

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/02/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TÁCTIL DE LONGO
PRAZO SOBRE O BEM-ESTAR DA
TILÁPIA-DO-NILO**

Ana Carolina dos Santos Gauy

Jaboticabal, São Paulo

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TÁCTIL DE LONGO
PRAZO SOBRE O BEM-ESTAR DA
TILÁPIA-DO-NILO**

Ana Carolina dos Santos Gauy

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Gonçalves de Freitas

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

Jaboticabal, São Paulo

2021

G277e Gauy, Ana Carolina dos Santos
 Efeito da estimulação táctil de longo prazo sobre o bem-estar da
 tilápia-do-nilo / Ana Carolina dos Santos Gauy. – – Jaboticabal, 2021
 93 p. : il. ; 29 cm

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
 Aquicultura, 2021
 Orientadora: Eliane Gonçalves de Freitas
 Banca examinadora: Angélica da Silva Vasconcellos, João Luis
 Saraiva, Selene Siqueira da Cunha Nogueira, Mônica Serra
 Bibliografia

 1. Agressividade. 2. Densidade de estocagem. 3. Desempenho
 produtivo. 4. Estresse social. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de
 Aquicultura.

CDU 636.3.05



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TÁCTIL DE LONGO PRAZO SOBRE O BEM-ESTAR DA
TILÁPIA-DO-NILO

AUTORA: ANA CAROLINA DOS SANTOS GAUY

ORIENTADORA: ELIANE GONÇALVES DE FREITAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em
AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELIANE GONÇALVES DE FREITAS (Participação Virtual)

Departamento de Zoologia e Botânica / UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Profa. Dra. ANGÉLICA DA SILVA VASCONCELLOS (Participação Virtual)

Programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados / Pontifícia Universidade Católica de
Minas Gerais

Prof. Dr. JOÃO LUÍS SARAIVA (Participação Virtual)

Centro de Ciencias do Mar, CCMar / Universidade do Algarve, Campus da Gambela, Portugal

Profa. Dra. SELENE SIQUEIRA DA CUNHA NOGUEIRA (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilheus-BA

Profa. Dra. MÔNICA SERRA (Participação Virtual)

Instituto de Ciências da Saúde / Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador-BA

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2021.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	1
Agradecimentos	2
Apoio financeiro.....	3
RESUMO	4
ABSTRACT	6
Introdução Geral	8
Capítulo 1: Estimulação táctil de longo prazo diminui agressividade e aumenta desempenho produtivo em grupos de tilápia-do-nilo.....	12
1. Introdução.....	14
2. Material e Métodos	16
3. Resultados.....	24
4. Discussão	38
5. Referências.....	49
Capítulo 2: Estimulação táctil de longo prazo diminui efeitos negativos da alta densidade de estocagem e aumenta desempenho produtivo na tilápia-do-nilo	63
1. Introdução.....	65
2. Material e Métodos	67
3. Resultados.....	74
4. Discussão	78
5. Referências.....	83
Referências Complementares.....	90

DEDICATÓRIA

À Ana Rosa dos Santos Gauy, que mesmo não estando mais presente fisicamente, sempre será meu exemplo de força, amor e apoio incondicional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ana Rosa dos Santos Gauy e João Carlos Miranda Gauy, pelo amor incondicional, apoio e dedicação. Por serem minha base e sempre me incentivarem a alcançar caminhos cada vez mais distantes. Sou eternamente grata a vocês.

À minha família e amigos por todo o incentivo e amor, além da compreensão de minha ausência ao longo dessa jornada.

À professora Dra. Eliane Gonçalves de Freitas pela oportunidade, orientação e dedicação desde o primeiro dia que entrei no laboratório. Além da indiscutível amizade e compreensão em momentos difíceis. Obrigada pelo carinho em suas palavras e ricos ensinamentos pessoais e profissionais ao longo da minha jornada. Um exemplo a ser seguido!

