

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

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo

Lara Wichr Genovez

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Botucatu

Junho - 2014

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

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo

Lara Wichr Genovez

Bióloga

Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato

Co-Orientadora: Márcia M. Pereira Sartori

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Botucatu

Junho - 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G335e Genovez, Lara Wichr, 1984-
Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo / Lara Wichr Genovez. - Botucatu : [s.n.], 2014
viii, 57 f.: ils., tabs., grafs., fots. color.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014
Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato
Coorientador: Márcia M. Pereira Sartori
Inclui bibliografia

1. Tilápia-do-Nilo - Nutrição . 2. Morfometria. 3. Peixes - Metabolismo. 4. Estresse comportamental. I. Pezzato, Luiz Edivaldo. II. Sartori, Márcia M. Pereira. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Dedicatória

Á Deus por tua grandeza, pelo seu amor incondicional. Obrigada pelo carinho e cuidado com minha família, por nunca desistir de mim, por me amparar em todos os momentos, pois acredito que tudo está como tem que estar.

Aos meus pais José Antonio (in memorian) e Elaine, pela confiança, amor e dedicação de uma vida toda, me ensinando que as maiores conquistas provêm de muita dedicação... Amo vocês!!

Ao meu irmão Fábio e minha cunhada Mariana por serem sempre incentivadores e amorosos em todos os momentos.

Ao meu namorado e amigo Felipe que me acompanhou nesta fase tão importante, dedicando carinho ,amor e compreensão!!! Te amo

“Saudade tem rosto, nome e sobrenome... Saudade tem cheiro, tem gosto...Saudade é a vontade que não passa... É a ausência que incomoda... Saudade é a prova de que tudo valeu a pena” (ao meu pai que amo tanto)!!

A gente pode morar numa casa mais ou menos, numa rua mais ou menos, numa cidade mais ou menos, e até ter um governo mais ou menos.

A gente pode dormir numa cama mais ou menos, comer um feijão mais ou menos e até ser obrigado a acreditar mais ou menos no futuro.

A gente pode olhar em volta e sentir que tudo está mais ou menos...TUDO BEM!

*O que a gente não pode mesmo, nunca, de jeito nenhum...
é amar mais ou menos, sonhar mais ou menos, ser amigo mais ou menos, namorar mais ou menos, ter fé mais ou menos, e acreditar mais ou menos.*

Senão a gente corre o risco de se tornar uma pessoa mais ou menos.

Chico Xavier

Agradecimentos

Ao meu orientador e grande amigo **Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato**. Muito obrigado pelos ensinamentos, dedicação e amizade, por acreditar em mim sempre mesmo diante de todas adversidades. Obrigada por ser tão humano e generoso.

A **prof. Dra. Margarida Maria Barros**, por seu exemplo de responsabilidade e compromisso com o meio acadêmico. Obrigado pelas conversas de incentivo e sugestões.

A **Prof. Dra. Márcia M. P. Sartori**, por estar sempre disposta a ajudar e sugerir melhoras ao trabalho, sempre com sorriso e boa disposição.

A **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/UNESP**, Botucatu, pela oportunidade de cursar o doutorado.

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP**, processo 2011/12919-3, pela concessão da bolsa de estudos, essencial para a realização dessa pesquisa.

A minha querida amiga e parceira de todas as horas Jakeline A. de Freitas, por sempre me escutar e apoiar. Você é meu anjo da guarda!

Aos meus amigos do AquaNutri: Jakeline A. de Freitas, Flávia M. Damasceno, Mariucha K. H. Ribeiro Rocha, Éric Portilho Araújo, Rodney Carmo, Igor Simões, Vivian Gomes do Santos, Renan Botelho, Rafael Lopes da Silva, Caroline P. Teixeira, Pedro Luiz P. F. de Carvalho, Ademir Calvo Fernandes Junior por toda a ajuda, amizade e convivência durante esses anos.

As minhas amigas e amigos que sempre estiveram ao meu lado em todos momentos durante a jornada da vida: Fabiana Sellaro, Camila de Souza Trindade, Grasieli M. Vieira, Laura Calvo, Natália Boer, Renan Candeloro, Gessyka Marcandal, Sérgio Silva, Eliane Fernandes, Roberson Sakabe e Natália Gaino !!!

SUMÁRIO

Capítulo - I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	02
A Tilápia.....	02
COMPORTAMENTO.....	03
Hierarquia de dominância.....	03
Estresse Animal.....	05
Nutrição.....	07
Digestibilidade e trânsito gastrointestinal.....	07
Histologia intestinal.....	09
Hematologia em peixes.....	09
REFERÊNCIAS.....	14

Capítulo - II

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes, no tempo de trânsito gastrintestinal e na morfometria das vilosidades e cripta do intestino.....	19
Resumo.....	20
Abstract.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
Tabela 1: Composição percentual calculada para dieta prática.....	24
Determinação da hierarquia.....	25
Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes.....	26
Efeito no tempo de trânsito gastrintestinal.....	28
Efeito na morfometria das vilosidades e cripta do intestino.....	28
Análise estatística.....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29

Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes.....	29
Tabela 2: Coeficientes de digestibilidade aparente da ração pela tilápia-do-Nilo submetida ao estresse comportamental.....	29
Efeito na Morfometria das vilosidades e cripta do intestino.....	31
Tabela 3: Análises morfométricas das porções intestinais da tilápia-do-Nilo, medida da altura de vilo e profundidade de cripta.....	31
Figura 1. Histologia intestinal: corte proximal (tratamento isolado).....	33
Figura2. Histologia intestinal: corte proximal (tratamento químico submisso).....	33
Figura3. Histologia intestinal: corte proximal (tratamento visual submisso).....	34
Efeito no Tempo de trânsito gastrintestinal.....	34
Figura 4. Tempo de trânsito gastrointestinal na primeira semana de observação.	35
Figura 5. Tempo de trânsito gastrointestinal na segunda semana de observação..	35
Figura 6. Tempo de trânsito gastrointestinal na terceira semana de observação..	36
CONCLUSÕES.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

Capítulo - III

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito nos parâmetros hematológicos e Bioquímicos.....	41
Resumo.....	42
Abstract.....	43
INTRODUÇÃO.....	44
Material e Métodos.....	45
Tabela 1. Composição percentual calculada para dieta prática.....	46
Determinação da hierarquia.....	47
Efeito nos parâmetros hematológicos e Bioquímicos.....	48
Análise estatística.....	49
Resultados e Discussão.....	50

Tabela 2. Resultados dos parâmetros Bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos ao estresse comportamental.....	50
Tabela 3: Parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos ao estresse comportamental hierárquico.....	51
CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
Capítulo - IV	56
IMPLICAÇÕES	57

Capítulo - I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A Tilápia

Entre as diversas espécies dos gêneros *Oreochromis* a tilápia compõem o grupo de peixes que mais cresce em comercialização mundial, especialmente pelo aumento da sua produção na China e em outros países em desenvolvimento, como o Brasil. São espécies nativas da África, Israel e Jordânia, se espalhando pelo mundo nos últimos 50 anos e, hoje, produzidas em mais de 100 países, nos mais diversos climas, sistemas de produção e salinidades de água (HEMPEL, 2002).

Segundo Likogwe *et al.* (1996), a tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* espécie é uma das espécies mais conhecidas dentro da espécie. Apresenta adaptabilidade a condições adversas, tendo grande importância para a aquicultura. É uma espécie tropical cuja temperatura ideal de desenvolvimento varia entre 25 e 30 °C, tendo seu crescimento afetado com temperatura de 15 °C e não resistindo a temperaturas por volta de 9 °C (Cyrino e Conte, 2006).

Em relação à qualidade da carne, esta é saborosa e contém baixo teor de gordura no filé (0,9%) e baixa caloria (117 kcal/100g). O rendimento de filé é ao redor de 35 a 40%, e este é ausente de mioseptos (espinhos em forma de “Y”), o que a torna apropriada para industrialização (CYRINO e CONTE, 2006).

Apesar de compor um grupo com mais de 70 espécies de dois gêneros (*Tilapia* e *Oreochromis*), segundo a FAO (2007), 80% das tilápias produzidas no mundo são acinzentadas “nilóticas” ou do “Nilo”.

A tilápia foi introduzida no Brasil em 1971, pelo Departamento de Obras contra Seca (DNOCS), com o objetivo de povoar de alevinos os reservatórios públicos da região Nordeste (NOGUEIRA, 2007). O que prejudicou o desenvolvimento da atividade na época, foi a deficiência de conhecimentos técnicos.

Com o desenvolvimento científico, difusão das técnicas de cultivo e aperfeiçoamento da metodologia de inversão sexual, a tilapicultura ganhou impulso e desenvolvimento no Brasil na década de noventa, sendo o estado do Paraná considerado o maior produtor até meados de 2003, quando foi ultrapassado pelo estado do Ceará (FAO, 2007).

No Brasil, a tilapicultura segue a tendência mundial, com predominância de 80% de tilápias nilóticas e 20% de tilápias vermelhas. A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), a tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) e a tilápia azul (*Oreochromis aureus*), são as que atingiram maior destaque (FAO, 2007).

Devido as mais diversas pesquisas nas áreas de melhoramento genético, nutrição e reprodução, bem como a grande aceitação da carne pelo mercado consumidor, o cultivo de tilápias se tornou hoje uma das principais atividades aquícolas do Brasil.

Os ciclos reprodutivos dessas espécies são relativamente curtos, com várias desovas anuais, exigindo do organismo altas taxas metabólicas para formação dos ovócitos. Apesar das tilápias apresentarem fecundidade baixa, quando comparada às espécies de reprodução sincrônica, é altamente prolifera, e desde que manejada adequadamente são obtidas altas taxas de sobrevivência larval (COWARD e BROMAGE, 1999).

COMPORTAMENTO

Hierarquia de Dominância

Dentre a cadeia dos animais vertebrados, os peixes são considerados organismos experimentais que oferecem sistemas de excelente modelo para estudos sobre interações sociais. Em tais interações, os peixes lutam agressivamente até a definição hierárquica, sendo considerados dominantes os que têm prioridade sobre os outros animais, e subordinados aos que tem acesso limitado aos recursos, tais como: alimentos, parceiros para acasalamento, abrigo e território, entre outros (JOHNSSON *et al.*, 2001).

Em criações de algumas espécies de peixes pode-se observar uma clara relação hierárquica, que pode proporcionar um crescimento desigual entre a ninhada. Tal fenômeno foi observado por Volpato *et al.* (1989) para tilápia. É descrito na literatura pelo termo crescimento heterogêneo (CHet) podendo ser influenciado por fatores genéticos e populacionais.

Essa variabilidade de crescimento decorre principalmente na maioria dos indivíduos no grupo, reduzindo a biomassa dos indivíduos. Além desse reflexo para a piscicultura, pode também produzir muitos peixes com peso abaixo do ideal de comercialização (VOLPATO e FERNANDES, 1994).

Dentre as hipóteses levantadas para explicar o (CHet) destacam-se fatores químicos, diferença de metabolismo, competição alimentar e processos digestórios, muitos deles decorrentes do estresse social. A explicação mais citada para o crescimento heterogêneo é a competição alimentar, que pode ser estabelecida em decorrência do fornecimento insuficiente de alimento para um conjunto de animais, ou quando um indivíduo dominante monopoliza a dieta inibindo o acesso dos submissos a mesma (JOBLING, 1982).

Os padrões de consumo alimentar entre indivíduos em grupos é influenciada por uma variedade de fatores intrínsecos e extrínsecos, tais como espécies de peixes, linhagens, classificação, a experiência, o tamanho, o número de concorrentes e disponibilidade de alimentos (FORRESTER, 1991; MCCARTHY *et al.*, 1993; SLOMAN e ARMSTRONG, 2002).

Collér e Brown (2011) utilizaram trutas (*Oncorhynchus mykiss*) machos como espécie modelo para estudo comportamental, evidenciando uma variedade de traços de personalidade, onde os peixes dominantes eram mais agressivos, ativos, arrojados e também significativamente maiores que os peixes subordinados. Além disso, verificaram forte correlação entre os níveis de atividade e ousadia, sugerindo que a seleção pode agir sobre um conjunto de características em síndromes comportamentais.

Segundo Ricci *et al.* (2013) em estudos com *Zebrafish* o comportamento agonístico entre animais (dominantes/submissos) foi relacionado com as características fenotípicas e influências ambientais moldando a expressão comportamental destes.

A importância do comportamento agonístico também é evidente nas espécies de peixes da Família Cichlidae cuja organização social é baseada na hierarquia de dominância e territorialidade (BAERENDS e BAERENDS VAN ROON, 1950).

