesse caso ANOVA de dois fatores foi empregada, tendo as cores e o tempo como variáveis independentes. Se necessário as ANOVAs foram complementadas por teste de Newman-Keuls. Diferenças estatísticas foram consideradas quando $P < 0,05$.

4. Resultados

4.1. Comportamento alimentar

A análise da ANOVA referente a latência para ingerir alimentos (Figura 2A), não detectou efeito da cor, nem interação entre as cores e o tempo necessário para que as tilápias iniciassem o consumo do alimento. Observamos, entretanto, redução progressiva no tempo de resposta ao longo dos dias.

Em relação à ingestão alimentar (Figura 2B), a quantidade de alimento ingerido não foi afetada pelas cores de fundo dos aquários. No entanto, verificou-se o aumento gradual no consumo ao longo dos dias, mas sem interferência das cores de fundo.

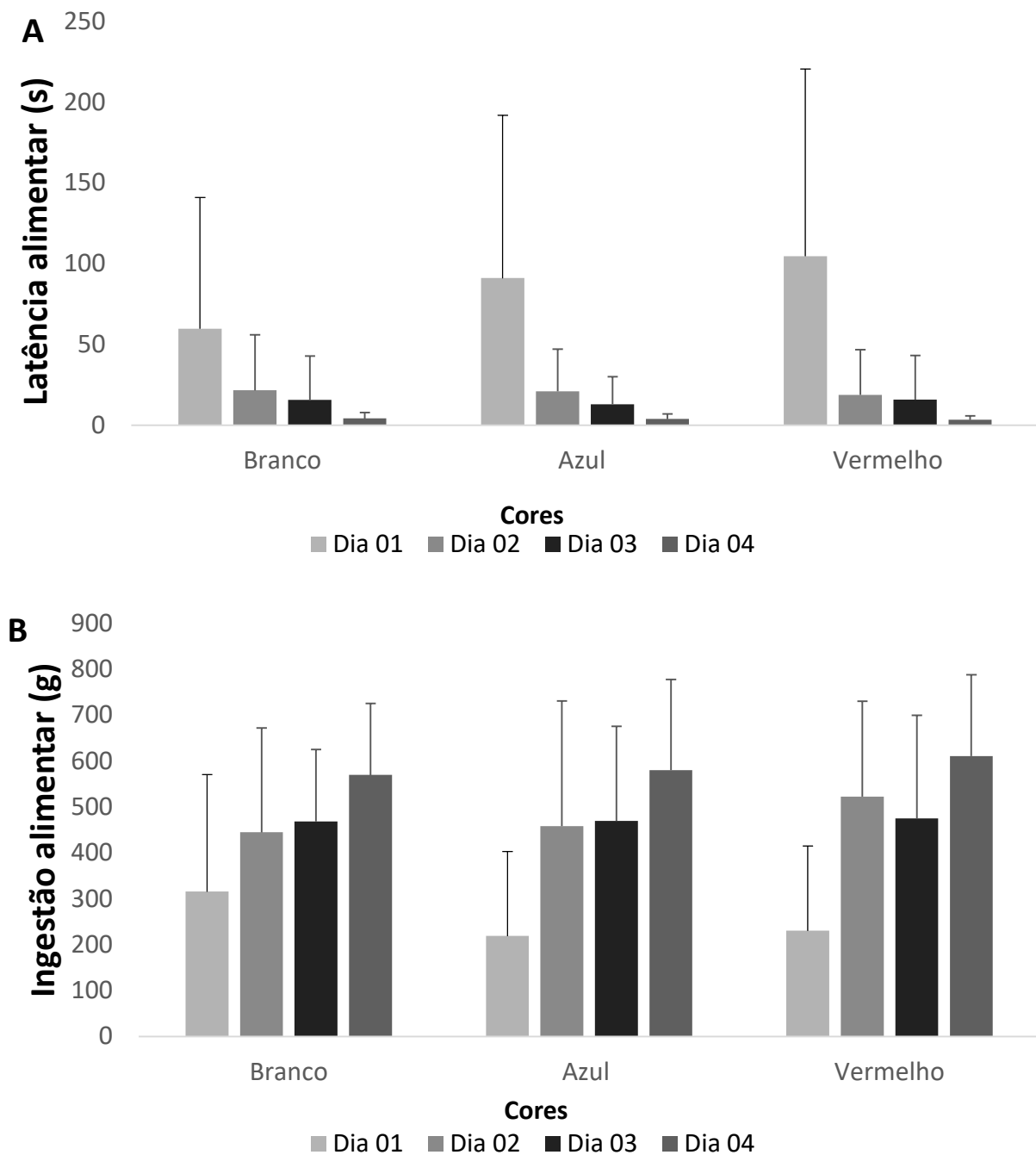
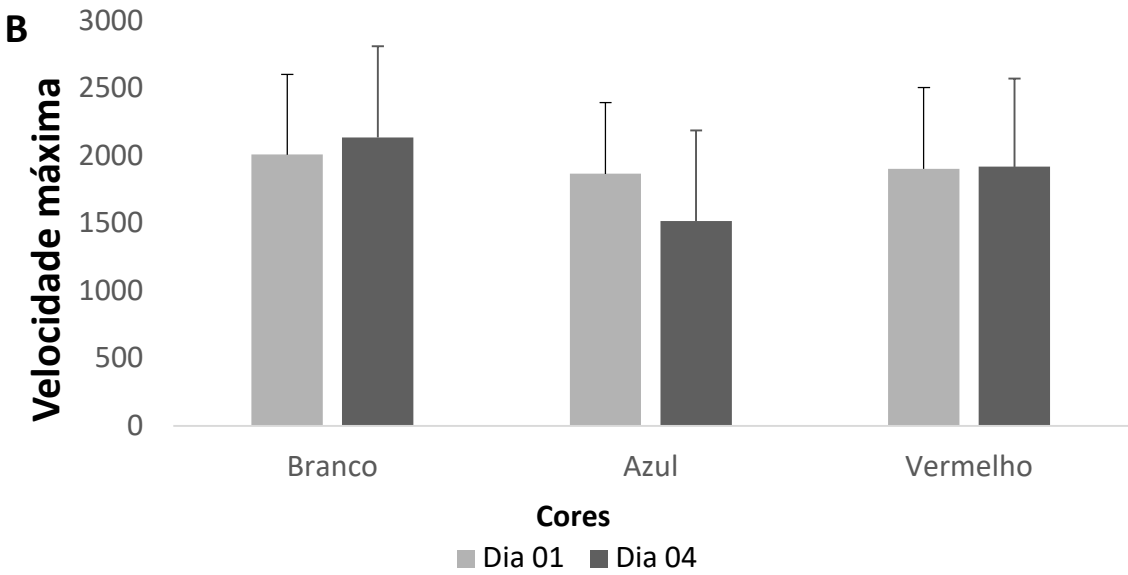
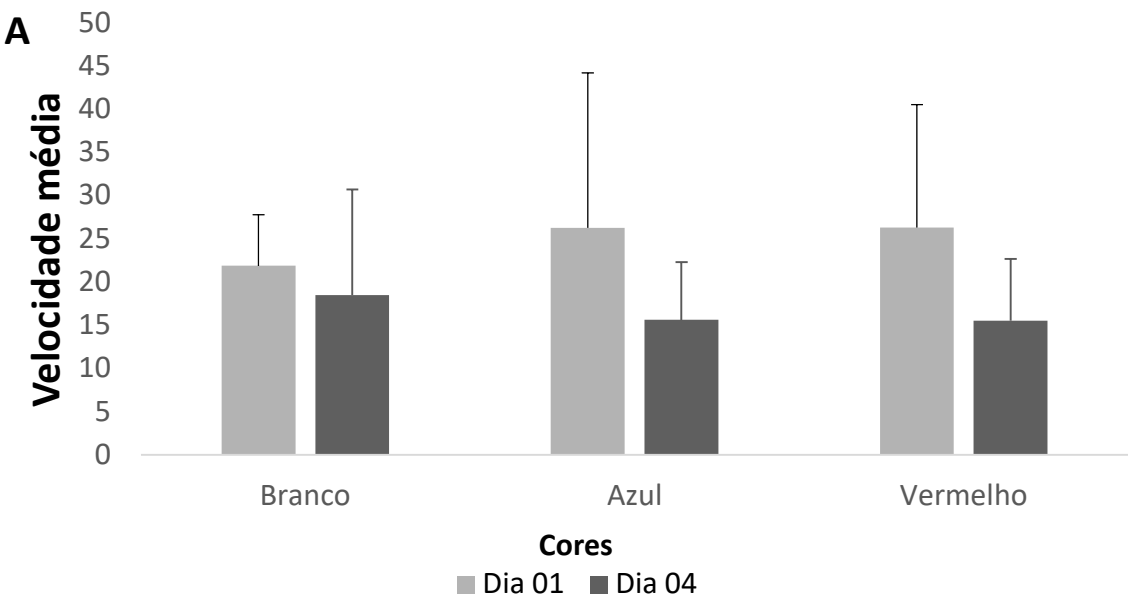
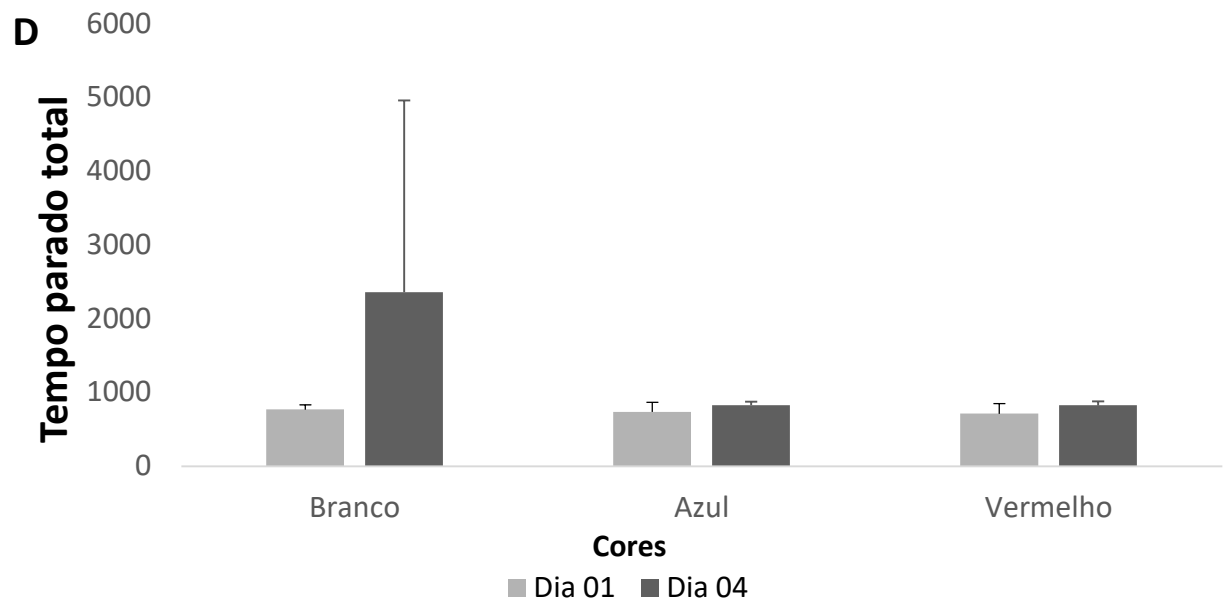
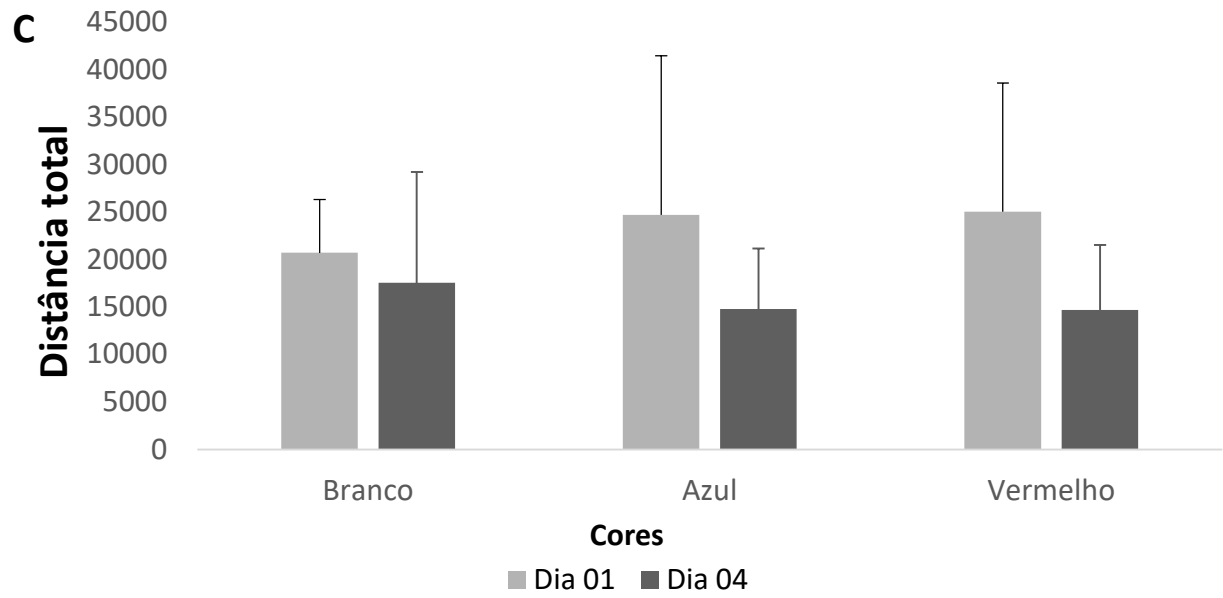