Aos amigos do Laboratório de Comportamento Animal, Ana Marina T. A. Fernandes, André Vitor S. Pereira, Camila N. Boscolo, Estela D. Soares, Felipe D. Guimarães, Guilherme D. Martins, Izabela G. da Cruz, Jéssica M. S. Pelegrini, Kawan C. Martins, Lethicia Vian, Ludmilla N. Falsarella, Manuela L. Brandão e Marcela C. Bolognesi, pelo companheirismo, discussões e ajuda, os quais foram essenciais para o desenvolvimento do trabalho e para meu desenvolvimento profissional. Em especial ao Felipe, Manuela e Marcela pela ajuda nos experimentos.

À Roselene S. C. Ferreira e ao Carlos Eduardo de Sousa pelo suporte técnico e ajuda na manutenção dos animais no laboratório.

Aos meus grandes parceiros, Manuela L. Brandão e Felipe D. Guimarães, que me ajudaram e estiveram comigo em todos os momentos de alegrias e de angústias, de experimentos e de unidades e fizeram todos eles mais leves e melhores.

Aos meus parceiros diários, Felipe S. R. do Amaral e Gabriela Faria, por me incentivarem todos os dias e estarem ao meu lado, mesmo nos dias de desespero. Obrigada pela paciência, boas risadas, refeições maravilhosas e todo amor. “Bom dia, família!”

Ao Centro de Aquicultura da UNESP pelo doutorado. Ao CNPq pela bolsa de doutorado concedida.

A todos que, direta ou indiretamente, me possibilitaram chegar até aqui, meus sinceros agradecimentos!

APOIO FINANCEIRO

CNPq, Bolsa de Doutorado – Número do processo: 154975/2016-8.

RESUMO

Na piscicultura, estressores como alta densidade de estocagem e elevadas interações agressivas entre os indivíduos podem aumentar o estresse e diminuir o bem-estar de peixes. No entanto, pesquisas direcionadas à redução desses efeitos ainda são escassas. Alguns estudos mostram que a estimulação tátil, semelhante à massagem corporal, tem efeitos positivos na diminuição do estresse e aumento do bem-estar, principalmente em mamíferos. Em peixes, a estimulação tátil de curto prazo (10 dias ou menos) reduz o estresse em um peixe de recife de coral e diminui a agressividade em indivíduos isolados de tilápia-do-nilo. Alguns estudos sugerem que a massagem a longo prazo tenha efeito cumulativo em mamíferos, porém, efeitos prolongados precisam ser investigados em outros vertebrados para testar se esse procedimento seria adequado para melhorar o bem-estar. Assim, testamos o efeito da estimulação tátil de longo prazo no bem-estar de grupos de tilápia-do-nilo, terceira espécie mais produzida na piscicultura mundial. Essa espécie é um ciclídeo e, portanto, apresenta comportamento territorial e de hierarquia de dominância, os quais são definidos por meio de interações agressivas. Foi defendida a tese de que a estimulação tátil de longo prazo traz efeitos positivos aos parâmetros ligados ao bem-estar e a produtividade em espécies agressivas. Assim, foram realizados dois estudos para testar o efeito da estimulação tátil sobre a interação social agressiva e o estresse e também, sobre o estresse e os parâmetros produtivos em diferentes densidades de estocagem. Em ambos os estudos, um aparato formado por uma moldura retangular de PVC, com hastes plásticas posicionadas na vertical e contendo cerdas de silicone nas laterais, foi introduzido do centro do aquário. Os peixes passavam por entre as cerdas, recebendo estimulação tátil corporal. Um aparato semelhante, mas sem as cerdas de silicone, funcionou como controle. No primeiro estudo, foi testado o efeito da estimulação tátil de longo prazo sobre a agressividade, o estresse e os parâmetros produtivos em grupos de tilápia-do-nilo. Quatro machos adultos foram agrupados e mantidos por 21 dias sem acesso (7 réplicas – controle) ou com acesso (10 réplicas) à estimulação tátil. A cada 3 dias foram quantificadas as interações agressivas e número de atravessamentos dos animais pelo aparato. Os animais foram medidos e pesados nos dias 1, 7 e 21 e o