Estresse Animal

O estresse pode ser definido como o conjunto de respostas não específicas do organismo a situações que ameaçam desequilibrar a sua homeostase (BARTON, 2002), sendo considerado um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência de doenças e alta mortalidade na aquicultura (CONTE, 2004). Os agentes estressores em peixes podem ser de inúmeros tipos, como os de natureza física, (transporte, confinamento e manuseamento) os de natureza química (contaminantes, baixo teor de oxigênio ou o pH reduzido) e os percebidos pelos animais, (a presença de predadores ou de coespecíficos estranhos), (BARTON, 1997).

Segundo Pickering (1981), as respostas ao estresse podem ser classificadas em primária (aguda), secundária (crônica) e terciária (crônica prolongada). A resposta primária envolve a ativação do sistema neuroendócrino, com a liberação das catecolaminas e aumento da liberação, pelo eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HPI), do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e dos hormônios tóides.

A resposta secundária inclui mudanças fisiológicas em decorrência da liberação dos hormônios como aumento da pressão sanguínea, maior oxigenação e mobilização das reservas de energia. Em decorrência desses fatores, a resposta terciária envolve todo o organismo animal, sendo que o crescimento, reprodução e sistema imune são comprometidos (WEDEMEYER, 1969), conforme apresentado na Figura 1 (MAZEUAUD *et al.*, 1977).

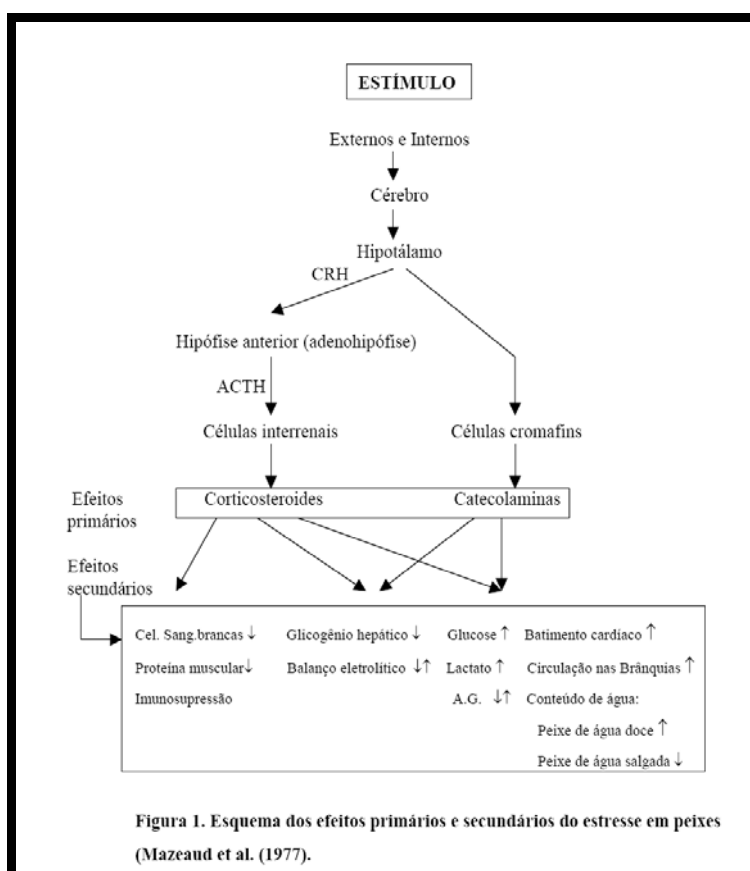
O estresse inibe o crescimento, diminuindo os níveis plasmáticos dos hormônios T_3 e T_4 , em função da alteração do estado nutricional causada pela redução na quantidade de alimento ingerida, sendo também observada influência do cortisol neste processo (CARNEIRO e URBINATI, 1999).

O cortisol plasmático é o indicador de estresse mais utilizado em peixes, qualquer que seja o seu estágio de desenvolvimento (WEENDELAR-BONGA, 1997). Em concentrações de cortisol plasmático diferentes espécies de peixes normalmente elevam os níveis alguns minutos após a exposição ao agente estressor agudo, atingem o pico e retornam a valores basais dentro de, aproximadamente, seis horas depois (PICKERING e POTTINGER, 1989).

Tipos diversos de estressores, tais como exposição brusca a metais pesados, rápidas mudanças de temperatura, manejo e confronto com predadores, podem ser classificados como estressores agudos, os quais induzem a curva de cortisol plasmático similar (BROWN, 1993). Quando o estressor é crônico, concentrações de cortisol podem permanecer elevadas, embora bem abaixo dos níveis de pico (WENDEELAR-BONGA, 1997).

O hormônio do crescimento (GH) aumenta o apetite e a eficiência na conversão do alimento, porém, a secreção deste hormônio pela glândula pituitária é inibida em peixes sob condições de estresse (HEW, 1989).

Figura 1: Esquema dos efeitos primários e secundários do estresse em peixes (MAZEAUD *et al.*, 1977).



Estudos demonstraram que o nível de corticosteróides em resposta ao estresse pode variar entre peixes, mesmo dentro da mesma espécie. Assim, pode haver peixes

que respondam com nível consideravelmente alto de cortisol, e peixes que respondam mais discretamente, ambos apresentando desempenho similar e sendo da mesma população (WEIL *et al.*, 2001).

Os agentes estressores podem possuir diferentes intensidades, a exposição moderada a estes podem produzir nos peixes respostas adaptativas (homeostáticas), restituindo o equilíbrio ao organismo.

Existem inúmeras respostas comportamentais, sendo a mais imediata é a fuga ou imobilização. Se o contexto ambiental não permite a fuga, verifica-se alterações significativas do comportamento, tais como mudanças no ritmo e padrão natatório, redução ou alteração do comportamento anti predatório, disfunção do comportamento alimentar, aumento da procura de abrigo (por vezes, de forma inapropriada), redução de comportamentos agonísticos ou territoriais, ou pelo contrário, aumento de agressividade, e alterações da capacidade de aprendizagem (SCHRECK *et al.*, 1997).

Segundo Wilson (1975) o principal fator de determinação da organização de um grupo é o comportamento de dominância. As lutas se intensificam rapidamente, mas após o estabelecimento da hierarquia de dominância as interações agonísticas são reduzidas prevalecendo exibições de baixa intensidade de agressividade e baixo custo energético (JOHNSSON *et al.*, 1997).

A intensidade e a duração das respostas comportamentais e fisiológicas a estímulos adversos dependem das condições ambientais em que esses indivíduos vivem e das características da espécie podendo ou não se adaptar aos agentes estressores.

NUTRIÇÃO

Digestibilidade e trânsito gastrointestinal

O valor nutritivo de um alimento depende de três principais fatores: seu conteúdo em nutrientes, e da ingestão e absorção do animal. O resultado desse processo varia em função da espécie, das condições ambientais, quantidade e qualidade do nutriente, proporção relativa entre os nutrientes e dos processos tecnológicos em que os alimentos tenham sido submetidos.

A análise química e os testes alimentares são os primeiros itens para determinar o valor nutritivo de um alimento. Entretanto, após a ingestão, sua efetiva assimilação depende do uso que o organismo animal esteja capacitado a executar (MAYNARD e LOOSLY, 1979). Segundo Andrigueto *et al.* (1981) a digestibilidade de uma ração é definida como a habilidade com que o animal digere e absorve os nutrientes e a energia contidos na mesma.

Entre vários estudos de digestibilidade aparente, com espécies de peixes tropicais, conduzidos por Cyrino *et al.* (1986), Barros *et al.* (1988), Khan (1994), Tackeuchi *et al.* (1994), Watanabe *et al.* (1996), Degani *et al.* (1997), Fernandes *et al.* (1998), Stech e Carneiro (1998), Miranda *et al.* (2000), Pezzato *et al.* (2000), Pezzato *et al.* (2001) e Furuya *et al.* (2001). Esses estudos demonstram que alimentos com semelhantes composições químicas podem apresentar diferentes coeficientes de digestibilidade.

Para melhora da eficiência alimentar em peixes é necessária a integração de fatores como características fisiológicas, hábito alimentar e exigência nutricional da espécie, composição química e disponibilidade de nutrientes dos ingredientes selecionados para confecção da ração completa (LANNA *et al.*, 2004).

O sistema digestório das Tilápias compreende o trajeto da boca até o ânus e pode ser dividido em intestino anterior (esôfago e estômago), médio (intestino propriamente dito) e posterior (reto) (ROTTA, 2003).

Ao longo do intestino, podem-se observar os vilos, evaginações da mucosa (epitélio e lâmina própria) que se projetam na luz do intestino, aumentando a área de superfície na digestão e absorção intestinal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O conhecimento do tempo de trânsito dos alimentos no tubo digestivo é determinante para a eficiência da absorção dos nutrientes da dieta (POSSOMPES *et al.*, 1973).

O estresse pode interferir na motilidade do bolo alimentar, na secreção de enzimas digestivas e na absorção dos nutrientes, sendo a absorção dependente da quantidade de nutrientes e do tempo de contato com as vilosidades intestinais (SHIAU *et al.*, 1988).

Histologia intestinal

Nos peixes além da função de digestão e absorção, o intestino pode desempenhar outras funções, como auxiliar na osmorregulação ou na respiração. Há uma ampla variedade de estruturas especializadas encontradas no intestino de diferentes espécies.

Segundo Lundstedt (2003) o desempenho do processo digestivo, absorptivo e metabólico dos diferentes animais, é uma barreira seletiva que permite absorção de nutrientes e exclui muitas substâncias tóxicas (Buddington *et al.*, 1997) e revela as diferentes adaptações do trato digestório em função da dieta ofertada (Liquori *et al.*, 2007). Portanto, o estudo histológico é essencial para a tomada de decisão quanto ao tipo de fonte de alimento que pode ser recomendada para alimentação de peixes (ROMARHRIM *et al.*, 2008)

Honorato *et al.* (2011) avaliaram a histologia e histoquímica do intestino anterior em tilápias alimentadas com dietas contendo farinha de peixe ou silagem de peixe como fonte de proteínas. Concluíram que houve alterações histológicas benéficas no intestino médio, refletindo em maior desenvolvimento dos peixes e recomendando a silagem de peixe como fonte de proteína.

O conhecimento histológico do sistema digestório dos peixes tem extrema importância na elaboração de dietas que atendam as exigências nutricionais dos peixes, pois as modificações neste sistema estão relacionadas com o hábito alimentar dos mesmos.

Hematologia em peixes

A busca pelo melhor conhecimento da inter-relação entre a nutrição e saúde de peixes ganha cada vez mais impulso com o aprimoramento e descobertas de novas tecnologias, visando adequar os dados obtidos em pesquisas com as condições da produção. Embora a importância da nutrição para a manutenção da higidez dos peixes seja evidente, os questionamentos, ainda, superam os resultados conclusivos nesta linha de pesquisa (BARROS *et al.*, 2006).

Os parâmetros hematológicos são fundamentais para se diagnosticar doenças e eventuais problemas patológicos. Qualquer alteração fisiológica é, concomitantemente, refletida no sangue podendo afetar os parâmetros sanguíneos (HRUBEC *et al.*, 1997).

Por meio de amostras de sangue é possível realizar exames hematológicos, bacteriológicos, parasitológicos, bioquímicos, toxicológicos, sorológicos, dentre outros. Neste sentido, a hematologia tem importância como análise fisiológica e no diagnóstico de doenças. Além disso, as alterações morfológicas das células são úteis nas análises toxicológicas (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004).

Hesser (1960) propôs o uso de parâmetros hematológicos como indicadores de saúde. Ranzani-Paiva e Silva-Souza (2004) ressaltaram que avaliações sanguíneas relacionadas a respostas fisiológicas dos peixes têm sido, frequentemente, adotadas por pesquisadores.

Barros *et al.* (2009) afirmam que, além de nutrir o animal para o máximo desempenho, é preciso nutrir seu sistema de defesa. Segundo Araújo *et al.* (2011), o conhecimento dos valores médios dos parâmetros hematológicos em ambiente natural e em cativeiro, nos mais diversos sistemas de criação comercial, sob condições de homeostase e de estresse, é importante para identificar as alterações fisiológicas derivadas da nutrição e fatores ambientais, como a temperatura, que possam interferir na hematopoiese.

O sangue é caracterizado sendo tecido líquido, móvel, do tipo conjuntivo, equilibrando-se com praticamente todos os outros tecidos, e tem como funções: distribuição de calor; transporte de gases respiratórios, nutrientes e produtos de excreção e atuar na defesa do organismo. O volume de sangue dos peixes está em torno de 1,5 a 3,0% de seu peso vivo (teleósteos) e cerca de 6,0% nos elasmobrânquios (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004).

