

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Elevação plasmática do cortisol
aumenta a agressividade em juvenis de
matrinxã, *Brycon amazonicus*.**

Mônica Serra

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

FEVEREIRO 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Elevação plasmática do cortisol
aumenta a agressividade em juvenis de
matrinxã, *Brycon amazonicus*.**

Mônica Serra

Orientador: Elisabeth Crisculo Urbinati

Dissertação apresentada ao Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

FEVEREIRO 2010

Serra, Mônica
S487a Elevação plasmática do cortisol aumenta a agressividade em juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus*. / Mônica Serra. – Jaboticabal, 2010
vii, 67 f. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista - Centro de Aquicultura, 2010

Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati

Banca examinadora: Marisa Fernandes de Castilho, Rodrigo Egydio Barreto

Bibliografia

1. Cortisol. 2. Comportamento agressivo. 3. *Brycon amazonicus*.
I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.31

Dedico este trabalho aos meus animais experimentais, minhas adoráveis maluquinhas, cuja energia e sandice inspiram tantas perguntas e curiosidade.

AGRADECIMENTOS

À Professora Elisabeth Urbinati, por me guiar quando necessário, me deixar voar sempre que possível, por acreditar em mim e, ao longo de todos esses anos, me dar o exemplo mais importante que eu poderia ter: o de que uma profissional renomada e competente não precisa, nunca, se desvencilhar do seu lado humano e da candura... A gente só deixa o ninho porque sabe que ele vai continuar sempre lá, e eu sou uma urbinete até o fim!!

À minha família toda, pelo apoio e paciência mesmo nos momentos em que o cortisol da mestrandia subia a níveis intoleráveis...

Minha mãe e meu pai, que entenderam essa filha que às vezes só aparecia em casa para comer e dormir, e ainda passava parte desse tempo no computador... Obrigada por tudo!

Minhas irmãs, que até redefiniram a palavra infinito com base no meu trabalho (“Infinito é sinônimo do tanto de aquários que a Mônica tem que assistir” hehehe).

Aos meus avós, pelo carinho e interesse por mim e por esse trabalho, sempre.

Ao meu namorado Rafael, por me entender, por estar ao meu lado, por me acalmar e fazer rir não importava a situação... Suki da yo, meu coração!

Aos meus companheiros, amigos, irmãozinhos urbinetes, que desde o começo me ensinaram o lado profissional e também o companheirismo que pode e deve haver em um grupo de trabalho... Marcinho, Sumô, Rafanildo, Spinha, Rodrigo, Marcos, Léo Roquinho, Jaque, Léo Bacarin, Ana, Fabiano, Janessa, Miolo, Mariana, Aline, Menina do Corredor... os super-estagiários mais que especiais, Paula e Rullian... E a nossa querida Damarinha, que mantém essa família unida e sempre rindo!!

Agradeço especialmente à Carla, pela amizade, por ser minha “geminha”, por estar lá o tempo todo, me deixando saber que eu tinha com quem contar e em quem confiar... ... Amor, não foi fácil, mas foi mais brando porque eu tinha você!

Aos irmãos da turma *Archaeopteryx lithographica*, por compartilharem a paixão pela biologia... “Só enquanto eu respirar vou me lembrar de vocês”... E meu amor especial pelo Pudendo, Parlê, Nani, Nat Furacão, Tenista...

Aos meus amigos, que me mantinham no rumo quando eu precisava espairecer, e que tornaram essa jornada mais leve... Bruninha, Thaís, Luciano, Deco, Fran, Nando, Piza, Milena, Guilherme, Nayara, Dudu, Digo, Danilo, Lu, Aninha, Lígia, Serginho, Teco.

Aos membros da banca de qualificação e de defesa, professores Gilson Luiz Volpato, Rodrigo Egydio Barreto, Marisa Fernandes de Castilho e Sérgio Fonseca Zaiden, pelas sugestões e auxílio no aprimoramento deste trabalho. E ao Sérgio, em especial, pelo apoio durante essa jornada, não apenas no trabalho em si mas também por ser o irmão mais velho e mais bondoso de todos no laboratório.

Aos professores, funcionários e alunos do Centro de Aquicultura, pela convivência durante a pós-graduação e apoio na realização deste trabalho.