sangue foi coletado nos dias 7 e 21. Foi observado diminuição do estresse e menor número de interações agressivas no tratamento com estimulação tátil a partir do dia 10. Essa diminuição foi mais acentuada a longo prazo (dias 19 e 21). Além disso, o nível de testosterona (T) aumentou ao longo do tempo nos animais mais dominantes do tratamento com estimulação tátil e não houve diferença no nível de 11-cetotestosterona (11-KT). Foi observado, também, maior taxa de crescimento, eficiência alimentar, sobrevivência e fator de condição dos animais no tratamento com estimulação tátil. Tanto a diminuição da agressividade, quanto o aumento no crescimento foram mais evidenciados no peixe alfa. No segundo estudo, foi testado se a estimulação tátil de longo prazo reduz os efeitos negativos da alta densidade de estocagem. Foram realizados 4 tratamentos, com 10 réplicas cada: 1) Sem estimulação tátil e alta densidade (1 peixe / 0,014 m³); 2) Sem estimulação tátil e baixa densidade (1 peixe / 0,028 m³); 3) Com estimulação tátil e alta densidade (1 peixe / 0,014 m³); 4) Com estimulação tátil e baixa densidade (1 peixe / 0,028 m³). Dez animais foram agrupados e mantidos, também, por 21 dias. Os animais passaram por biometrias nos dias 1, 10 e 21 e por coleta de sangue no dia 21. Não houve diminuição no nível de cortisol, mas a taxa de crescimento, ganho de peso, ganho de comprimento e eficiência alimentar foram maiores no tratamento com estimulação tátil, mesmo quando em alta densidade. Essas variáveis foram ainda maiores no tratamento com baixa densidade e estimulação tátil. Além disso, o fator de condição aumentou no final dos 21 dias somente no tratamento com estimulação e baixa densidade. Com isso, podemos concluir que a estimulação tátil de longo prazo apresenta efeitos positivos sobre a agressividade e os parâmetros de desempenho produtivo na tilápia-do-nilo. Desse modo, pode ser usada como ferramenta para melhorar a produção e aumentar o bem-estar dos peixes.

Palavras-chave: agressividade, crescimento, densidade de estocagem, eficiência alimentar, estresse social, fator de condição, *rank* social.

ABSTRACT

In fish farming, stressors such as high stocking density and high aggressive interactions between individuals can increase stress and decrease fish welfare. However, research that aim reducing these effects are still scarce. Some studies show that tactile stimulation, similar to body massage, has positive effects in reducing stress and increasing welfare, especially in mammals. In fish, short-term tactile stimulation (10 days or less) reduces stress in a coral reef fish and decreases aggression in isolated individuals of Nile tilapia. Some studies suggest that long-term massage has a cumulative effect in mammals, however, prolonged effects need to be investigated in other vertebrates to test whether this procedure would be adequate to improve welfare. Thus, we tested the effect of long-term tactile stimulation on the welfare of groups of Nile tilapia, the third most raised species in fish farming worldwide. This species is a cichlid and, therefore, exhibits territorial and hierarchical dominance behavior, which is defined through aggressive interactions. The thesis defended was that long-term tactile stimulation has positive effects on parameters related to welfare and productivity in aggressive species. Hence, two studies were carried out to test the effect of tactile stimulation on aggressive social interaction and stress and also on stress and productive parameters at different stocking densities. In both studies, an apparatus formed by a rectangular PVC frame, with plastic rods positioned vertically and containing silicone bristles on the sides, was introduced in the center of the aquarium. The fish passed through the bristles, receiving tactile stimulation on its body. A similar apparatus, but without the silicone bristles, worked as a control. In the first study, the effect of long-term tactile stimulation on aggression, stress and parameters of productive performance in groups of Nile tilapia was tested. Four adult males were grouped and maintained for 21 days without access (7 replicates - control) or with access (10 replicates) to tactile stimulation. Every 3 days, aggressive interactions and the number of animals that crossed the apparatus were quantified. The animals were measured and weighed on days 1, 7 and 21 and blood was collected on days 7 and 21. A decrease in stress levels and fewer aggressive interactions were observed in the treatment with tactile stimulation from the 10th day on. This decrease was more accentuated in the long-term treatment (days 19 and