Segundo Feldman *et al.* (2006), os peixes têm vários centros hematopoiéticos (rim cefálico, baço, fígado, entre outros), diferentemente dos mamíferos, que tem a hematopoiese sendo realizada somente pela medula óssea. Caso uma enfermidade comprometa o principal centro hematopoiético, outros órgãos podem assumir a produção de células. Os mesmos autores definem o sangue como sendo composto por três frações:

- Líquida (soro ou plasma): o plasma é composto de 90,0% de água, 7,0% de proteínas (globulinas e albuminas) e 3,0% de solutos variados. Tem como algumas funções o transporte de substâncias e a regulação osmótica entre o sangue e o líquido tecidual;

- Sólida branca: composta pelos glóbulos brancos (linfócitos, monócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, célula granulocítica especial e trombócitos);

- Sólida vermelha (eritrócitos).

Com base nessas informações este estudo está apresentado em dois capítulos intitulados:

Capítulo 2: Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes, no tempo de trânsito gastrointestinal e na morfometria das vilosidades e cripta de intestino.

Capítulo 3: Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito nos parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Ambos artigos estão redigidos seguindo as normas do periódico Animal Science Journal.

REFERÊNCIAS

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A. DE; BONA FILHO, A. Nutrição Animal. São Paulo: Nobel, 1981. 395p.

ARAÚJO, D. M.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; NAKAGOME, F. K. Hematologia de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimulados pelo frio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p.294-302, 2011.

BAERENDS, G. P. & BAERENDS VAN ROON, J. M. An introduction to the study of the ethology of cichlid fishes. **Behavior Supply**, v.1 p.243, 1950.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; FALCON, D. R.; GUIMARÃES, I. G. Digestibilidade aparente de fontes alimentares alternativas pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO, 6º SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA. **Anais...** Florianópolis: **ABRAq**, p.428-432, 1998.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; FALCON, D. R.; GUIMARÃES, I. G. Nutrição e saúde de peixes. In: Congresso Latino-Americano de Nutrição animal. **Anais...** São Paulo: **Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, p.2, 2006.

BARROS, M. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PEZZATO, L. E.; FALCON, D. R.; GUIMARÃES, I. G. Haematological response and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed diets containing folic acid. **Aquaculture Research**, v. 40, p.895-903, 2009.

BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p.515, 2002.

BARTON, B. A.; DWYER, W. P. Physiological stress effects of continuous and pulsed DC electroshock on juvenile bull trout. *Journal of Fish Biology*, v. 51, n. 5, p. 998-1008, 1997.

BROWN J. Endocrine responses to environmental pollutants. In: RANKIN J, JENSEN F (Ed.). **Fish ecophysiology**. London: Chapman & Hall, p.276-296. 1993.

BUDDINGTON, R. K.; KROGDAHAL, A.; BAKKEMCKELLEP, A. M. The intestine of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. **Acta Physiology Scandinavica**, v. 638, p. 67-80, 1997.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. “Stress” e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, Campinas. **Anais. CBNA**, p.25-40, 1999.

CONTE, F. S. Stress and welfare of culture fish. **Applied Animal Behavior Science**, v. 86, p.205, 2004.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Spawning periodicity, fecundity and egg size in laboratory-held stocks of a substrate-spawning tilapiine, *Tilapia zillii*. **Aquaculture**, v.171, p.251–267, 1999.

CYRINO, J. E. P.; CASTAGNOLLI, N. Digestibilidade da proteína de origem animal e vegetal pelo matrinxã (*Brycon cephalus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, **Anais...** Cuiabá: **ABRAq**, p. 49-62, 1986.

CYRINO, J. E. P.; CONTE, L. Tilapicultura em Gaiolas: produção e economia. In: José Eurico Possebon Cyrino e Elisabeth Criscuolo Urbinati (Eds.). **AquaCiência 2004: Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aquicultura**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. Jaboticabal, cap. 12, p. 151-171, 2006.

DEGANI, G.; VIOLA, S.; YEHUDA, Y. Apparent digestibility coefficient of protein sources for carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, v. 28, n. 1, p. 23-28, 1997.

FAO – ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura, **FAO** – Roma, p. 176, 2007.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, C. N. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, p.1344, 2006.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. R. Fontes e níveis de proteína bruta para alevinos e juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) . In: AQUICULTURA BRASIL. **Anais...Recife: ABRAq**, p. 10, 1998.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A. C.; BARROS, M. M.; MIRANDA, E. D. Coeficiente de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootec, v. 30, n.4, p.1143-1149, 2001.

GONÇALVES-DE-FREITAS, E. & NISHIDA, S. M. Sneaking behaviour of the Nile tilapia. **Botetim Técnico do CEPTA**, v. 11, p. 71-79, 1998.

HEMPEL, E. Tilapia, the new whitefish. Seafood international, **AGRA** Europe, London, v. 17 p. 16-20, 2002.

HESSER, E. F. Methods for routine on fish hematology. **The Progressive Fish Culturist**, v.22, p.164-171, 1960.

HEW, C. L. Transgenic fish: present status and future directions. Fish physiology and biochemistry, v. 7, n. 1-6, p. 409-413, 1989.

HONORATO, C. A.; CRUZ, C.; CARNEIRO, D. J.; MACHADO, F. M. R. Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia-do- Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v. 48, n. 4, p. 281-288, 2011.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. Hematology of fish. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, C.N. Schalm's veterinary hematology. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006. p.1120-1125.

JOBLING, M. Some observations on the effects of feeding frequency on the food intake and growth of plaice, *Pleuronectes platessa* L. J. **Fish Biol.** v. 20, p. 431– 444, 1982.

JOHNSSON, J. I. Individual recognition affects aggression and dominance relations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Ethology**, v.103, p. 267–282, 1997.

JOHNSSON, J. I. ; SERNLAND, E.; BLIXT, M. Sexspecific aggression and antipredator behaviour in young brown trout. **Ethology**, v. 107, p. 587–599, 2001.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 488.

KHAN, M. S. Apparent digestibility coefficients for common feed ingredients in formulated diets for tropical catfish (*Mystus nemorus*). **Aquacul Fish Manag.** Oxford, v.25, n. 2, p. 167-174, 1994.

LANNA, E. A. T.; PEZZATO, L. E.; CECON, P. R.; FURUYA, W. M.; BOMFIM, M. A. D. Digestibilidade aparente e trânsito gastrintestinal em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em função da fibra bruta da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 2186-2192, 2004.

LINKONGWE, J. S.; STECKO, T. D.; STAUFFER, J. R.; CARLINE, R. F. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). **Aquaculture**, p. 37-46, 1996.

LIQUORI, G. E.; MASTRODONATO, M.; ZIZZA, S.; FERRI, D. Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of *Triturus carnifex* (Amphibia, Caudata). **Journal Morphology Histology**, v. 38, p. 191-199, 2007.

LUNDSTEDT, L. M. Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçados com diferentes níveis de proteína e energia. **Biological Reviews**, v.80, p. 559-571, 2003.

MAYNARD, L. A. & LOOSLY, J. K. **Animal nutrition**. Ed. McGraw-Hill, New York, USA, 1979.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p. 201- 212, 1977.

McCARTHY, I. D.; CARTER, C. G. & HOULIHAN, D. F. Individual variation in consumption and growth measured using radiography. **In Fish Nutrition in Practice. Proceedings of the IVth International Symposium on Fish Nutrition and Feeding**, p. 85-88 [S. J. Kaushik and P. Luquet, editors]. Paris: INRA, 1993.

MCKAYE, K. R.; LOUDA, S. M. & STAUFER-JR., J. R. Bower size and male reproductive success in a cichlid fish lek. **The American Naturalist**, v.135, p. 597-613, 1990.

MIRANDA, E. C. D.; PEZZATO, A. C.; PEZZATO, L. E.; FURUYA, W. M.. Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum*, v. 22, n. 3, p. 669-675, 2000.

NOGUEIRA, A. **Criação de tilápia em tanques-rede**. SEBRAE, Bahia. p.23, 2007.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C. D.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; PEZZATO, A. C.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo do farelo de coco para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 3, p. 695-699, 2000.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M.; PINTO, L. G. Q. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. D.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; & PEZZATO, A. C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **R. Soc. Bras. Zootec**, 2001.

PICKERING, A. D. **Stress and Fish**. London: Academic Press, 1981. p.11-47.

PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 7, n. 1-6, p. 253-258, 1989

POSSOMPES, B. D. Mise au point d'une méthode d'étude du transit gastro-intestinal chez la truite arctique *Salmo gairdneri*: Influence du nombre de repas, des quantités ingérées et la température d'acclimatation. **Ann. Hydrobiol**, v. 6, p. 131-143, 1973.

RANZANI-PAIVA, M. J.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de Peixes Brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Varela Publishing, São Paulo, Brazil, 2004. p.89-120.

RICCI, L.; SUMMERS, C. H.; LARSON, E. T.; O'MALLEY, D.; MELLONI Jr, R. H. Development of aggressive phenotypes in zebrafish: interactions of age, experience and social status. *Animal behaviour*, v. 86, p 245-252, 2013.

STOREBAKKEN, T. Growth and intestinal morphology in cobia (*Rachycentron canadum*) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, p. 174-180, 2008.

ROTTA M.A. Utilização do ácido ascórbico (vitamina C) pelos peixes. Corumbá: **Embrapa Pantanal**, p.54, 2003.

SCHRECK, C. B.; OLLA, B. L.; DAVIS, M. W. Behavioral responses to stress. In G. K. Iwana, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, & C. B. Schreck, (Eds.), *Fish stress and health in aquaculture* (Society for Experimental Biology, Seminar Series 62). Cambridge University Press. p.145-170, 1997.

SHIAU, S. Y. ; YU, H. L.; HWA, S.; CHEN, S. Y.; HSU, S. I. The influence of carboxymethylcellulose on growth, digestion, gastric emptyng time and body composition of tilapia. **Aquaculture**, v.70, p.345-354, 1988.

SLOMAN, K. A. & ARMSTRONG, J. D. Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artefacts or natural phenomena? **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 23, 2002.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J. Utilização do farelo de soja e da soja integral na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). III Digestibilidade da fração protéica. In: AQUICULTURA BRASIL, **Anais...Recife: ABRAq**, p.16,1998.

TAKEUCHI, T. T.; HERNÁNDEZ, M.; WATANABE, T. Nutritive value of gelatinized corn meal a carbohydrate source to glass carp and hibrid tilapia. **Fisheries Science**, v. 60, n. 5, p.573-577, 1994.

VOLPATO, G. L.; FRIOLI, P. M. A.; CARRIERI, M. P. Heterogeneous growth in fishes; Some new data in the Nile tilapia and a general view about the casual mechanisms. *Bol.Fisiol.Anim*, p.13-22, 1989.

VOLPATO, G. L.; FERNANDES, M. O. Social control of growth in fish. **Braz.J.Med.Biol.Rev**, V.27, p.797-810, 1994.

WATANABE, T.; TAKEUCHI, T. T.; SATOH, S. Digestive crude protein contents in various feedstuffs determined with four freshwater fish species. **Fisheries Science**, v. 62, n.2, p. 278-282, 1996.

WEDEMEYER, G. Stress induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 29, p.1247-1251, 1969.

WEIL L, BARRY T, MALISON J. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. **Aquaculture**, v.193, p.373-380, 2001.

WENDELAAR BONGA, S. E. The Stress Response in Fish. **Physiological. Reviews**, p.77, 591-625, 1997.

WILSON, E. **Sociobiology: the new synthesis**. Harvard, Harvard University Press, 1975.

WONG, B. B. M. & CANDOLIN, U. How is female mate choice affected by male competition? *Biological Reviews*, v.80, p.559-571, 2005.