Figura 02. Efeito da cor de fundo no comportamento alimentar ao longo do tempo na tilápia-do-Nilo. A ANOVA de medidas repetidas não mostrou efeito da cor na latência alimentar (A) ($F = 0,38$; $P = 0,69$ ou interação entre a cor e o tempo ($F = 0,82$; $P = 0,56$), mas a latência diminuiu ao longo do tempo independentemente da cor ($F = 23,99$; $P < 0,001$). Em relação à ingestão alimentar (B) observamos um perfil semelhante, ou seja, ausência tanto dos efeitos da cor ($F = 0,13$; $P = 0,88$), quanto interação da cor com o tempo ($F = 0,80$; $P = 0,58$), mas houve aumento significativo ao longo do tempo, independentemente da cor ($F = 33,52$; $P < 0,001$).

4.2. Atividade locomotora

Quanto à avaliação da atividade locomotora (Figura 3A-F), não houve efeito significativo da coloração dos aquários, nem do momento, além de não haver interação entre cor e momento.





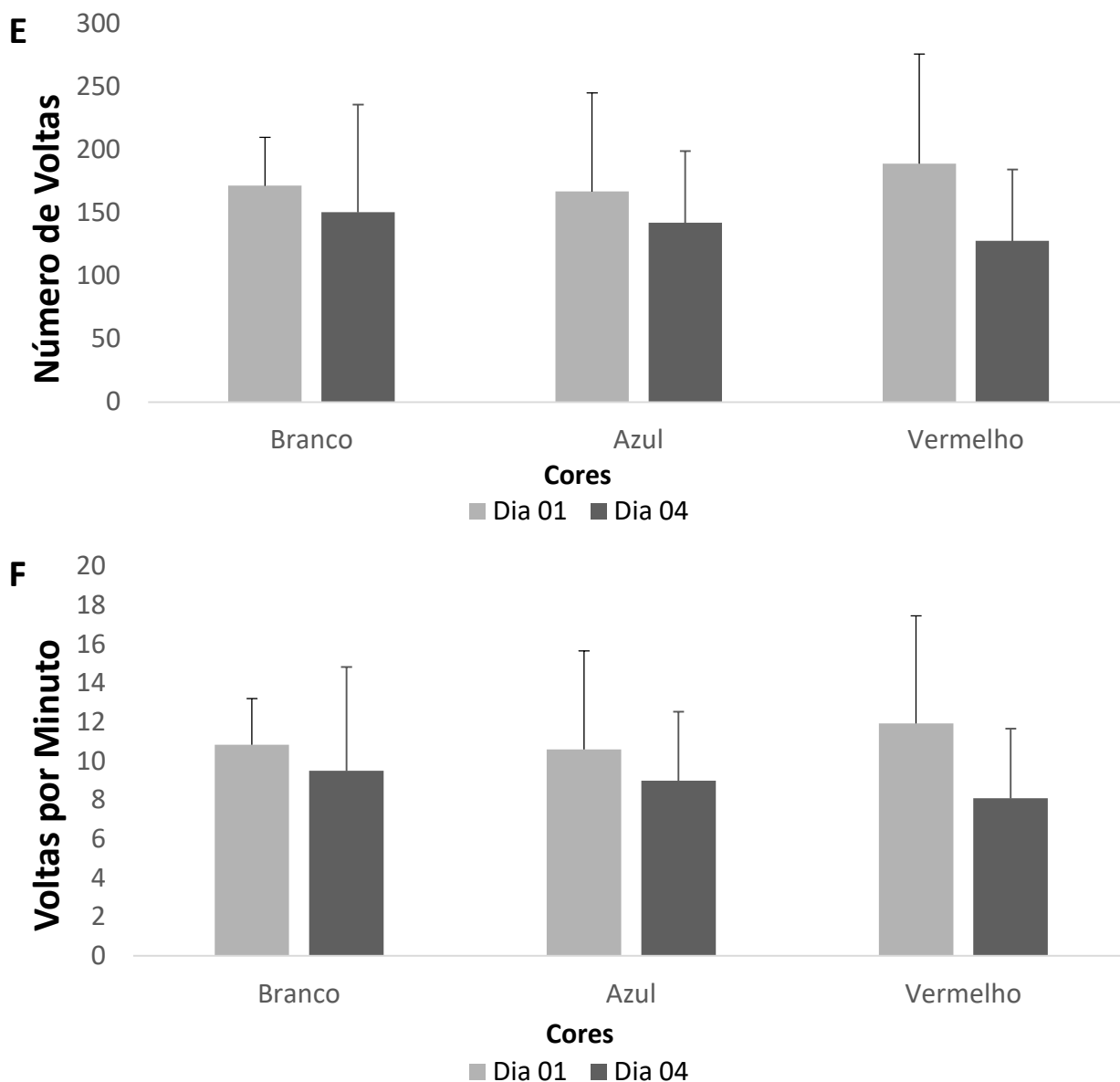


Figura 03. Efeito da cor de fundo na atividade locomotora da tilápia-do-Nilo. A ANOVA de medidas repetidas não mostrou efeitos da cor, do momento (1º dia – filmagem 1 e 4º dia filmagem 2) e interação entre eles para todas as variáveis quantificadas: velocidade média (A), velocidade máxima (B), distância total (C), tempo parado total (D), número de voltas (E) e voltas por minuto (F). (A: cor – $F=0,0033$; $P=0,9967$; tempo – $F=11,1953$; $P=0,0022$; interação – $F=0,9093$; $P=0,4139$); (B: cor – $F=2,1140$; $P=0,1389$; tempo – $F=0,1150$; $P=0,7369$; interação – $F=0,7421$; $P=0,4849$); (C: cor – $F=0,0057$; $P=0,9943$; tempo – $F=11,5328$; $P=0,0020$; interação – $F=0,9617$; $P=0,3941$); (D: cor – $F=0,5220$; $P=0,5987$; tempo – $F=11,2149$; $P=0,0022$; interação – $F=0,7464$; $P=0,4829$); (E: cor – $F=0,1531$; $P=0,8586$; tempo – $F=6,8561$; $P=0,0138$; interação – $F=1,0790$; $P=0,3531$); (F: cor – $F=0,1459$; $P=0,8648$; tempo – $F=6,5454$; $P=0,0160$; interação – $F=0,9832$; $P=0,3862$).

4.3. Comportamento agressivo

A latência (Figura 4A) para atacar o espelho não diferiu entre as condições experimentais, não havendo interação entre as cores e o tempo necessário para o início dos ataques direcionados ao espelho. Notou-se,

entretanto, menor tempo de resposta na primeira filmagem em comparação à segunda, o que pode indicar efeito de habituação ao estímulo. Quanto a quantidade de ataques registrados (Figura 4B), não houve diferença significativa entre as diferentes cores testadas. Contudo, observou-se aumento na quantidade após quatro dias de exposição, evidenciando possível adaptação comportamental ao ambiente.