21). In addition, the testosterone (T) level increased over time in the most dominant animals on the tactile stimulation treatment and there was no difference in the level of 11-ketotestosterone (11-KT). It was also observed a higher growth rate, feed efficiency, survival and condition factor of the animals in the treatment with tactile stimulation. Both the decrease in aggressiveness and the increase in growth were more evident in alpha fish. In the second study, it was tested whether long-term tactile stimulation reduces the negative effects of high stocking density. Four treatments were carried out, with 10 replicates each: 1) Without tactile stimulation and high density (1 fish / 0.014 m³); 2) Without tactile stimulation and low density (1 fish / 0.028 m³); 3) With tactile stimulation and high density (1 fish / 0.014 m³); 4) With tactile stimulation and low density (1 fish / 0.028 m³). Ten animals were grouped and kept, too, for 21 days. The animals underwent biometrics on days 1, 10 and 21 and blood collection took place on day 21. There was no decrease in the level of cortisol, but the growth rate, weight gain, length gain and feeding efficiency were higher in the treatment with tactile stimulation, even when in high density. These variables were even greater in the treatment with low density and tactile stimulation. In addition, the condition factor increased at the end of the 21 days, but only in the treatment with stimulation and low density. By this means, we can conclude that the long-term tactile stimulation has positive effects on the aggressiveness and in the parameters of productive performance of Nile tilapia. Therefore, it can be used as a tool to improve production and increase fish welfare.

Keywords: aggressiveness, condition factor, food efficiency, growth, social rank, social stress, stocking density.

Introdução Geral

O bem-estar animal vem sendo cada vez mais estudado em razão do interesse e preocupação da sociedade em estabelecer a influência dos seres humanos sobre as demais espécies (VOLPATO et al., 2009), uma vez que os animais estão cada vez mais presentes na produção de alimentos e como animais de estimação (WEBSTER, 2016). Assim como em outros animais, o bem-estar dos peixes pode ser definido sob diferentes abordagens, as quais são agrupadas em três por Huntingford, Kadri e Jobling (2012). A abordagem baseada em função, a qual considera se as funções biológicas do animal são expressas de forma adequada, levando em consideração a saúde e se o animal é capaz de se ajustar ao ambiente artificial. A abordagem baseada em sentimento, a qual considera que os peixes são animais sencientes e pressupõe que os animais estão com bom bem-estar se estiverem livres de experiências negativas, como sofrimento, dor, medo e fome. E a abordagem baseada na natureza, a qual considera que os animais estão com bom bem-estar se podem expressar seu repertório comportamental como expressariam na natureza.

O bem-estar em peixes é avaliado, principalmente, por respostas fisiológicas, como a variação do nível de cortisol plasmático no organismo devido à elevação do estresse social (ELLIS et al., 2012; HUNTINGFORD et al., 2006; MARTINS et al., 2012); e por respostas comportamentais, como comportamentos anormais (HUNTINGFORD et al., 2006; MARTINS et al., 2012), estereotipados (ALMAZÁN-RUEDA; SCHRAMA; VERRETH, 2004) e alterações no comportamento agressivo (BOSCOLO; MORAIS; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2011; GAUY; BOSCOLO; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2018; MARTINS et al., 2012). O comportamento agressivo, por exemplo, faz parte do repertório natural de várias espécies. No entanto, o aumento da agressividade leva ao aumento de injúrias físicas, podendo acarretar em morte (GREAVES; TUENE, 2001; JOHNSON et al., 2006); e aumenta o gasto energético, o que pode interferir no crescimento, reprodução e outras atividades do animal (FERNANDES; VOLPATO, 1993). Assim, os níveis de agressividade também são utilizados como indicadores de bem-estar.