Aos professores, funcionários e alunos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV, por todo auxílio e amizade durante os anos de iniciação científica e mestrado.

SUMÁRIO

Revisão Bibliográfica	8
<i>Aquicultura e espécies nativas</i>	8
<i>O estresse e seus efeitos – papel do hormônio cortisol</i>	9
<i>O estresse na produção de peixes em cativeiro</i>	17
<i>Comportamento agressivo e interações sociais</i>	19
<i>Cortisol e comportamento</i>	23
Referências Bibliográficas	30
Elevação plasmática do cortisol aumenta a agressividade em juvenis de matrinxã, <i>Brycon amazonicus</i>	36
<i>Resumo</i>	37
<i>Abstract</i>	37
<i>Introdução</i>	39
<i>Objetivos</i>	41
<i>Material e Métodos</i>	41
1. Animais experimentais.....	42
2. Instalações.....	42
3. Protocolo experimental.....	42
3.1. Pareamento e coleta.....	47
4. Preparo da ração.....	47
5. Análise comportamental.....	47
6. Análises do sangue.....	49
7. Análise morfológica e determinação do sexo.....	50
8. Análise estatística.....	50
<i>Resultados e discussão</i>	51
1. Resultados Experimentos 1 e 2: efeito do cortisol na agressividade e variáveis fisiológicas.....	51
2. Discussão Experimentos 1 e 2: efeito do cortisol na agressividade e variáveis fisiológicas.....	64
3. Resultados: efeito do gênero.....	68
4. Discussão: efeito do gênero.....	70
<i>Conclusão</i>	72
<i>Referências Bibliográficas</i>	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resposta ao estresse em peixes.....	12
Figura 2. Esquema dos pares em cada tratamento do Experimento 1.....	44
Figura 3. Esquema dos pares em cada tratamento do Experimento 2.....	46
Figura 4. Esquema da parede do fundo dos aquários, com os quadrantes, e os três níveis (superfície, meio e fundo).....	49
Figura 5. Frequência absoluta de mordidas no corpo das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor).....	52
Figura 6. Frequência absoluta de perseguições das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor).....	53
Figura 7. Índice de dominância médio das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor).....	54
Figura 8. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tipos de par (C-C, C-H e H-C).....	55
Figura 9. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tratamentos (controle e cortisol).....	56
Figura 10. Frequência absoluta de mordidas na cabeça dos diferentes tratamentos (controle e cortisol).....	56
Figura 11. Glicemia dos diferentes tipos de par (C-C, C-H e H-C).....	57
Figura 12. Glicemia dos diferentes grupos (embate e testemunha).....	58
Figura 13. Glicemia dos diferentes tratamentos (controle e cortisol) com testemunhas inseridas na análise.....	58
Figura 14. Frequência absoluta de mordidas no corpo de intrusos e residentes.....	59
Figura 15. Frequência absoluta de colisões de intrusos e residentes.....	60
Figura 16. Índice de dominância médio de intrusos e residentes.....	61
Figura 17. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol).....	61
Figura 18. Frequência absoluta de perseguições dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol).....	62
Figura 19. Locomoção dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol).....	62
Figura 20. Glicemia dos diferentes tratamentos (controle e cortisol) com testemunhas inseridas na análise.....	63

Figura 21. Glicemia dos tratamentos x grupos.....	64
Figura 22. Frequência absoluta de perseguições de machos e fêmeas.....	69

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Protocolo alimentar do Experimento 1.....	43
Quadro 2. Protocolo alimentar do Experimento 2.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Efeito da condição pós-embate na agressão.....	53
Tabela 2. Efeito da condição pós-embate na latência (em segundos) de colisão.....	54
Tabela 3. Efeito do tipo de par na agressão e na latência de agressão.....	55
Tabela 4. Efeito do tratamento no tempo absoluto de boca insuflada e latência de mordida na cabeça.....	57
Tabela 5. Efeito do grupo nas variáveis hematológicas.....	59
Tabela 6. Efeito da condição de isolamento no tempo absoluto de acompanhamento e de latência de arrasto.....	60
Tabela 7. Efeito do grupo nas variáveis hematológicas.....	64
Tabela 8. Efeito do gênero na agressão.....	69
Tabela 9. Efeito do gênero do oponente no tempo absoluto de arrasto no chão e latência de mordida no corpo.....	69
Tabela 10. Efeito do gênero e do gênero do oponente no tempo relativo de permanência no meio do aquário.....	70
Tabela 11. Efeito do gênero nas variáveis hematológicas.....	70