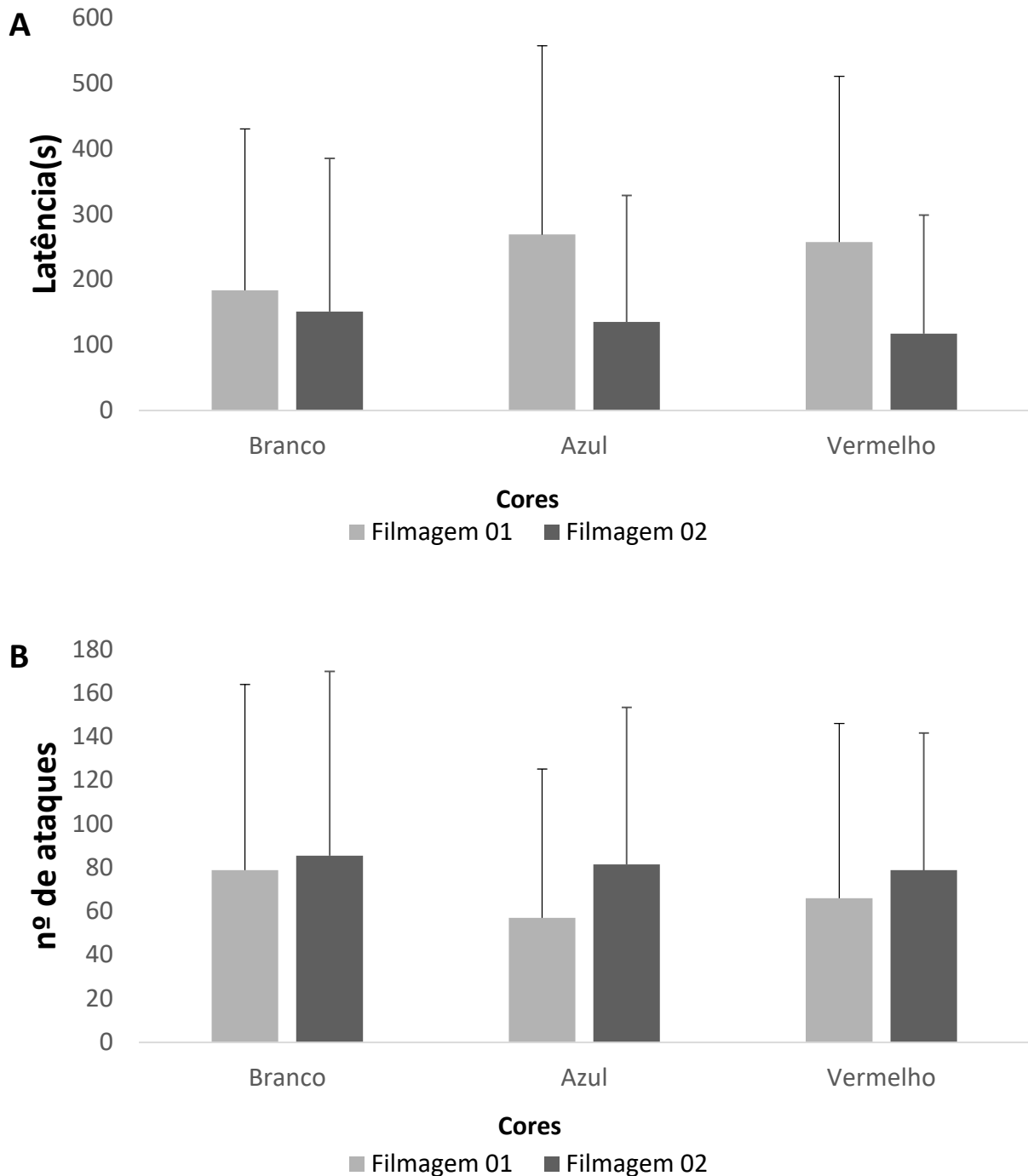


Figura 04. Efeito da cor de fundo no comportamento agressivo da tilápia-do-Nilo. A análise de variância (ANOVA) não demonstrou efeito significativo da cor, do tempo, nem da interação entre cor e tempo para as variáveis analisadas. A latência de ataque (A) não foi influenciada de forma significativa pela cor ($F=0,0875$; $P=0,9164$), pelo tempo ($F=0,4302$; $P=0,6547$) ou pela interação entre esses fatores ($F=0,4302$; $P=0,6547$). Da

mesma forma, a quantidade de ataques deferidos no espelho (B) não sofreu efeito da cor ($F=0,0915$; $P=0,9127$), do tempo ($F=2,0387$; $P=0,1648$) ou da interação cor-tempo ($F=0,2622$; $P=0,7712$).

4.4. Frequência ventilatória

A frequência ventilatória (Figura 5) não apresentou relação significativa com a coloração dos aquários. Os valores médios permaneceram próximos entre os grupos experimentais. O principal fator de variação, possivelmente, foi a troca de ambiente, que pode ter provocado agitação momentânea nos animais.