Além das respostas comportamentais e fisiológicas, alguns parâmetros de desempenho produtivo também podem ser considerados indicadores de bem-estar. O crescimento, por exemplo, pode ser influenciado por estressores e pode ser reduzido pela diminuição do comportamento alimentar como resposta imediata ao estresse (WENDELAAR BONGA, 1997) ou como resposta ao estresse crônico, implicando em aumento do gasto de energia e consequente diminuição do crescimento (ELLIS et al., 2012; WENDELAAR BONGA, 1997). A eficiência alimentar é outro fator que pode sofrer impacto negativo do estresse nos animais (ELLIS et al., 2012), uma vez que ela reflete a relação entre alimento consumido e ganho de peso do animal (DE VERDAL et al., 2017). Sendo assim, animais cronicamente estressados podem ingerir alimento, porém, sem convertê-lo em crescimento. Portanto, uma boa eficiência alimentar pode indicar bons níveis de bem-estar. O fator de condição também pode indicar um bom bem-estar, já que está relacionado a boas condições de nutrição e saúde dos peixes (ANANI; NUNOO, 2016; FROESE, 2006). No geral, esses parâmetros são indicadores de gasto energético, saúde e bem-estar, porém, somente um desses indicadores pode não ser suficiente para distinguir os diferentes níveis de bem-estar do animal (HUNTINGFORD; KADRI, 2014; SOPINKA et al., 2016).

Grande parte do aumento dos trabalhos em bem-estar animal voltado aos peixes ocorreu devido à expansão da aquicultura no mundo, gerando maior interesse público e científico na área (ASHLEY, 2007; MARTINS et al., 2012). Nesses ambientes de criação, existem alguns estressores para os animais, como por exemplo, as interações agressivas entre os peixes (HUNTINGFORD et al., 2006), as quais vão causar injúrias e estresse social nos indivíduos (JOHNSSON et al., 2006); e a alta densidade de estocagem, a qual vai influenciar a qualidade da água e as interações sociais entre os animais (ELLIS et al., 2002). O contato contínuo com esses estressores pode causar prejuízos ao bem-estar dos peixes, uma vez que são difíceis de serem evitados nessa prática. Portanto, alternativas que reduzam esses efeitos negativos, tornam-se necessárias para melhorar o bem-estar na piscicultura (GONÇALVES-DE-FREITAS et al., 2019).

A estimulação tátil, em forma de massagem ou toques, é uma alternativa que vem sendo usada para melhorar o bem-estar dos animais e vem se mostrando eficiente. Em mamíferos, por exemplo, diminui o estresse (FIELD et al., 2005; IM; KIM, 2009; PROBST et al., 2012) e a agressividade (WEI et al., 2013) e aumenta os níveis de serotonina (FIELD et al., 2005) e o peso corporal (WEI et al., 2013). Em peixes, Soares et al. (2011) demonstraram que a estimulação tátil diminui o estresse em peixes recifais, onde um peixe cliente (*Ctenochaetus striatus*) tem seus ectoparasitas removidos por outra espécie de peixe (*Labroides dimidiatus*), que fornece a estimulação tátil com as nadadeiras sobre o corpo do cliente, ao mesmo tempo que remove os parasitos. Essa resposta positiva encontrada para essa espécie de peixe pode estar associada ao repertório natural desses animais, os quais possuem a interação cliente-limpador como comportamento natural (GRUTTER, 1995). Da mesma forma que os mamíferos, que possuem contato físico positivo nas interações mãe-filhote e em situações de limpeza corporal (DUNBAR, 2010). Porém, algumas estimulações tácteis podem ser danosas para os animais, por exemplo, as provenientes de lutas (que podem causar lesões e dor). Nesse caso, pode ser que a estimulação tátil positiva tenha um significado diferente para as espécies que possuem lutas como parte do seu comportamento natural. Um exemplo é a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), que é uma espécie de ciclídeo muito importante para a aquicultura mundial e apresenta organização em um sistema social hierárquico, definindo a posição na hierarquia de dominância por meio de confrontos agressivos (ALVARENGA; VOLPATO, 1995; CARVALHO; GONÇALVES-DE-FREITAS, 2008). Foi demonstrado por Bolognesi, Gauy e Gonçalves-de-Freitas (2019) que a estimulação tátil diminui o número de comportamentos agressivos em machos isolados dessa espécie territorial, mas não diminui os níveis de cortisol.