Capítulo II

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes, no tempo de trânsito gastrintestinal e na morfometria das vilosidades e cripta do intestino

Resumo – A hierarquia de dominância e o confronto agonístico causam estresse aos animais. Essa pesquisa objetivou quantificar o efeito do estresse após o estabelecimento da hierarquia social avaliando as respostas metabólicas entre juvenis de tilápia-do-Nilo. Foram distribuídos 20 peixes machos em 10 aquários com capacidade de 110 litros, adotado um delineamento inteiramente casualizado totalizando cinco tratamentos com quatro repetições. Os animais foram alimentados com ração prática contendo 28,0% de proteína bruta e 3000 kcal de energia digestível. Foi realizada a divisão hierárquica dos indivíduos em dominantes e submissos segundo Falter (1983). Para o tratamento de comunicação visual, os aquários foram divididos com placas de vidro translúcidas, onde os animais não tiveram contato “físico” não havendo nenhum tipo de contato com a água do coespecífico; para o tratamento de comunicação química havia um sistema de bombeamento que homogeneizava a água dos animais, não havendo nenhum tipo de contato visual com o coespecífico. O animal isolado não recebeu água de nenhum outro peixe e nem teve contato visual. As avaliações do efeito do estresse hierárquico foram medidas por meio de três estudos: a) digestibilidade aparente, b) tempo de trânsito gastrintestinal e c) morfometria do epitélio intestinal dos peixes. Os dados de tempo de trânsito gastrintestinal foram representados em forma de gráficos e os dados morfométricos foram avaliados pela análise de variância multivariada, considerando o par altura de vilo (AV) e profundidade de cripta (PC). Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o estresse hierárquico tem efeito significativo no trânsito gastrintestinal, aumentando a velocidade de trânsito da ingesta em até duas horas em animais submissos e que a porção proximal do intestino é a mais adequada para avaliar o efeito do estresse hierárquico por meio do par (AV:PC).

Palavras-chaves: estresse hierárquico, morfometria, nutrição

Dominance stress and metabolic responses of the Nile tilapia: Effect on Nutrient apparent digestibility, gastrointestinal passage time and intestinal morphometry of the villus and crypt depth.

Abstract – The dominance hierarchy and agonistic confrontation cause stress to the animals. This study aimed to quantify the effect of stress after the establishment of social hierarchy evaluating metabolic responses between the juvenile Nile tilapia. 20 male fish were distributed in 10 tanks with a capacity of 110 liters, adopted an outline fully randomized total of five treatments with four replications. The animals were fed a practical diet containing 28.0% crude protein and 3000 kcal of digestible energy. The hierarchical division of the individuals were in dominant and submissive second Falter (1983). For the treatment of visual communication, aquaria were divided plates with translucent glass, where the animals had no "physical" contact not having any type of contact water conspecific eat; for the treatment of chemical communication had a pumping system that homogenized water animals, without any eye contact with the conspecific. The isolated animal received no water no other fish and even had eye contact. The effect of the hierarchical stress ratings were measured by means of three studies: a) digestibility, b) and c gastrointestinal transit time) morphology of the intestinal epithelium of the fish. The data gastrointestinal transit time were represented as graphs and morphometric data were evaluated by multivariate analysis of variance, considering the pair villi height (AV) and crypt depth (PC). Based on the results obtained it can be concluded that the hierarchical stress has significant effect on the gastrointestinal transit, increasing the speed of transit of food intake within two hours in submissive animals and the proximal portion of the intestine is the most appropriate to evaluate the effect of hierarchical stress by pair (AV: PC).

Key words: hierarchical stress, morphometry, nutrition

INTRODUÇÃO

A dominância é um tipo de organização social caracterizada pela definição, dentro do grupo, do dominante e submisso, sendo que o dominante possui prioridade de acesso a recursos limitados, como alimento, parceiros para acasalamento, abrigo e território (Ridley, 1995). Esse sistema é estabelecido por meio de interações agressivas e ocorre em vários grupos animais (Huntingford & Turner, 1987; Ridley, 1995).

A hierarquia pode ser considerada estável ou instável, dependendo da manutenção da posição social dos animais ao longo do tempo (Gómez-Laplaza & Morgan, 1993; Oliveira & Almada, 1996). De acordo com Lehner (1996), a formação e a estabilidade hierárquica são influenciadas por diversos fatores, podendo variar dependendo da espécie e das condições as quais os animais são submetidos.

Frequentemente observa-se em criações de certas espécies de peixes clara relação hierárquica, notando-se também um crescimento desigual entre a ninhada. Tal fenômeno foi observado por Volpato *et al.* (1989) estudando o comportamento agonístico e territorial da tilápia.

Aspectos comportamentais têm relação direta com a variabilidade de crescimento visto que animais dominantes apresentam taxas de crescimento superiores às dos submissos. Este fenômeno é conhecido na literatura pelo termo crescimento heterogêneo (CHet) e pode ser influenciada por fatores genéticos e populacionais.

Para melhora da eficiência alimentar em peixes depende de fatores como características fisiológicas, hábito alimentar e exigência nutricional da espécie, composição química e disponibilidade de nutrientes dos ingredientes selecionados para confecção da ração completa (Lanna *et al.* 2004).

O conhecimento do tempo de trânsito dos alimentos no tubo digestório é determinante para a eficiência da absorção dos nutrientes da dieta (Possompes *et al.* 1973). O estresse pode interferir na motilidade do bolo alimentar, na secreção de enzimas digestivas e na absorção dos nutrientes, sendo a absorção dependente da quantidade de nutrientes e do tempo de contato com as vilosidades intestinais (Shiau *et al.* 1988).

Por outro lado, fatores populacionais envolvem diferentes mecanismos que reduzem o crescimento dos animais submissos. Estes mecanismos podem ser resumidos em: competição alimentar, estresse social e substâncias químicas liberadas por coespecíficos dominantes, para inibir o crescimento dos submissos (Barbosa & Galdean, 1997).

Em espécies consideradas agressivas, a taxa de crescimento está relacionada com a posição social do animal dentro do grupo, onde os indivíduos dominantes tipicamente inibem o crescimento de seus subordinados. Dessa forma, esta pesquisa teve por objetivo avaliar as respostas metabólicas de digestibilidade, trânsito gastrointestinal e morfometria intestinal, submetidas ao estresse hierárquico (dominantes e submissos).

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida na Univ. Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes - AquaNutri. A dieta (Tabela 1) foi formulada contendo 28,0% de Proteína Digestível (PD) e 3000 kcal de Energia Digestível (ED)/kg de ração, conforme recomendação de Pezzato *et al.* (2004), Furuya *et al.* (2010).

A dieta foi balanceada de acordo com os valores de proteína e aminoácidos digestíveis determinadas por Furuya *et al.* (2001), sendo os demais valores utilizados de acordo com os coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos determinados representados na Tabela1 por Pezzato *et al.* (2002).

Esta ração foi empregada para os diferentes estudos desta pesquisa. Para o estudo de digestibilidade foi introduzida na ração 0,1% de óxido de cromo-III, como marcador inerte para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e energia pelos grupos experimentais.

A dieta foi balanceada de acordo com os valores de proteína e aminoácidos digestíveis determinadas por Furuya *et al.* (2001), sendo os demais valores utilizados de acordo com os coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos determinados representados na Tabela1 por Pezzato *et al.* (2002).

Tabela 1: Composição percentual calculada para dieta prática.

Ração Experimental	
Ingredientes	(%)
Farelo de soja	46,68
Glúten de milho	6,00
Farelo de trigo	7,40
Fubá de milho	34,72
Óleo de soja	0,91
DL-Metionina	0,19
L-Treonina	0,30
L-Triptofano	0,04
Fosfato Bicálcico	1,99
BHT	0,02
Sal comum	0,10
Vitamina C	0,05
Premix vit e mineral	1,50
Óxido de Crômio - III	0,10
Total	100

Premix vitamínico mineral ,níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16000 UI; vitamina D3, 4500 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina C, 350 mg; vitamina B₁, 32 mg; vitamina B₂, 32 mg; vitamina B₆, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B12, 32 µg; Na₂SeO₃, 0,7 mg; MnO₂, 50mg; FeSO₄, 150 mg; CuSO₄, 20 mg; CoSO₄, 0,5 mg; I₂Ca, 350 mg.

Os peixes foram submetidos ao processo de extrusão em equipamento de rosca simples (Extrutech®), com capacidade para processar 20 kg.h⁻¹ de ração, e péletes com diâmetro geométrico médio (DGM) aproximado de 3,0 mm.

Previamente à extrusão, os ingredientes foram moídos (peneira com diâmetro de 0,70 mm) e submetidos à peneira Tyler-35 para que apresentassem diâmetro inferior a 0,7 mm; e os micro-ingredientes foram previamente misturados com o milho em moinho tipo Y. Posteriormente a extrusão as rações foram secas em estufa de

ventilação forçada, a temperatura de 55 °C por 24h, e foram armazenadas à temperatura de 5 °C.

Foram utilizados 20 juvenis machos de tilápia-do-Nilo (não revertidos) com peso inicial de aproximadamente 60 a 90 gramas, provenientes da piscicultura Fernandes (Palmital-SP), os quais foram mantidos em biotério (1 peixe/4L) por 30 dias antes do início dos estudos.

Nessas condições ficaram sob fotoperíodo das 6 horas às 18 horas, com alimentação diária experimental, oferecida em quatro porções diárias (5% da biomassa) nos horários estabelecidos (8h30min, 11h30min, 14h30min e 17h30min), água com temperatura entre 25 e 27°C, oxigênio > 5,0 mg O₂/L, Nitrito < 20 mg/L e Amônia < 0,05 mg/L (Boyd, 1996).

Determinação hierárquica

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados 20 juvenis de tilápia, no qual foi determinado o grau hierárquico, onde os testes de pareamento foram conduzidos num mesmo horário do dia (entre 12:00 e 16:00). Os animais utilizados foram selecionados com tamanhos corporais similares.

O registro dos confrontos foi iniciado imediatamente após a introdução do estímulo (pareamento com coespecífico) início do primeiro confronto.

Etograma da interação agonística em tilápia-do-Nilo

As interações agonísticas foram registradas com base no etograma para tilápia-do-Nilo elaborado por Alvarenga & Volpato (1995).

AMEAÇA: o peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encosta-la no corpo do oponente.

FRONTAL: dois peixes se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo, ou um morde a mandíbula do outro sem ondulação caudal.

LATERAL: um animal se aproxima do outro, geralmente com a nadadeira dorsal e riçada, e emite golpes com a boca aberta ou mordidas na região lateral do oponente, podendo ocorrer nas nadadeiras caudal, anal e dorsal, no ventre e no dorso.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam o corpo simultaneamente, geralmente sem ocorrência de contato físico direto entre eles.

FUGA: o peixe perseguido ou atacado se afasta rapidamente do local de confronto.

PERSEGUIÇÃO: um animal nada em direção ao outro, acompanhando a sua trajetória.

Foi avaliada a latência para os confrontos em cada tratamento experimental. As frequências emitidas dos itens agonísticos foram quantificadas para o dominante, o submisso. O tempo para a definição da hierarquia social foi determinado, de acordo com Falter (1983), a partir do momento em que um dos animais (submisso) deixa de atacar e começa a fugir do outro indivíduo (dominante).

Após a determinação dos indivíduos (dominantes e submissos) os animais foram distribuídos em 10 aquários com capacidade de 55 litros, sendo dois animais por aquário, com quatro repetições por tratamento. Estes foram divididos com placas de vidro translúcidas, onde os animais não tiveram contato “físico” mas comunicação química por meio de um sistema de bombeamento que possibilita a passagem água de ambos os lados. O mesmo procedimento ocorreu para comunicação visual, entretanto o indivíduo não teve contato com a água do coespecífico. O animal isolado não recebeu água de nenhum outro peixe e nem teve contato visual.

Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes

Para realização da coleta de fezes, foi necessária a adaptação de uma mangueira coletora, que após a decantação das mesmas foram removidas por meio de sifonagem sendo armazenadas em potes e levadas ao freezer para armazenagem.

A temperatura e oxigênio dissolvido da água dos aquários de digestibilidade e de alimentação foram mantidos por meio de aquecedores (26,0°C) e pedra porosa

acoplada a um aerador central (6,50 mg/L), respectivamente. O nível de amônia foi monitorado e mantido em níveis abaixo de 0,01 mg/L, por meio de sifonagem e reposição de água, sendo a qualidade da água dos aquários manteve-se dentro das recomendações para espécie (Boyd, 1996).

Os peixes foram alimentados durante o dia, onde receberam refeições à vontade das 8:30 até as 17:30 horas, por meio de arraçãoamento manual.

Após o período de alimentação e de coleta de fezes, foi efetuada limpeza dos aquários, preparando-os para nova coleta (repetição/dia).

Foram necessários seis meses de coleta de fezes realizada diariamente, após a coleta estas foram desidratadas em estufa com ventilação forçada (55,0°C/48 horas), moídas e armazenadas a -20,0°C.

As análises químico-bromatológicas dos alimentos, rações e fezes e a determinação da concentração de crômio-III, das fezes e rações foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ, UNESP – Câmpus de Botucatu-SP. A determinação da proteína foi realizada segundo a AOAC (2000). As análises para determinação da concentração de crômio-III, das fezes e rações, foram realizadas segundo Bremer Neto *et al.* (2005). O coeficiente de digestibilidade aparente (MS,PB e EB) foi calculado com base na seguinte fórmula (Cho *et al.* 1987):

$$CDA(\%) = 100 - \left[100 - \left(\frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Em que:

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%Cr₂O_{3r} = percentagem de óxido de crômio-III na ração;

%Cr₂O_{3f} = percentagem de óxido de crômio-III nas fezes;

%N_f = percentagem de nutriente e energia nas fezes;

%N_r = percentagem de nutriente e energia na ração.