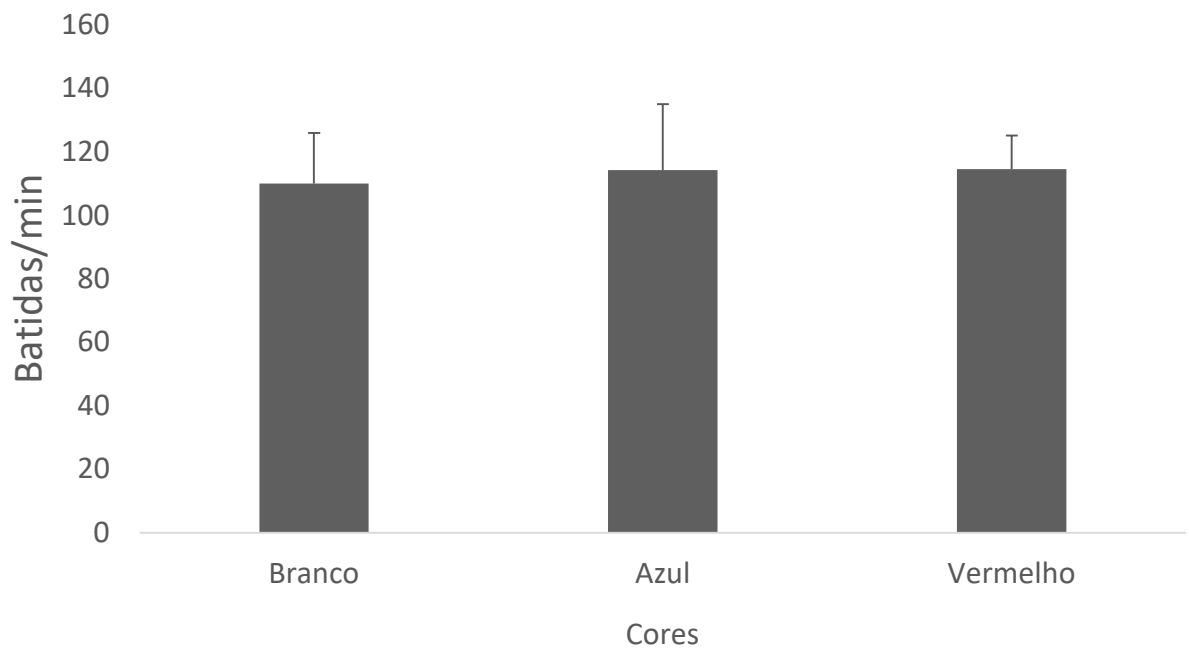


Figura 05. Frequência ventilatória da tilápia-do-Nilo inserida em ambiente novo após exposição às cores de fundo. Não houve efeito das cores. ($F=0,3074$; $P=0,7378$; ANOVA de 1 fator) .

4.5. Cortisol plasmático

Por fim, a análise das concentrações de cortisol plasmático (Figura 6) não demonstrou diferenças significativas entre as cores e os tempos experimentais. Contudo, observou-se aumento nos níveis de cortisol após uma hora de transferência para o novo ambiente independentemente da cor da cor de origem do animal.

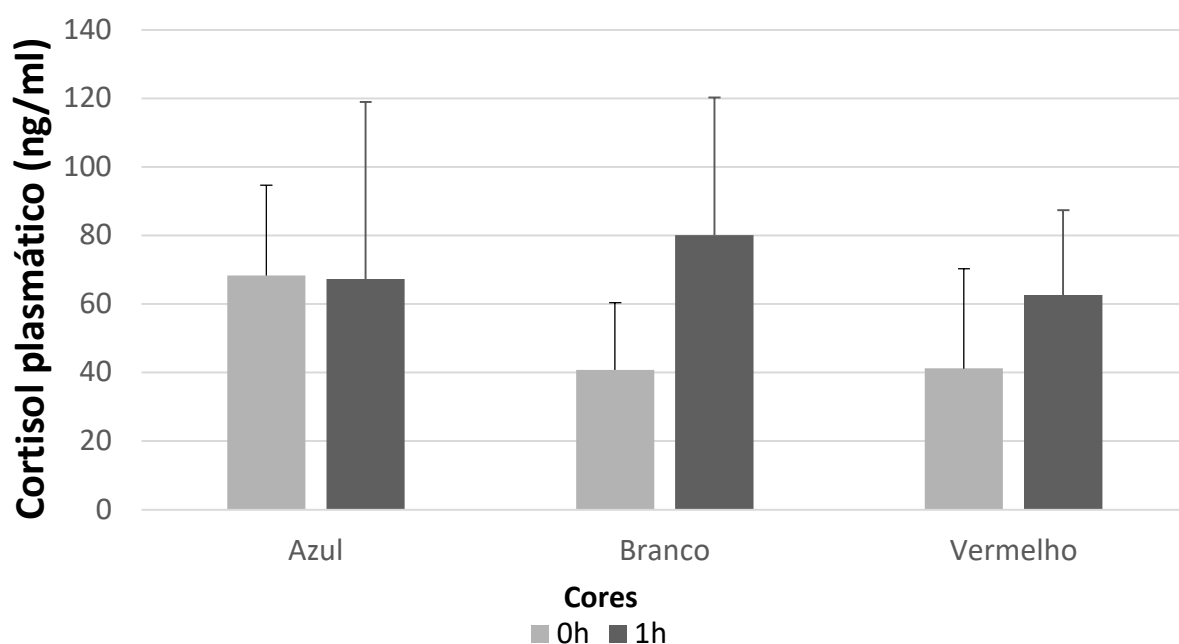


Figura 06. Efeito da cor de fundo nos níveis de cortisol plasmático ao longo do tempo. -A ANOVA de 2 fatores indicou que não houve alterações relacionadas às cores em relação a esta variável ($F = 1,06$; $P = 0,35$), não houve interação entre cor e momento ($F = 1,71$; $P = 0,19$), mas houve diferença entre os momentos (0h x 1h), a qual indica aumento do cortisol após 1h da introdução no ambiente novo, independentemente do ambiente colorido que o animal estava ($F = 4,94$; $P = 0,031$)

5. Discussão

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que a cor de fundo do ambiente de estoque azul, vermelha ou branca não exerceu influência significativa sobre as variáveis fisiológicas e comportamentais avaliadas nas tilápias-do-Nilo após a introdução em um novo ambiente. As respostas observadas estiveram predominantemente relacionadas ao efeito do tempo, sugerindo um possível processo de adaptação gradual dos animais às condições experimentais.