Esses efeitos positivos relatados na literatura com peixes são provenientes de estimulação tátil de curto prazo (até 10 dias) e nada se sabe em prazos mais prolongados. Porém, existem alguns estudos mostrando que a estimulação tátil de longo prazo melhora o sistema imune (CHARNETSKI; RIGGERS; BRENNAN, 2004; FIELD, 1995), diminui o medo (SILVA et al., 2017) e a agressividade (VON KNORRING et al., 2008) em mamíferos. Assim, o tempo em contato com a

estimulação táctil, utilizado por Bolognesi, Gauy e Gonçalves-de-Freitas (2019), pode não ter sido suficiente para observar diminuição do cortisol na tilápia-do-nylo. Dessa forma, é importante saber se os efeitos da estimulação táctil encontrados para essa espécie se mantem e/ou se potencializam a longo prazo e em animais agrupados, uma vez que esses animais são criados, na produção de corte, em altas densidades e por períodos mais prolongados. Com isso, o objetivo desta tese foi testar o efeito da estimulação táctil de longo prazo sobre o bem-estar da tilápia-do-nylo. Levantamos a hipótese de que os animais em contato com a estimulação táctil de longo prazo apresentam respostas positivas em indicadores de bem-estar (diminuição do estresse e agressividade e aumento no crescimento, eficiência alimentar e fator de condição), mesmo em condições estressantes, como a alta densidade populacional. Para testar nossa hipótese, desenvolvemos dois estudos:

1. “Estimulação táctil de longo prazo diminui agressividade e aumenta desempenho produtivo em grupos de tilápia-do-nylo”, cujo objetivo foi testar se a estimulação táctil de longo prazo melhora o bem-estar, reduzindo a agressividade e os níveis de cortisol associados ao estresse social em grupos de machos de tilápia-do-nylo. Se a estimulação táctil de longo prazo reduzir a agressividade, esperamos encontrar associação desse efeito com indicadores de bem-estar e, portanto, redução do cortisol e aumento dos parâmetros de desempenho produtivo. Além disso, as interações agressivas em peixes são seguidas por variações nos níveis de andrógenos (OLIVEIRA et al., 2002). Os níveis de testosterona (T) e 11-cetotestosterona (11-KT) tendem a aumentar quando as interações agressivas aumentam ou quando a hierarquia de dominância é instável (WINGFIELD et al., 1990; ALMEIDA et al., 2014). Assim esperamos, também, uma variação nos níveis de andrógenos de acordo com a interação agressiva.

2. “Estimulação táctil de longo prazo diminui efeitos negativos da alta densidade de estocagem e aumenta desempenho produtivo na tilápia-do-nylo”, cujo objetivo foi testar se a estimulação táctil de longo prazo reduz os efeitos negativos da alta densidade de estocagem. Esperamos redução do estresse associado ao aumento dos parâmetros de desempenho produtivo (crescimento, eficiência alimentar e fator de condição) nos tratamentos com estimulação táctil corporal.

Referências Complementares

ALMAZÁN-RUEDA, P.; SCHRAMA, J. W.; VERRETH, J. A. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. **Aquaculture**, v. 231, n. 1–4, p. 347–359, 2004.