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Aquicultura e espécies nativas

A crescente demanda de alimentos, associada ao esgotamento dos recursos pesqueiros, torna a aquicultura uma necessidade para garantir a oferta de pescado no mercado. A aquicultura é o setor de produção animal de crescimento mais rápido, sendo responsável atualmente por quase metade da produção piscívora no mundo (FAO, 2009). As mais de 23 mil espécies existentes de teleósteos representam acima de 95% das espécies de peixe e quase metade de todas as espécies de vertebrados (GALLO e CIVININI, 2003). No entanto, a aquicultura utiliza apenas centenas de espécies que estão ainda no início do processo de domesticação, das quais pouco ou nada se conhece de sua biologia e exigências ambientais, que são altamente variáveis entre espécies (CONTE, 2004).

O Brasil encontra-se na zona neotropical, local que concentra a maior diversidade em peixes, contando com uma variedade de espécies aptas para utilização na produção ou como ornamentais (CRESCÊNCIO, 2005). A piscicultura brasileira cresce e ganha espaço na geração de divisas, passando nos últimos anos por um aumento na produção de cerca de 87 mil toneladas, em 1997, para quase 290 mil toneladas, em 2007. Este crescimento ainda pode aumentar considerando-se o número de espécies com potencial de criação por características como crescimento rápido, boa conversão alimentar, rusticidade e demanda do mercado consumidor (CRESCÊNCIO, 2005; FAO, 2009). Assim, as espécies nativas devem ser objetos de estudo para criação de pacotes tecnológicos que tornem possível sua produção.

Originário da América do Sul, mais precisamente na Bacia Amazônica, o matrinxã (*Brycon amazonicus*) é um peixe bentopelágico (HOWES, 1982) e de hábito alimentar onívoro, que pertence à classe Actinopterygii, ordem Characiformes, família Characidae e gênero *Brycon* (GOMES & URBINATI, 2005):

Classe: Actinopterygii

Sub classe: Neopterygii

Divisão: Teleostei

Subdivisão: Euteleostei

Superordem: Ostariophysi

Ordem: Characiformes

Sub-ordem: Characoidei

Super-família: Characoidae

Família: Characidae

Gênero: *Brycon*

Espécie: *Brycon amazonicus* (SPIX & AGASSIZ, 1829).

O matrinxã desperta grande interesse de piscicultores graças a características favoráveis como hábito voraz, que lhe confere esportividade na pesca; fácil aceitação da ração artificial; rápido crescimento e carne de qualidade. De fato, nos últimos anos, a criação do matrinxã cresce principalmente na Amazônia, onde é a segunda espécie mais produzida (GOMES & URBINATI, 2005). Embora possua características que o tornam um candidato atrativo à produção, alguns destes aspectos podem se tornar um entrave na sua criação. A mesma voracidade que faz do matrinxã um peixe esportivo e que aceita facilmente a alimentação artificial, também ocorre nos embates intraespecíficos, resultando em injúrias, canibalismo e grandes perdas na produção.

A relação de dominância em matrinxãs é caracterizada por interações agonísticas, em que o peixe dominante tem prioridade no acesso ao espaço e recursos, enquanto o subordinado obtém recursos posteriormente ou em menor quantidade e sofre agressões (FERRAZ e GOMES, 2009). O estresse social atribuído à interação entre co-específicos, em seu ambiente natural, pode ser considerado mais crônico do que agudo, de acordo com a duração da exposição. Considerando-se que a maioria das espécies animais usa alguma estratégia comportamental, como se esconder ou fugir, para reduzir o contato direto com outros indivíduos, o estresse social pode ser considerado como intermitente (FERNANDES-DE-CASTILHO et al., 2008). Entretanto, em um ambiente de criação, os animais são artificialmente agrupados. Nesta situação, os indivíduos são impossibilitados de escolher os companheiros de grupo ou o tamanho do bando, e a intensa interação agonística soma-se à impossibilidade de um membro de um grupo se afastar e assim evitar a competição com os outros membros (ANDERSEN et al., 2004).