A ausência de diferenças entre as cores testadas contrasta com diversos estudos prévios que demonstraram efeitos moduladores da coloração ambiental sobre o comportamento, fisiologia e desempenho da tilápia. Por exemplo, Volpato & Barreto (2001) e Maia & Volpato (2013) observaram que a luz azul ou o fundo azul reduzem a magnitude das respostas de estresse, como elevação do cortisol plasmático e aumento da taxa respiratória, enquanto a cor vermelha tende a intensificar tais respostas (Volpato *et al.*, 2013; Elkadom *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024). No presente estudo, contudo, essas diferenças não foram detectadas, sugerindo que os efeitos da coloração de fundo podem depender fortemente do tipo de desafio imposto aos animais (introdução a um ambiente novo após permanecer no ambiente monocromático).

Uma possível explicação para a ausência de diferenças entre as cores é que o período de exposição de sete dias tenha sido suficiente para garantir uma aclimação adequada dos peixes, promovendo um estado de estabilidade fisiológica, mesmo em diferentes ambientes monocromáticos, capaz de reduzir contrastes entre os tratamentos. Diferentemente de estudos com exposições mais prolongadas (Luchiari & Freire, 2009; Maia & Volpato, 2017), o presente trabalho demonstra que, mesmo em um intervalo relativamente curto, a tilápia-do-Nilo é

capaz de ajustar-se rapidamente às condições ambientais, mantendo suas respostas fisiológicas e comportamentais estáveis diante de um desafio subsequente (introdução em ambiente novo). Esses achados reforçam a resiliência e capacidade adaptativa da espécie, aspectos relevantes para o manejo em sistemas de cultivo onde variações ambientais podem ocorrer em períodos igualmente curtos.

Outra hipótese é que o evento de transferência para o novo ambiente tenha constituído um estressor de magnitude superior à possível influência prévia da coloração de fundo, que por sua vez não consegue mitigar efeitos negativos de se introduzir um animal em ambiente novo. Nesse sentido, a influência prévia da coloração de fundo não exacerbou as respostas de estresse ao se colocar em ambiente novo. Barreto & Volpato (2004) e Roza-e-Silva *et al.* (2020) destacam que a introdução em ambiente novo provoca respostas fisiológicas generalizadas, como hiperventilação e elevação de hormônios de estresse, não observado aqui.

Do ponto de vista comportamental, a redução da latência alimentar e o aumento progressivo da ingestão ao longo dos dias indicam habituação ao novo ambiente e restauração gradual da motivação alimentar, fenômeno já descrito em tilápias submetidas a situações de estresse agudo (da Silva *et al.*, 2021). A redução da atividade locomotora e a diminuição do tempo de latência ao ataque em avaliações subsequentes reforçam a ideia de ajuste comportamental progressivo, compatível com a superação de um estado inicial de alerta.

Dessa forma, os resultados sugerem que a capacidade adaptativa da tilápia-do-Nilo é suficientemente robusta para minimizar diferenças comportamentais e fisiológicas atribuíveis à cor de fundo do ambiente de estoque, ao menos nas condições aqui estabelecidas. Tal plasticidade pode representar uma vantagem adaptativa da espécie em ambientes de cultivo, onde variações ambientais são frequentes.

Ainda assim, é importante considerar que efeitos da coloração podem emergir em outros contextos, especialmente em situações de exposição crônica, em densidades populacionais maiores ou quando associadas a outros fatores de estresse. Investigações futuras poderiam, portanto, explorar interações entre cor de fundo, tempo de exposição e intensidade do desafio ambiental, bem como avaliar outros indicadores estresse/bem-estar, como imunocompetência e parâmetros oxidativos, para melhor compreender os mecanismos subjacentes às respostas observadas.

Em síntese, os achados deste trabalho indicam que a cor de fundo do ambiente de estoque, nas condições avaliadas, não influencia significativamente o ajuste fisiológico e comportamental da tilápia-do-Nilo após introdução em ambiente novo, sendo o tempo de exposição e o processo de adaptação os principais determinantes das variações detectadas.

6. Referências

- Alvarenga, C. M. D., & Volpato, G. L. (1995). Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiology & Behavior*, 57(1), 75-80.
- Barreto, R. E., & Volpato, G. L. (2004). Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*, 66(1), 43-51.
- Barcellos, L. J. G., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., da Rosa, J. G. S., Koakoski, G., Centenaro, L., & Pottker, E. (2009). Influence of color background and shelter availability on jundiá (*Rhamdia quelen*) stress response. *Aquaculture*, 288(1-2), 51-56.
- Bentsen, T. Color change and shelter color preference in lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). 2021 Student thesis: Master's Thesis
- Dos Santos, T. M. L., de Oliveira Sousa, E. M., Tsuzuki, M. Y., de Oliveira Nuñez, A. P., & Barcellos, L. J. G. (2023). Tank color influences the response of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus*) to an acute stress challenge. *Fish Physiology and Biochemistry*, 49(4), 577-584.
- dos Santos, T. M. L., Sousa, E. M. D. O., Tsuzuki, M. Y., Barcellos, L. J. G., & Nuñez, A. P. D. O. (2023). Tank color influence on the Tomato Clownfish *Amphiprion frenatus* metamorphosis. *North American Journal of Aquaculture*, 85(4), 407-414.
- Elkadam, E. M., Abd El-Kader, M. F., Bakr, B. A., Abozeid, A. M., & Mohamed, R. A. (2023). Impacts of various single and mixed colors of monochromatic LED light on growth, behavior, immune-physiological parameters, and liver and brain histology of Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture*, 577, 740007.
- Fernandes, M. N., & Rantin, F. T. (1994). Relationships between oxygen availability and metabolic cost of breathing in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): aquacultural consequences. *Aquaculture*, 127(4), 339-346.
- Freret-Meurer, N. V., Fernández do Carmo, T., & Cabiró, G. (2021). Opercular beat: A non-invasive and rapid method to detect stress in seahorses. *Journal of Applied Aquaculture*, 33(4), 291-299.
- Fürtbauer, I., & Heistermann, M. (2016). Cortisol coregulation in fish. *Scientific Reports*, 6(1), 30334.
- Gibson, A. K., & Mathis, A. (2006). Opercular beat rate for rainbow darters *Etheostoma caeruleum* exposed to chemical stimuli from conspecific and heterospecific fishes. *Journal of Fish Biology*, 69(1), 224-232.
- Kleinhappel, T. K., Pike, T. W., & Burman, O. H. (2019). Stress-induced changes in group behaviour. *Scientific Reports*, 9(1), 17200.