ALMEIDA, O.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; LOPES, J. S.; OLIVEIRA, R. F. Social instability promotes hormone–behavior associated patterns in a cichlid fish. **Hormones and Behavior**, v. 66, p. 369–382, 2014.

ALVARENGA, C. M. D.; VOLPATO, G. L. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. **Physiology and Behavior**, v. 57, n. 1, p. 75–80, 1995.

ANANI, F. A.; NUNOO, F. K. E. Length-weight relationship and condition factor of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed farm-made and commercial tilapia diet. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 4, n. 5, p. 647–650, 2016.

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

BOLOGNESI, M. C.; GAUY, A. C. S.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Tactile stimulation reduces aggressiveness but does not lower stress in a territorial fish. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

BOSCOLO, C. N. P.; MORAIS, R. N.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Same-sized fish groups increase aggressive interaction of sex-reversed males Nile tilapia GIFT strain. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 135, n. 1–2, p. 154–159, 2011.

CARVALHO, T. B.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Sex group composition, social interaction, and metabolism in the fish Nile tilapia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p. 807–812, 2008.

CHARNETSKI, C. J.; RIGGERS, S.; BRENNAN, F. X. Effect of petting a dog on immune system function. **Psychological Reports**, v. 95, p. 1087–1091, 2004.

DE VERDAL, H.; KOMEN, H.; QUILLET, E.; CHATAIN, B.; ALLAL, F.; BENZIE, J. A. H.; VANDEPUTTE, M. Improving feed efficiency in fish using selective breeding: A review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 833–851, 2017.

DUNBAR, R. I. M. The social role of touch in humans and primates: Behavioural function and neurobiological mechanisms. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 34, p. 260-268, 2010.

ELLIS, T.; NORTH, B.; SCOTT, A. P.; BROMAGE, N. R.; PORTER, M.; GADD, D. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 493-531, 2002.

ELLIS, T.; YILDIZ, H. Y.; LÓPEZ-OLMEDA, J.; SPEDICATO, M. T.; TORT, L.; ØVERLI, Ø.; MARTINS, C. I. M. Cortisol and finfish welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 163-188, 2012.

FERNANDES, M. O.; VOLPATO, G. L. Heterogeneous growth in the Nile tilapia: Social stress and carbohydrate metabolism. **Physiology & Behavior**, v. 54, n. 2, p. 319–323, 1993.

FIELD, T. Massage therapy for infants and children. **Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics**, v. 16, n. 2, p. 105-111, 1995.

FIELD, T.; HERNANDEZ-REIF, M.; DIEGO, M.; SCHANBERG, S.; KUHN, C. Cortisol decreases and serotonin and dopamine increase following massage therapy. **International Journal of Neuroscience**, v. 115, n. 10, p. 1397–1413, 2005.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weight–length relationships: History, meta-analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241–253, 2006.

GAUY, A. C. S.; BOSCOLO, C. N. P.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Less water renewal reduces effects on social aggression of the cichlid *Pterophyllum scalare*. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 198, p. 121–126, 2018.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; BOLOGNESI, M. C.; GAUY, A. C. S.; BRANDÃO, M. L.; GIAQUINTO, P. C.; FERNANDES-CASTILHO, M. Social behavior and welfare in Nile tilapia. **Fishes**, v. 4, n. 2, p. 1–14, 2019.

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

GRUTTER, S. A. Relationship between cleaning rates and ectoparasite loads in coral reef fishes. **Marine Ecology Progress Series**, v. 118, n. 1-3, p. 51-58, 1995.

HUNTINGFORD, F. A.; ADAMS, C.; BRAITHWAITE, V. A.; KADRI, S.; POTTINGER, T. G.; SANDØE, P.; TURNBULL, J. F. Current issues in fish welfare. **Journal of Fish Biology**, v. 68, p. 332–372, 2006.