Efeito no tempo de trânsito gastrintestinal

Para determinação do tempo de trânsito gastrintestinal da dieta foi utilizado o método descrito por Storebakken *et al.* (1998). Após o ensaio de digestibilidade, quando os peixes dos diferentes grupos de dominância estavam sendo alimentados com a dieta marcada (marcador inerte) com óxido de cromo-III (0,1%), que confere coloração verde as fezes, os peixes receberam dieta marcada com óxido de titânio (0,1%) que confere cor branca as fezes.

A partir da mudança do indicador na dieta, a cada 60 minutos realizamos análise visual nas fezes, com objetivo de detectar o momento da alteração na cor das mesmas. As amostras de fezes receberão notas 0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 de acordo com a intensidade da cor branca. Foi considerado completato o tempo de trânsito gastrintestinal dos peixes quando todos os indivíduos de um ensaio tiveram obtido a máxima de pontuação (Carneiro, 1990). Este processo foi repetido por três vezes, caracterizando 12 repetições por tratamento.

Efeito na morfometria das vilosidades e cripta do intestino

Foram utilizados 10 peixes (dois peixes de cada tratamento) para a análise morfológica da estrutura da vilosidade e da cripta do tecido epitelial do intestino dos peixes. Os peixes foram anestesiados com benzocaína, na concentração de 2,0 g/15L de água, e após a dessensibilização completa, foram eutanasiados por secção da medula espinhal (procedimento convencional para a espécie).

Em seguida, o trato gastrointestinal de cada peixe foi retirado e isolado o intestino. Fragmentos da porções anterior e posterior do intestino foram lavados com solução fisiológica 0,9% e fixados em formalina tamponada por 24 horas.

Posteriormente, o material foi lavado em álcool 70,0% por várias vezes para a retirada do fixador e, em seguida, processado e incluído em historesina. Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2165, e corados em Hematoxilina e Eosina (H/E), segundo técnica descrita por Bancroft *et al.* (1990).

Após a preparação das lâminas, foram realizadas as leituras da altura de vilo e profundidade de cripta, que foram realizados com auxílio de microscópio ótico, do Laboratório de Histologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ - Unesp, Botucatu.

Análise estatística

Os dados de digestibilidade e trânsito gastrointestinal foram representados de forma descritiva, os dados de morfometria avaliados pela análise de variância multivariada (Manova), considerando altura de vilos e profundidade de cripta. As análises foram realizadas no software Minitab 16.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito na digestibilidade aparente dos nutrientes e energia

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente da ração, dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Coeficientes de digestibilidade aparente da ração pela tilápia-do-Nilo submetida ao estresse comportamental.

Tratamento	CDA (%)		
	MS	PB	EB
Isolado	98,08	99,09	98,03
Químico dominante	97,74	98,75	98,14
Químico submisso	97,80	98,78	97,99
Visual dominante	97,97	98,83	98,21
Visual submisso	98,00	99,09	98,23

CDA = coeficientes de digestibilidade aparente; MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EB = energia bruta

Conforme observado (Tabela 2) os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente da ração se mostraram elevados para os cinco tratamentos, com médias acima das apresentadas para a espécie por Furuya *et al.* (2010) . Observou ainda, que não houve diferença entre os tratamentos, que pode ter ocorrido em função do tempo exposição dos peixes, pois podem ter criado uma resposta adaptativa em função do estresse ser crônico.

A não se observou diferença entre tratamentos para os valores digestíveis da ração, podendo atribuí-los a lixiviação dos nutrientes da ração na água dos aquários, em função da engenharia do sistema utilizado para manutenção da hierarquia de dominância. Embora a provável perda de nutrientes da ração e mesmo das fezes ao meio, sejam suficientes para exacerbar os valores de digestibilidade, acredita-se que o manejo alimentar e a técnica de coleta de fezes adotados nesse estudo, não diferiram muito daqueles utilizados em outros estudos de digestibilidade . No período de coleta de material para esse estudo, observou-se acentuado efeito da hierarquia de dominância no comportamento alimentar dos peixes. Após a oferta da dieta, os animais dos tratamentos isolado, químico dominante, visual dominante e submisso, buscavam imediatamente os peletes. Entretanto, o peixe químico submisso demorava um tempo maior para abordagem da dieta e ingeria menor quantidade que aqueles dos demais tratamentos.

Com ao fato de que os peixes tinham que permanecer isolados e expostos a um estresse hierárquico crônico, conforme observado como resultado uma diminuição na quantidade de ração ingerida, e consequentemente a obtenção de pequena quantidade de fezes, principalmente nos tratamentos químico submisso e visual submisso.

Em condições normais, os animais agrupados têm o efeito de diluição da dominância e submissão, embora haja aumento do estímulo da competição alimentar. Neste estudo, concluímos que o isolamento exacerbou o efeito da hierarquia, reduzindo o estímulo da competição alimentar e, consequentemente, a ingestão da ração.

Efeito na morfometria das vilosidades e cripta do intestino

As análises morfométricas do intestino dos peixes entre os diferentes tratamentos apresentaram diferenças significativas entre as três porções avaliadas (proximal, medial e distal). Observou-se que para o animal isolado (controle) houve aumento no par altura de vilo (av):profundidade de cripta (pc) na porção distal do intestino. Já para os peixes do tratamento químico dominante não houve diferenças significativas entre as porções intestinais. No entanto, os animais submissos apresentaram diferenças significativas entre as porções avaliadas, sendo que a região proximal exibiu maiores valores. Por outro lado, os peixes do tratamento visual dominante e submisso, apresentaram as maiores valores para a região proximal (Tabela 3).

Tabela 3: Análises morfométricas das porções intestinais da tilápia-do-Nilo, medida da altura de vilo e profundidade de cripta.

	Proximal		Medial		Distal		
Tratamento							MANOVA
	AV (µm)	PC	AV (µm)	PC	AV (µm)	PC	
Isolado	157,2	40,2	110,9	26,0	179,1	53,3	p<0,01
Químico dominante	171,0	39,6	184,9	44,5	167,1	38,2	p>0,05
Químico submisso	251,4	69,9	160,6	52,5	60,7	13,2	p<0,01
MANOVA	p<0,01		p<0,01		p<0,01		
Visual dominante	214,7	42,2	145,4	47,5	140,6	38,2	p<0,01
Visual submisso	221,6	47,7	165,5	34,1	158,7	41,1	p<0,01
MANOVA	p<0,05		p<0,01		p>0,05		p<0,01

AV/PC = altura de vilo/profundidade de cripta;

MANOVA: análise de variância multivariada

Comparando-se o tratamento controle (isolado) com os demais, constatou-se que para regiões proximal e medial no par (av:pc) foram significativamente influenciadas pelo estresse hierárquico nas diferentes condições (químico e visual).

No entanto, para o tratamento visual não houve diferenças significativas na porção distal do intestino, sendo que para o químico submetido apresentou diferença do químico dominante e do isolado para essa região (Tabela 3).

Pode-se observar que o aumento do par (av:pc) deve ser consequência do estresse hierárquico e das diferentes condições a que os peixes foram submetidos. Segundo Caballero *et al.* (2003), o intestino é o órgão envolvido em importantes funções fisiológicas, sendo o principal local de digestão dos alimentos e de absorção de nutrientes. Por conseguinte, o melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta depende muito da eficácia dessas funções. O equilíbrio entre a renovação celular e a perda de células, que ocorre normalmente no epitélio intestinal, determina um turnover celular constante, o que possibilita a manutenção do tamanho dos vilos e a capacidade de digestão e de absorção intestinal (Caballero et al., 2003).

Na presente pesquisa observou-se que a porção proximal do intestino dos peixes foi a que se caracterizou como a região onde ocorreram os maiores efeitos do estresse hierárquico, se comparado às demais porções. Por outro lado, se destaca que o epitélio intestinal dos peixes do tratamento químico dominante se mostraram similares nas três porções estudadas.

Os efeitos do estresse no epitélio intestinal, com alteração na permeabilidade epitelial dos peixes, foram também observadas em mamíferos por Söderholm & Perdue, (2001). Estes autores constataram os efeitos do estresse e o aumento da permeabilidade epitelial (mucosa) e concluíram que esse processo pode levar a maior captação de macromoléculas e, conseqüentemente, aumento na altura da vilosidade.

Entretanto, quando o intestino é submetido a algum agente estressor como à presença de microorganismos patogênicos, e o estresse em suas diferentes condições, pode ocorrer o desequilíbrio no turnover, com modificação na altura e no perímetro (Pelicano, 2003).

Dentre os tratamentos visual e químico, pode-se observar que o químico imprime maior efeito na permeabilidade epitelial (mucosa), o que o caracteriza como a melhor opção para avaliação morfométrica no intestino, em estudos de estresse hierárquico.

Nas figuras 1,2 e 3 estão representados os cortes histológicos realizados do intestino dos peixes, caracterizando a região proximal, sendo esta a mais afetada pelo estresse hierárquico.

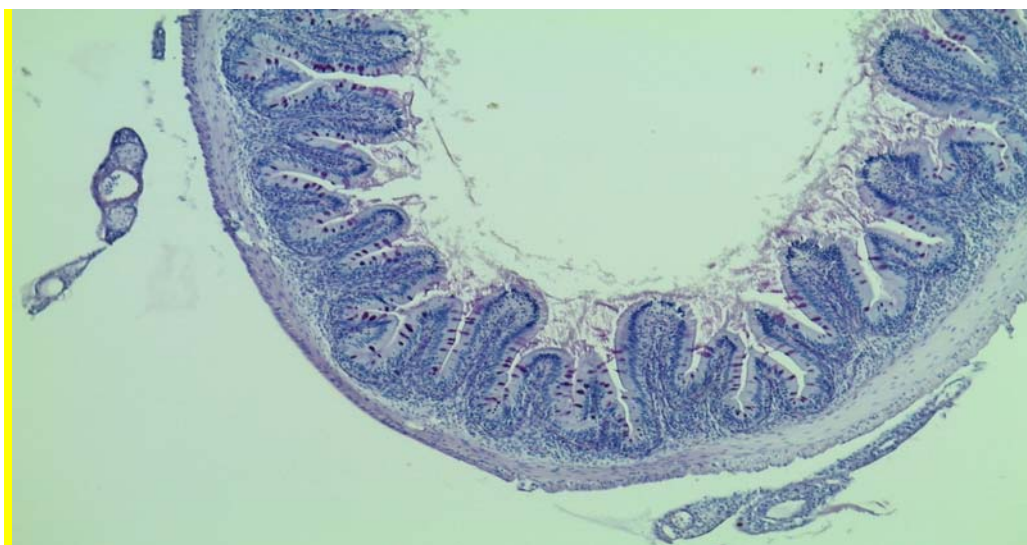


Figura 1: Corte do intestino da região proximal do tratamento isolado.

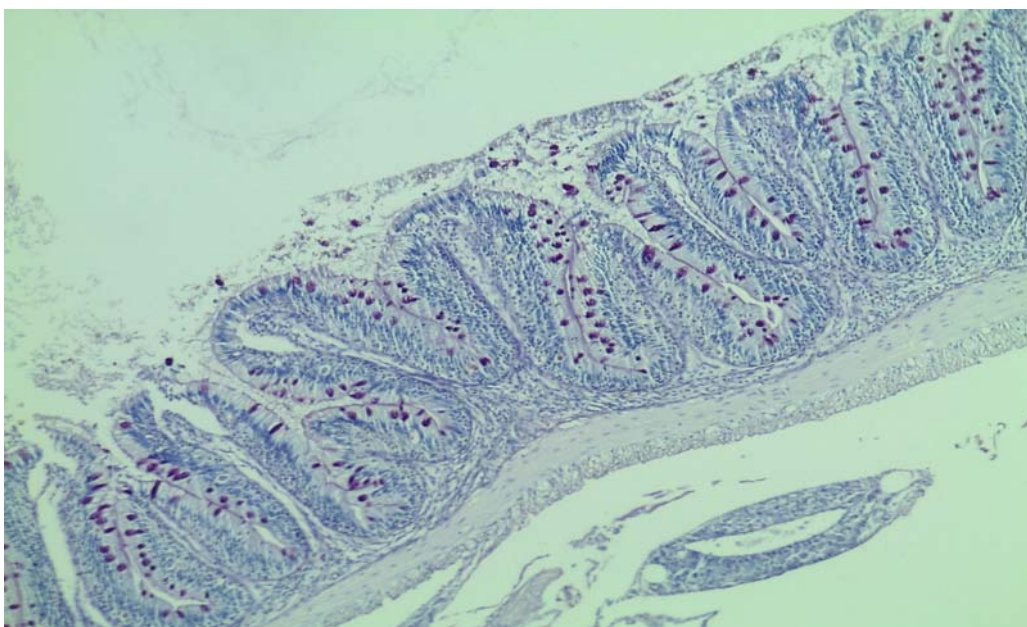


Figura 2: Corte do intestino da região proximal do tratamento químico submisso.