- Li, S., Liu, X., Lin, T., Zhang, D., & Zou, X. (2022). The consistent background color preference highlights the personality in the lined seahorse, *Hippocampus erectus*. *Frontiers in Marine Science*, 9, 939749.
- Liu, T., Wu, H., Murata, M., Matsumoto, H., Ohnuki, H., & Endo, H. (2024). Real-time glucose monitoring biosensor system assesses the effects of different environmental light colors on Nile tilapia stress response. *Fisheries Science*, 1-10.
- Luchiari, A. C., & Freire, F. A. M. (2009). Effects of environmental colour on growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), maintained individually or in groups. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(2), 162-167.
- Maia, C. M., & Volpato, G. L. (2013). Environmental light color affects the stress response of Nile tilapia. *Zoology*, 116(1), 64-66.
- Maia, C. M., & Volpato, G. L. (2017). Preference index supported by motivation tests in Nile tilapia. *PloS one*, 12(4), e0175821.
- Maia, C. M., Ferguson, B., Volpato, G. L., & Braithwaite, V. A. (2017). Physical and psychological motivation tests of individual preferences in rainbow trout. *Journal of Zoology*, 302(2), 108-118.
- Maia, C. M., Alves, N. P. C., & Tatemoto, P. (2021). Juvenile Nile tilapia fish avoid red shelters. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 24(1), 98-106.
- McLean, E. (2021). Fish tank color: An overview. *Aquaculture*, 530, 735750.
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Buschmann, A. H., Bush, S. R., Cao, L., Klinger, D. H., ... & Troell, M. (2021). A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851), 551-563.
- Portinho, J. L., Gomes, A. C. C., Koga-Vicente, A., Milani, F. C. C., Pentean, R. B., Manzatto, C. V., ... & Vicente, L. E. (2021). The pathways influence of agricultural expansion on water quality of fish farming in Ilha Solteira reservoir, São Paulo, Brazil. *Aquaculture*, 536, 736405.
- de Silva, M. L. R., Pereira, R. T., Arvigo, A. L., Zanuzzo, F. S., & Barreto, R. E. (2020). Effects of water flow on ventilation rate and plasma cortisol in Nile tilapia introduced into novel environment. *Aquaculture Reports*, 18, 100531.
- Samson, E., Brownscombe, J. W., & Cooke, S. J. (2014). Behavioural and reflex responses of mottled mojarra *Eucinostomus lefroyi* (Gerreidae) to cold shock exposure. *Aquatic Biology*, 23(1), 101-108.
- da Silva, D. R., Arvigo, A. L., Giaquinto, P. C., Delicio, H. C., Barcellos, L. J. G., & Barreto, R. E. (2021). Effects of clove oil on behavioral reactivity and motivation in Nile tilapia. *Aquaculture*, 532, 736045.

Sink, T. D., Lochmann, R. T., & Fecteau, K. A. (2008). Validation, use, and disadvantages of enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of cortisol in channel catfish, largemouth bass, red pacu, and golden shiners. *Fish physiology and biochemistry*, 34, 95-101.

Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, 19, 100611.

Volpato, G. L., Bovi, T. S., de Freitas, R. H., da Silva, D. F., Delicio, H. C., Giaquinto, P. C., & Barreto, R. E. (2013). Red light stimulates feeding motivation in fish but does not improve growth. *PloS one*, 8(3), e59134.

Volpato, G. L., & Barreto, R. E. (2001). Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Brazilian journal of medical and biological research*, 34, 1041-1045.

Volpato, G. L., Duarte, C. R. A., & Luchiari, A. C. (2004). Environmental color affects Nile tilapia reproduction. *Brazilian journal of medical and biological research*, 37, 479-483.

IMPLICAÇÕES

O principal objetivo desse estudo era comprovar a influência das cores de fundo do ambiente de origem (azul, vermelho e branco) a um ambiente novo na adaptação da tilápia-do-Nilo.

No entanto, obtivemos resultados que não comprovaram essa influência, uma vez que não teve efeito significativo sobre os animais no que diz respeito às variáveis avaliadas como comportamentos alimentares, agressivos, atividade locomotora, frequência ventilatória e níveis de cortisol. Evidenciando o papel importante do tempo à adaptação dos animais ao ambiente novo e sobre a capacidade altamente adaptativa da espécie abordada.

Ainda, abriu-se espaço para discussão a respeito da possibilidade de o período de exposição ter sido o suficiente para estabilizar as respostas fisiológicas das tilápias.