HUNTINGFORD, F.; KADRI, S.; JOBLING, M. Introduction: Aquaculture and Behaviour. In: HUNTINGFORD, F.; JOBLING, M.; KADRI, S. (Eds.), **Aquaculture and Behavior**. Blackwell Publishing Ltd, UK, p. 1-35, 2012.

HUNTINGFORD, F. A.; KADRI, S. Defining, assessing and promoting the welfare of farmed fish. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 33, n. 1, p. 233-244, 2014.

IM, H.; KIM, E. Effect of Yakson and Gentle Human Touch versus usual care on urine stress hormones and behaviors in preterm infants: A quasi-experimental study. **International Journal of Nursing Studies**, v. 46, p. 450-458, 2009.

JOHNSON, J. I.; WINBERG, S.; SLOMAN, K. A. Social interactions. In: SLOMAN, K. A.; WILSON, R. W.; BALSINHE, S. (Eds.), **Behaviour and Physiology of Fish**. Elsevier Academic Press, UK, p. 151-196, 2006.

MARTINS, C. I. M.; GALHARDO, L.; NOBLE, C.; DAMSGÅRD, B.; SPEDICATO, M. T.; ZUPA, W.; BEAUCHAUD, M.; KULCZYKOWSKA, E.; MASSABUAU, J. C.; CARTER, T.; PLANELLAS, S. R.; KRISTIANSEN, T. Behavioural indicators of welfare in farmed fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 17–41, 2012.

OLIVEIRA, R. F.; HIRSCHENHAUSER, K.; CARNEIRO, L. A.; CANÁRIO, A. V. M. Social modulation of androgen levels in male teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 132, p. 203–215, 2002.

PROBST, J. K.; NEFF, A. S.; LEIBER, F.; KREUZER, M.; HILLMANN, E. Gentle touching in early life reduces avoidance distance and slaughter stress in beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 139, n. 1-2, p. 42-49, 2012.

SILVA, L. P.; SANT'ANNA, A. C.; SILVA, L. C. M.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Long-term effects of good handling practices during the pre-weaning period of

crossbred dairy heifer calves. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, p. 153-162, 2017.

SOARES, M. C.; OLIVEIRA, R. F.; ROS, A. F.H.; GRUTTER, A. S.; BSHARY, R. Tactile stimulation lowers stress in fish. **Nature Communications**, v. 2, n. 1, 2011.

SOPINKA, N. M.; DONALDSON, M. R.; O'CONNOR, C. M.; SUSKI, C. D.; COOKE, S. J. Stress indicators in fish. In: SCHRECK, C. B.; TORT, L.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. (Eds.), **Biology of Stress in Fish**. Elsevier Academic Press, UK, pp. 405-462, 2016.

VOLPATO, G. L.; GIAQUINTO, P. C.; FERNANDES-DE-CASTILHO, M.; BARRETO, R. E.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Animal Welfare: From concepts to reality. **Oecologia Australis**, v. 13, n. 1, p. 5-15, 2009.

VON KNORRING, A. L.; SÖDERBERG, A.; AUSTIN, L.; UVNÄS-MOBERG, K. Massage decreases aggression in preschool children: A long-term study. **Acta Paediatrica**, v. 97, n. 9, p. 1265–1269, 2008.

WEBSTER, J. Animal welfare: Freedoms, dominions and “a life worth living”. **Animals**, v. 6, n. 35, 2016.

WEI, B.; TAI, F.; LIU, X.; MA, L.; YANG, X.; JIA, R.; ZHANG, X. Neonatal tactile stimulation alleviates the negative effects of neonatal isolation on novel object recognition, sociability and neuroendocrine levels in male adult mandarin voles (*Microtus mandarinus*). **Physiology & Behavior**, v. 112, p. 14-22, 2013.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591–625, 1997.

WINGFIELD, J. C.; HEGNER, R. E.; DUFTY, A. M.; BALL, G. F. The "Challenge Hypothesis": Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. **The American Naturalist**, v. 136, n. 6, p. 829-846, 1990.