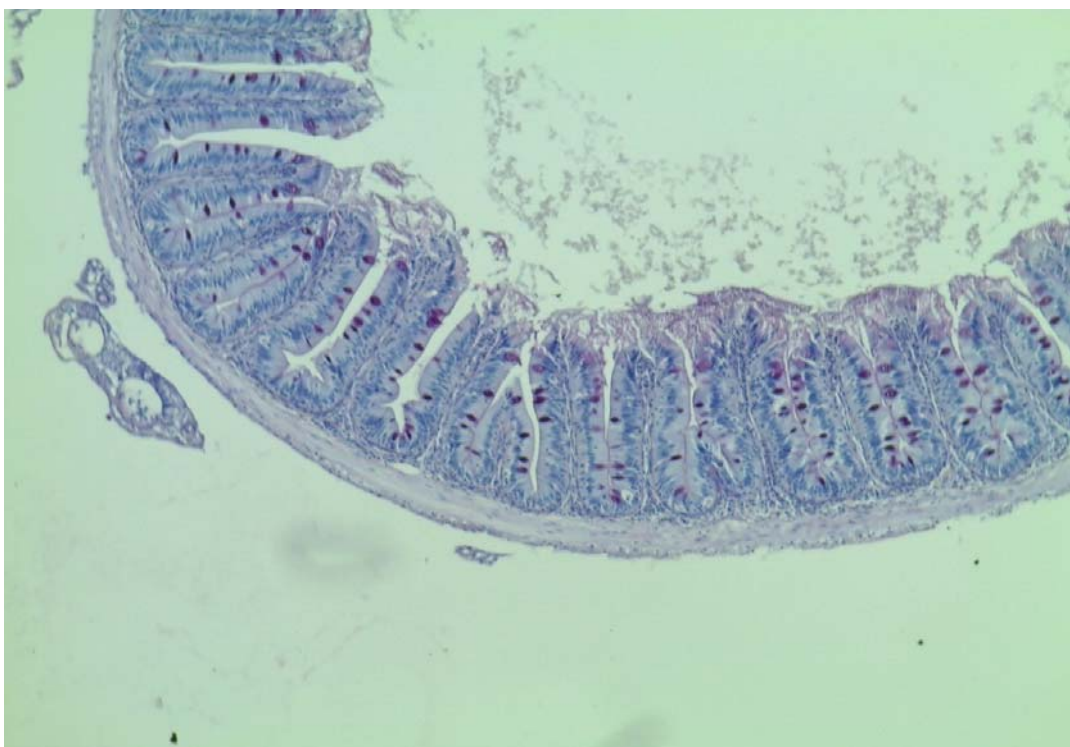


Figura 3: Corte do intestino da região proximal do tratamento visual submisso.

Efeito no tempo de trânsito gastrintestinal

O efeito do estresse de hierarquia de dominância e submissão no tempo de trânsito gastrintestinal, para as três semanas de avaliação encontram-se apresentados, respectivamente, nas Figuras 4, 5, 6.

Pode-se observar que o estresse de dominância e submissão teve efeito no tempo de trânsito gastrintestinal dos peixes, nos três períodos avaliados, apresentando comportamento similar nas três semanas. Observa-se que nos animais dos tratamentos isolado, químico submisso e visual submisso houve um menor tempo de trânsito da ingesta, comparado aos demais tratamentos. Entretanto, para os animais químico dominante e visual dominante observou-se um tempo maior para a motilidade do bolo alimentar (Figuras 4, 5 e 6).

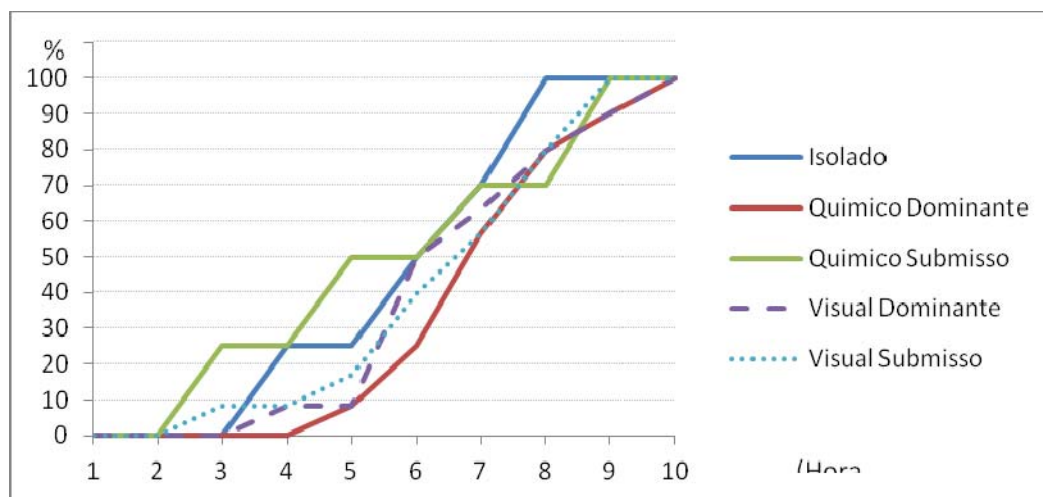


Figura 4: Tempo de trânsito gastrointestinal na primeira semana de observação

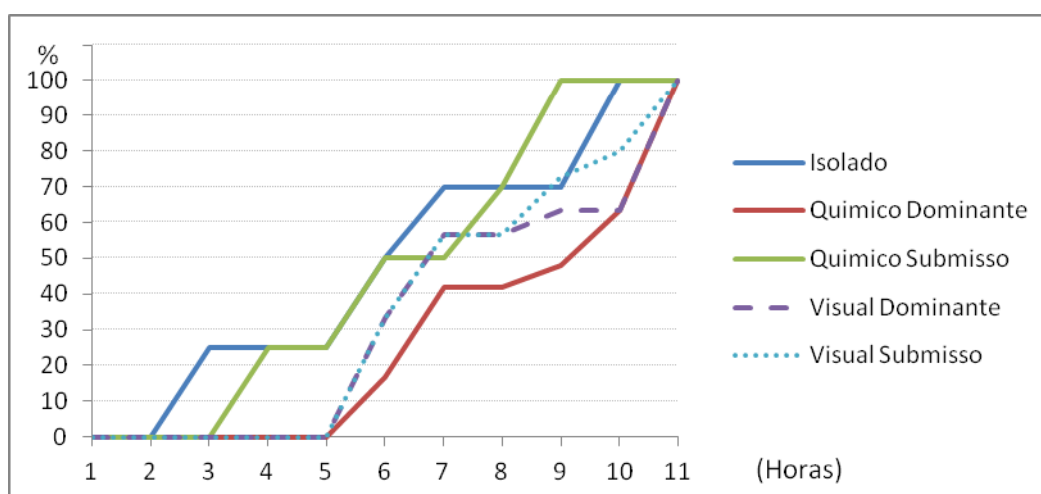


Figura 5: Tempo de trânsito gastrointestinal na segunda semana de observação

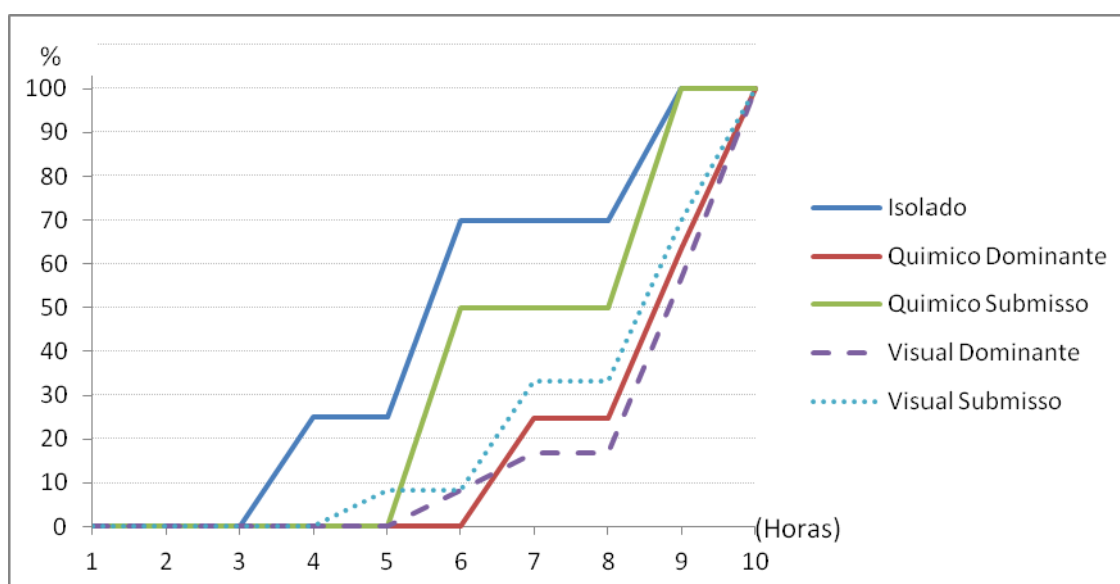


Figura 6: Tempo de trânsito gastrointestinal na terceira semana de observação

As observações das três semanas mostram que o trânsito intestinal em animais submissos, em ambos tratamentos em média duas horas mais rápido que os demais tratamentos, sugerindo que o estresse pode ter alterado as funções gastrintestinais, uma vez que estes animais necessitam de mais energia para atender suas funções fisiológicas.

A ação do estresse na motilidade gástrica e na secreção de enzimas digestivas foi destacada por Lana *et al* (2004), considerou que as respostas gastrintestinais podem ser adaptativas dentro da fisiologia do animal, como resposta compensatória ao estresse sofrido, no sentido de economizar energia e aumentar a eliminação de resíduos desnecessários ao organismo, e como consequência principal a diminuição de seu ganho de peso e absorção dos nutrientes.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que a região proximal do intestino é mais adequada para avaliar o efeito do estresse por meio da relação altura de vilo e profundidade de cripta e o estresse hierárquico aumenta a velocidade de trânsito da ingesta em até duas horas, em relação aos peixes submissos.

REFERÊNCIAS

Aoac Association of official agricultural chemists. 2000. Official methods of analysis. Washington, DC. **12**.

Alvarenga, C. M. D. & Volpato, G. L. 1995. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiology Behaviour*, **57**, 75-80.

Bancroft JD. 1990. Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone, **3**.

Baldisserotto B. 2002. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. *UFSC Santa Maria*, 212.

Barbosa FAR, Galdean N. 1997. Ecological taxonomy: a basic tool for biodiversity conservation. *Tree*, **12**, 359-360.

Bremer-Neto H, Graner, CAF, Pezzato, LE. 2005. The spectrophotometric method on the routine of 1,5 diphenylcarbazine was adjusted on chromium determination in feces, alter its utilization as a biological marker as chromium (III) oxide. *Ciência Rural* **25**, 691-697.

Boyd CE. 1996. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Shrimp Mart (Thai) Co. Ltd. Hatyai, Songkhla 482.

Carneiro DJ. 1990. Efeito da temperatura na exigência de proteína e energia em dietas para alevinos de pacu *Piaractus mesopotamicus*. Tese (Doutorado) ecologia e Recursos Naturais – UFSCar.

Cho CY. 1987. La energia en la nutrición de los peces. In: *Nutrición en Acuicultura* Madrid-España 197-237.

Falter U. 1983. Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bulletin de la Classe des Sciences* **69**, 566-593.

Forrester GE. 1991. Social rank, individual size and group position as determinants of food consumption by humbug damselfish, *Dascyllus aruanus*. *Animal Behav* **42**, 710-711.

Furuya WM, Pezzato LE, Pezzato AC, Barros MM, Miranda ED. 2001. Coeficiente de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec* **30**, 1143-1149.

Furuya WM., et al. 2010. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias. Toledo, PR.

Gómez-Laplaza LM, Morgan E. 2000. Laboratory studies of the effects of short-term isolation on aggressive behaviour in fish. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* **33**, 63-102.

Huntingford F, Turner A. 1987. *Animal Conflict*. Chapman and Hall, New York, 448.

Lanna EAT, Pezzato LE, Cecon PR, Furuya WM, Bomfim MAD. 2004. Digestibilidade aparente e trânsito gastrointestinal em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em função da fibra bruta da dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia* **33**, 2186-2192.

Lehner PN. 1996. *Handbook of Ethological Methods*. Cambridge University Press, United Kingdom 672.

Oliveira RF, Almada VC. 1996. Dominance hierarchies and social structure in captive groups of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Ethology Ecology and Evolution* **8**, 39-55.

Pelicano ERL, Souza PA, Souza HBA, Obab A, Norkus CEA, Kodawarac LM, Lima TA. 2003. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinária* **98**, 125-134.

Pezzato LE, Miranda, EC, Barros, MM, Furuya, WM, Pinto, LGQ. 2002. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *R. Bras. Zootec* **31**, 1595-1604.

Pezzato LE, Cyrino JEP. 2004. Nutrição de Peixes. Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva. *Aquabil* **1**, 75-170.

Possompes BD. 1973. Mise au point d'une méthode d'étude du transit gastro-intestinal chez la truite ar-en-ciel *Salmo gairdneri*: Influence du nombre de repas, des quantités ingérées et la température d'acclimatation. *Ann Hydrobiol* **6**, 131-143.

Ridley M. 1995. Animal Behavior. Blackwell Scientific Publications, Boston, 288.

Söderholm JD, Perdue MH. 2001. Stress and intestinal barrier function. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **280**, 7-13.

Storebakken KD, Shearer KD, Roem AJ. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy protein concentrate and phytase treated soy protein based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* **161**, 365-379.

Shiau SY, Yu HL, Hwa S, Chen SY, Hsu SI. 1988. The influence of carboxymethylcellulose on growth, digestion, gastric emptying time and body composition of tilapia. *Aquaculture* **70**, 345-354.

Volpato GL, Frioli PMA, Carrieri MP. 1989. Heterogeneous growth in fishes; Some new data in the Nile tilapia and a general view about the casual mechanisms. *Bol.Fisiol.Anim* 13-22.

Capítulo III

Estresse de dominância e respostas metabólicas da tilápia-do-Nilo: Efeito nos parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Resumo – A hierarquia de dominância e o confronto agonístico causam estresse aos animais. Essa pesquisa objetivou quantificar o efeito do estresse após o estabelecimento da hierarquia social avaliando as respostas metabólicas entre juvenis de tilápia-do-Nilo. Foram distribuídos 20 peixes machos em 10 aquários com capacidade de 110 litros, adotado um delineamento inteiramente casualizado totalizando cinco tratamentos com quatro repetições. Os animais foram alimentados com ração prática contendo 28,0% de proteína bruta e 3000 kcal de energia digestível. Foi realizada a divisão hierárquica dos indivíduos em dominantes e submissos segundo Falter (1983). Para o tratamento de comunicação visual, os aquários foram divididos com placas de vidro translúcidas, onde os animais não tiveram contato “físico” não havendo nenhum tipo de contato com a água do coespecífico; para o tratamento de comunicação química havia um sistema de bombeamento que homogeneizava a água dos animais, não havendo nenhum tipo de contato visual com o coespecífico. O animal isolado não recebeu água de nenhum outro peixe e nem teve contato visual. As avaliações do efeito do estresse hierárquico foram medidas por meio de da quantificação de parâmetros hematológicos e bioquímicos. A análise de variância entre os diferentes tratamentos mostrou efeito significativo para os níveis de glicose. Conclui-se que o estresse hierárquico não influenciou nos parâmetros hematológicos. Os peixes classificados como dominantes, em ambos os tratamentos (químico e visual) exibiram menores taxas de glicose.

Palavras-chaves: estresse, hematologia, glicose, hierarquia.

Dominance stress and metabolic responses of the Nile tilapia: Effect on hematological and biochemical parameters.

Abstract - The dominance hierarchy and agonistic confrontation cause stress to the animals. This study aimed to quantify the effect of stress after the establishment of social hierarchy evaluating metabolic responses between the juvenile Nile tilapia. 20 male fish were distributed in 10 tanks with a capacity of 110 liters, adopted an outline fully randomized total of five treatments with four replications. The animals were fed a practical diet containing 28.0% crude protein and 3000 kcal of digestible energy. The hierarchical division of the individuals were in dominant and submissive second Falter (1983). For the treatment of visual communication, aquaria were divided plates with translucent glass, where the animals had no "physical" contact not having any type of contact water conspecific eat; for the treatment of chemical communication had a pumping system that homogenized water animals, without any eye contact with the conspecific. The isolated animal received no water no other fish and even had eye contact. The effect of the hierarchical stress ratings were measured by the quantitation of haematological and biochemical parameters. Analysis of variance between the different treatments showed significant effects glucose levels. It is concluded that the hierarchical stress did not affect the hematological parameters. The fish classified as dominant in both treatments (chemical and visual) showed lower rates of glucose.

Key words: stress, glucose, hierarchy.

INTRODUÇÃO

O estresse nos animais pode ocorrer por vários motivos, como fome, fadiga, lesão, temperatura ambiente extrema, ou até por fatores psicológicos como contenção, manejo ou variação no manejo, assim como por fatores comportamentais de hierarquia ou de dominância social dentro de uma população (Volpato, 1989)

Segundo Wilson (1975) o principal fator de determinação da organização de um grupo é o comportamento de dominância. As lutas se intensificam rapidamente, mas após o estabelecimento da hierarquia de dominância, as interações agonísticas são reduzidas prevalecendo exibições de baixa intensidade de agressividade e baixo custo energético (Johnsson, Sernland, Blixt, 2001).

É frequentemente observada em criações de certas espécies de peixes uma clara relação hierárquica, notando-se também um crescimento desigual entre a ninhada. Tal fenômeno foi observado por Volpato, Frioli, Carrieri (1989) estudando o comportamento agonístico e territorial da tilápia.

Assim, segundo Ang & Manica (2010) o agrupamento de peixes sociais por similaridade de tamanho pode aumentar as interações agressivas, pois animais de tamanhos semelhantes possuem a mesma habilidade de luta. Portanto, a demora para estabelecimento hierárquico aumenta o estresse social e as chances de mortalidade pelo gasto excessivo de energia e injúrias físicas decorrentes das interações agressivas (Turnbull, Adams, Robertson 1998).

As necessidades de informações sobre situações de estresse ou enfermidades a fim de assegurar a saúde dos peixes. Nesse contexto, as variáveis hematológicas assumem importância como meio de auxiliar nos diagnósticos (Tavares-Dias *et al.* 2000). O uso de parâmetros hematológicos, como indicadores de saúde, foi proposto por Hesser (1960). Porém, esta técnica tem sido modestamente utilizada em sistemas de produção. Contudo, Ranzani-Paiva e Silva-Souza (2004) ressaltaram que avaliações sanguíneas relacionadas à respostas fisiológicas dos peixes têm sido mais frequentemente adotadas por pesquisadores.

Quando o peixe é exposto a um agente estressor ambiental e/ou social, iniciam-se as alterações primárias pelo acionamento do hipotálamo pelas vias dos sentidos, ocorrendo à ativação de dois eixos ocorrendo a liberação hormônios.

A ação destes atinge diversos órgãos, especialmente naqueles que estão sob os múltiplos controles endócrino, resultam em modificações bioquímicas e fisiológicas (estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, diminuindo as proteínas musculares, aumentando os batimentos cardíacos, marcando o início da resposta secundária (Wendelaar Bonga 1997).

Dessa forma, esta pesquisa teve por objetivo avaliar as respostas hematológicas e bioquímicas tilápia-do-Nilo submetida ao estresse hierárquico (dominantes e submissos).

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida na Univ. Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes - AquaNutri. A dieta (Tabela 1) foi formulada contendo 28,0% de Proteína Digestível (PD) e 3000 kcal de Energia Digestível (ED)/kg de ração, conforme recomendação de Pezzato *et al.* (2004), Furuya *et al.* (2010).

A dieta foi balanceada de acordo com os valores de proteína e aminoácidos digestíveis determinadas por Furuya *et al.* (2001), sendo os demais valores utilizados de acordo com os coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos determinados representados na Tabela1 por Pezzato *et al.* (2002).

Esta ração foi empregada para os diferentes estudos desta pesquisa. Para o estudo de digestibilidade foi introduzida na ração 0,1% de óxido de cromo-III, como marcador inerte para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e energia pelos grupos experimentais.

A dieta foi balanceada de acordo com os valores de proteína e aminoácidos digestíveis determinadas por Furuya *et al.* (2001), sendo os demais valores utilizados de acordo com os coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos determinados representados na Tabela1 por Pezzato *et al.* (2002).

Tabela 1: Composição percentual calculada para dieta prática.

Ração Experimental	
Ingredientes	(%)
Farelo de soja	46,68
Glúten de milho	6,00
Farelo de trigo	7,40
Fubá de milho	34,72
Óleo de soja	0,91
DL-Metionina	0,19
L-Treonina	0,30
L-Triptofano	0,04
Fosfato Bicálcico	1,99
BHT	0,02
Sal comum	0,10
Vitamina C	0,05
Premix vit e mineral	1,50
Óxido de Crômio - III	0,10
Total	100

Premix vitamínico mineral ,níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16000 UI; vitamina D3, 4500 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina C, 350 mg; vitamina B₁, 32 mg; vitamina B₂, 32 mg; vitamina B₆, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B₁₂, 32 µg; Na₂SeO₃, 0,7 mg; MnO₂, 50mg; FeSO₄, 150 mg; CuSO₄, 20 mg; CoSO₄, 0,5 mg; I₂Ca, 350 mg.

Os peixes foram submetidos ao processo de extrusão em equipamento de rosca simples (Extrutech®), com capacidade para processar 20 kg.h⁻¹ de ração, e péletes com diâmetro geométrico médio (DGM) aproximado de 3,0 mm.

Previamente à extrusão, os ingredientes foram moídos (peneira com diâmetro de 0,70 mm) e submetidos à peneira Tyler-35 para que apresentassem diâmetro inferior a 0,7 mm; e os micro-ingredientes foram previamente misturados com o milho em moinho tipo Y. Posteriormente a extrusão as rações foram secas em estufa de ventilação forçada, a temperatura de 55 °C por 24h, e foram armazenadas à temperatura de 5 °C.

Foram utilizados 20 juvenis machos de tilápia-do-Nilo (não revertidos) provenientes da piscicultura Fernandes (Palmital-SP), os quais foram mantidos em biotério (1 peixe/4L) por 30 dias antes do início dos estudos.

Nessas condições ficaram sob fotoperíodo das 6 horas às 18 horas, com alimentação diária experimental, oferecida em quatro porções diárias (5% da biomassa) nos horários estabelecidos (8h30min, 11h30min, 14h30min e 17h30min), água com temperatura entre 25 e 27°C, oxigênio > 5,0 mg O₂/L, Nitrito < 20 mg/L e Amônia < 0,05 mg/L (Boyd, 1996).

Determinação hierárquica

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados 20 juvenis de tilápia, no qual foi determinado o grau hierárquico, onde os testes de pareamento foram conduzidos num mesmo horário do dia (entre 12:00 e 16:00). Os animais utilizados foram selecionados com tamanhos corporais similares.

O registro dos confrontos foi iniciado imediatamente após a introdução do estímulo (pareamento com coespecífico) início do primeiro confronto.

Etograma da interação agonística em tilapia-do-Nilo

As interações agonísticas foram registradas com base no etograma para tilápia-do-Nilo elaborado por Alvarenga & Volpato (1995).

AMEAÇA: o peixe se aproxima lateralmente de outro e abre a boca sem encosta-la no corpo do oponente.

FRONTAL: dois peixes se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo, ou um morde a mandíbula do outro sem ondulação caudal.

LATERAL: um animal se aproxima do outro, geralmente com a nadadeira dorsal e riçada, e emite golpes com a boca aberta ou mordidas na região lateral do oponente, podendo ocorrer nas nadadeiras caudal, anal e dorsal, no ventre e no dorso.

PARALELO: dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam o corpo simultaneamente, geralmente sem ocorrência de contato físico direto entre eles.

FUGA: o peixe perseguido ou atacado se afasta rapidamente do local de confronto.

PERSEGUIÇÃO: um animal nada em direção ao outro, acompanhando a sua trajetória.

Foi avaliada a latência para os confrontos em cada tratamento experimental. As frequências emitidas dos itens agonísticos foram quantificadas para o dominante, o submisso. O tempo para a definição da hierarquia social foi determinado, de acordo com Falter (1983), a partir do momento em que um dos animais (submisso) deixa de atacar e começa a fugir do outro indivíduo (dominante).

Após a determinação dos indivíduos (dominantes e submissos) os animais foram distribuídos em 10 aquários com capacidade de 55 litros, sendo dois animais por aquário, com quatro repetições por tratamento. Estes foram divididos com placas de vidro translúcidas, onde os animais não tiveram contato “físico” mas comunicação química por meio de um sistema de bombeamento que possibilita a passagem água de ambos os lados. O mesmo procedimento ocorreu para comunicação visual, entretanto o indivíduo não teve contato com a água do coespecífico. O animal isolado não recebeu água de nenhum outro peixe e nem teve contato visual.

Efeito nos parâmetros hematológicos e bioquímicos

Para a realização das análises hematológicas e bioquímicas, quatro peixes/tratamento foram anestesiados (benzocaína, 1 g 15 L⁻¹ de água) e, após estarem sedados, foi realizada coleta de sangue por punção da veia caudal, com seringa de 1,0 mL com anticoagulante EDTA a 3,0%.

Foram determinados o número de eritrócitos, taxa de hemoglobina, os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total, albumina, globulina, glicose e triacilglicerol.

A contagem do número de eritrócitos foi realizada pelo método do hemocítometro em câmara de Neubauer, utilizando-se Azul de Toluidina Merck a 0,01% em pipeta automática, na proporção 1:200.

A taxa de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se kit comercial Labtest® para determinação colorimétrica. O hematócrito foi obtido utilizando-se o método do microhematócrito. Com base nos resultados obtidos nessas análises, foram calculados os índices hematimétricos volume corpuscular médio [$VCM = (\text{Hematócrito} \times 10) / \text{eritrócitos}$] e concentração de hemoglobina corpuscular média [$CHCM = (\text{Taxa de hemoglobina} \times \text{Hematócrito}) \times 100$], conforme Wintrobe (1934).

A proteína plasmática total (PPT) foi mensurada por meio do uso de refratômetro manual de Goldberg, pela quebra do capilar de microhematócrito logo acima da camada de leucócitos, após a leitura do hematócrito. Para a análise de albumina foram coletadas amostras de sangue sem anticoagulante. Estas foram centrifugadas em centrífuga refrigerada a 3000 rpm durante 10 minutos para a obtenção do soro. A quantidade de albumina foi determinada pelo método do verde de bromocresol utilizando-se kit comercial Labtest®, para determinação colorimétrica. A quantidade de albumina e proteína plasmática permitiu determinar a quantidade de globulina no soro.

As análises de glicose, triacilglicerol e colesterol foram realizadas com o uso de kits específicos Labtest® conforme as instruções do fabricante, sendo feita leitura em espectrofotômetro.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e em caso de diferença significativa foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey, com auxílio do software Minitab®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliando-se o número de eritrócitos (ERIT), taxa de hemoglobina (HB), percentual de hematócrito (HTC) e os índices hematimétricos (VCM e CHCM) dos juvenis de tilápia-do-Nilo, submetidos ao estresse hierárquico, observou-se que os diferentes tratamentos não influenciaram significativamente essas variáveis (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros hematológicos de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidas ao estresse comportamental hierárquico.

Tratamento	ERIT ($10^6 \mu^{-1}$)	HTC (%)	HB (g dL ⁻¹)	CHCM (%)	VCM (fL)
Isolado	1,2±0,2	17,6±3,6	4,5±0,8	37,6±4,5	148,9±28,2
Químico dominante	1,5±0,1	17,9±0,9	5,0±0,4	34,4±4,5	123,6±15,4
Químico submisso	1,3±0,2	17,4±3,6	4,4±0,7	35,3±4,3	138,7±21,9
Visual dominante	1,3±0,1	18,1±3,8	4,8±0,9	37,3±3,6	139,3±15,7
Visual submisso	1,3±0,2	20,2±1,8	4,5±0,9	34,9±1,9	163,6±52,8

ERIT=número de eritrócitos; HTC= porcentagem de hematócrito; HB= taxa de hemoglobina; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; VCM= volume corpuscular médio. Não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos $p>0,05$.

A hematologia tem sido empregada em diversos estudos como ferramenta de avaliação do estado de saúde dos peixes (Araújo *et al.* 2011, Hrubet & Smith, 2006), permitindo avaliar as condições de defesa orgânica e identificar as respostas dos animais frente aos desafios de forma eficaz (Ranzani-Paiva & Silva-Souza, 2004, Ranzani-Paiva *et al.* 2013).

Os tratamentos empregados não houveram diferença ($P>0,05$) para contagem total de hemácias, o percentual de hematócrito, o teor de hemoglobina e os índices hemantimétricos (VGM, HCM e CHCM) entre os diferentes tratamentos. De acordo com Ranzani-Paiva (1991), as oscilações dos valores hematológicos, em peixes influenciadas pela temperatura, teor de oxigênio dissolvido, salinidade e pH, assim como estresse, entre outros. O autor enfatiza que essa variação ocorre não só entre as espécies, mas também dentro de uma mesma espécie, de acordo com as condições fisiológicas do animal.

O comportamento agressivo e outras formas de competição interespecífica como dominância social e territorialidade podem expor os peixes a uma condição de estresse, desencadeando os mecanismos de respostas fisiológicas adaptativas, sendo estas mais pronunciadas em indivíduos submissos. Entretanto a elevação destes níveis pode resultar em mudanças fisiológicas e bioquímicas tais como a mobilização de reservas energéticas para servirem de substrato para a produção de energia, requerida para manejar a situação de estresse. Assim, a hiperglicemia aparece como resultado dessas alterações metabólicas e, como observado no presente estudo, os níveis séricos de glicose foram significativamente influenciados pelos diferentes tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados dos parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo submetidos ao estresse comportamental.

<i>Tratamento</i>	<i>GLI (mg dL⁻¹)</i>	<i>TGL (mg dL⁻¹)</i>
Isolado	39,3±15,4 a	455,0±303,8
Químico dominante	29,1 ± 2,9 c	52,1±43,4
Químico submisso	35,6± 2,0 ab	226,7±213,4
Visual dominante	31,1 ± 1,3 bc	260,5±156,2
Visual submisso	40,2 ± 1,2 a	285,1±360,9

GLI= glicose; TGL= triglicerídeos. Médias seguidas de letras nas colunas iguais não diferem pelo teste de Tukey (5%).

Pode-se observar que os peixes submetidos aos tratamentos isolado, químico submisso e visual submisso apresentaram diferenças significativas dos níveis de glicose quando comparado aos demais.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Corrêa *et al.* (2006), que avaliaram a influência das relações de dominância e estresse social, sobre os níveis metabólitos plasmáticos da tilápia, observaram diferenças significativas entre os níveis séricos de glicose e triglicerídeos, quando comparados aos animais isolados e submetidos ao teste de pareamento.

Ainda segundo esses autores, esses resultados confirmaram a hipótese de que o estresse social promove a mobilização de glicose e triglicerídeos em atendimento a demanda extra de energia, decorrente da situação adversa.

Segundo Fagundes, (2005) alterações na concentração das diferentes substâncias (íons e outras não iônicas como glicose) podem afetar a osmolaridade do sangue causando imunossupressão do organismo. Dessa forma, os distúrbios nos níveis de glicose, que variam de acordo ao tipo e duração do estressor, podem ser usados como indicadores de estresse nos peixes (Tavares-Dias e Moraes, 2007).

No presente estudo (Tabela 3), embora não tenha influenciado significativamente, observou-se que os peixes submissos exibiram maiores valores de triglicerídeos, quando comparados aos animais dominantes.

Tais contestações permitem inferir que o estresse de dominância pode se constituir em fonte estressora, principalmente, aos animais submissos. Embora não tenham sido constatadas diferenças significativas em relação aos parâmetros hematológicos avaliados (Tabela 2), pode-se salientar que outras espécies de peixes e diferentes condições de criação podem influenciar os mecanismos de respostas ao estresse (Araújo *et al.* 2011, Hrubet & Smith, 2006, Ranzani-Paiva & Silva-Souza, 2004, Ranzani-Paiva *et al.* 2013).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o estresse hierárquico não tem efeito significativo nos parâmetros hematológicos de juvenis de tilápia-do-Nilo. Os peixes classificados como dominantes, em ambos os tratamentos (químico e visual), apresentaram menor taxa de glicose.

REFERÊNCIAS

Ang TZ, Manica A. 2010. Unavoidable limits on group size in a body size-based linear hierarchy. *Behav. Ecol* **21**, 819-825.

Araújo DM, Pezzato AC, Barros MM. 2011. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimulados pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **46**, 294-302.

Barbosa FAR, Galdean N. 1997. Ecological taxonomy: a basic tool for biodiversity conservation. *Tree*, **12**, 359-360.

Bonga WSE. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev* **77**, 591-625.

Boyd CE. 1996. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Shrimp Mart (Thai) Co. Ltd. Hatyai, Songkhla 482.

Corrêa SA. 2006. Effect of the establishment of dominance relationships on cortisol and other metabolic parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **36**, 1725-1731.

Falter U. 1983. Les comportements agonistiques de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) et la signification évolutive de l'incubation buccale. *Bulletin de la Classe des Sciences* **69**, 566-593.

Furuya WM. 2010. Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias. Toledo, PR.

Furuya WM, Pezzato LE, Pezzato AC, Barros MM, Miranda ED. 2001. Coeficiente de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec* **30**, 1143-1149.

Guimarães IG, Pezzato LE, Barros MM. 2008. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Nutrition* **14**, 396-404.

Hesser, EF. 1960. Methods for routine on fish hematology. The Progressive Fish Culturist, Washington, **22**, 164-171.

Hrubec TC, Smith SA. 2006. Hematology of fish. In: Feldman BF, ZINKL JG.; JAIN CN. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins **5**, 1120-1125.

Johnsson JI, Sernland E, Blixt M. 2001. Sexspecific aggression and antipredator behaviour in young brown trout. *Ethology* **107**, 587-599.

Pezzato LE, Miranda, EC, Barros, MM, Furuya, WM, Pinto, LGQ. 2002. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *R. Bras. Zootec* **31**, 1595-1604.

Ranzani-Paiva MJT. 1991. Hematologia dos peixes. In: H. S. L. *Histologia de peixes*. Unesp, Jaboticabal 65-70.

Ranzini-Paiva MJT, Silva-Souza AT. 2004. Hematologia de peixes brasileiros. In: Ranzini-Paiva MJT, Takemoto RM, Lizama M. *Sanidade de organismos aquáticos*. 89-120.

Tavares-Dias M. 2000. Haematological characteristics of Brazilian teleosts. III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*) (Osteichthyes: Characidae). *Rev. Bras. Zool* **17**, 899-926.

Turnbull JF, Adams CE, Richards RH, Robertson DA. 1998. Attack site and resultant damage during aggressive encounters in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Aquaculture* **159**, 345–353.

Volpato GL, Frioli PMA, Carrieri MP. 1989. Heterogeneous growth in fishes; Some new data in the Nile tilapia and a general view about the casual mechanisms. *Bol.Fisiol.Anim* 13-22.

Wendelaar Bonga SE. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev. Bethesda* **77**, 591-625.

Wilson EO. 1975. *Wilson Fish schools Sociobiology*, Belknap Press, Cambridge, MA 438–442.

Wintrobe MM. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *FoI. Haematol* **5**, 32-49.

Capítulo IV

IMPLICAÇÕES

Este estudo mostrou os efeitos da hierarquia de dominância sobre tratamentos químico e visual, evidenciando em alguns casos pronunciadas respostas características do estresse social. A ausência de efeitos observados em análises de digestibilidade possivelmente se deve ao método de coleta empregado, dessa forma, sugere-se a condução de estudos futuros, que avaliem métodos de coleta apropriados que possibilitem quantificar de forma mais precisa os efeitos do estresse hierárquico sobre o aproveitamento dos nutrientes pelos peixes.

É importante salientar, também, a necessidade de mais estudos a serem conduzidos nesta área de pesquisa, visto que, a literatura apresenta-se escassa. Pesquisas nesse sentido são relevantes, pois os efeitos metabólicos do estresse social, os quais são mais pronunciados em condições de cativeiro, podem constituir-se em causa de fracasso na produção final de peixes. Assim sendo, o melhor entendimento das características comportamentais da tilápia sobre aspectos morfológicos e fisiológicos, poderão fornecer subsídios para um adequado pacote de produção para esta espécie.