Entender a dinâmica da interação social em matrinxãs, bem como os efeitos de estresse adicional causado pelo manejo comum na piscicultura sobre o comportamento agonístico, pode favorecer o desenvolvimento de um pacote tecnológico para a espécie.

O estresse e seus efeitos – papel do hormônio cortisol

Segundo McEwen e Wingfield (2003), a homeostase é o trabalho de sistemas fisiológicos tais como pH, temperatura corporal, glicemia, tensão de oxigênio, para manter a estabilidade que suporta a vida, através da manutenção desses sistemas dentro de uma faixa de

flutuações compatível para o organismo. Frente a um desafio que cause o afastamento destes parâmetros deste intervalo ótimo, entram em ação mediadores como catecolaminas, cortisol e citocinas, que regulam e alteram os sistemas envolvidos com a homeostase de forma a retornar à estabilidade. A alostase, portanto, pode ser definida como “alcançar a estabilidade (da homeostase) através da mudança (dos sistemas envolvidos com a alostase)”.

O estresse pode ser usado para descrever eventos que representam ameaça a um indivíduo, os quais desencadeiam respostas fisiológicas e comportamentais como parte da alostase, somando-se àquelas flutuações impostas pelo ciclo de vida normal (McEWEN e WINGFIELD, 2003). Segundo Mormède et al. (2007), o termo geral estresse é usado para descrever o desencadeamento de mecanismos de adaptação frente a fatores ambientais e a resposta a estes desafios. Muitas controvérsias sobre a definição do que é o estresse vêm do fato de que o que é estressante para uma pessoa ou animal nem sempre é estressante para outros membros da mesma espécie (ØVERLI et al., 2007).

De acordo com Barton e Iwama (1991), o estresse pode ser considerado uma mudança na condição biológica além da faixa normal de condições de repouso, que desafia a homeostase e assim representa uma ameaça ao bem-estar do animal. No entanto, os próprios autores admitem que definir o que é um estado normal de repouso é difícil. Por exemplo, nem sempre níveis mais altos de cortisol podem ser atribuídos a estressores (WENDELAAR BONGA, 1997), havendo variações sazonais no ritmo circadiano e mesmo individuais que podem ocorrer, sem, no entanto, significar que o animal está estressado. Mas, afinal, o que pode ser considerado um estado fisiológico normal? Segundo Schreck (2010), o estado fisiológico “normal” de um organismo (homeostase) não é estático; assim, estresse é um estímulo que desloca o estado fisiológico e bioquímico do organismo para além de seu intervalo de flutuações normais, não sendo incomum que o sistema oscile antes de se estabilizar em um novo ponto de ajuste, como forma de compensar um estressor. Obviamente, a sobrevivência depende que este novo intervalo se estabeleça dentro de certos limites inerentes à manutenção do organismo.

Mudanças súbitas ou extremas no ambiente físico (temperatura, salinidade, turbidez), interações entre os animais (predação, parasitismo, competição por espaço, comida ou parceiros reprodutivos), interferências humanas (incluindo práticas em aquicultura e poluição da água) são capazes de ameaçar o equilíbrio homeostático e causar uma resposta integrada (comportamental e fisiológica) de estresse em peixes, sendo, portanto, chamados estressores (WENDELAAR BONGA, 1997).

A resposta de estresse é considerada, portanto, um mecanismo adaptativo que permite ao peixe lidar com estressores, a fim de manter o seu estado normal ou homeostático; consiste

em uma cascata fisiológica de eventos que é iniciada pela percepção de um estressor e comunicada ao corpo pelo sistema nervoso central, agindo neuroendocrinamente (BARTON, 2002; SCHRECK, 2010). Em um primeiro momento, a resposta de estresse prepara o corpo para “lutar ou fugir”: glicose é mobilizada como fonte de energia; o sangue é desviado de órgãos que não são essenciais em exercícios físicos, como pele e intestinos, e ocorre aumento do fluxo sanguíneo para órgãos cruciais como coração, músculo esquelético e cérebro; a cognição é aguçada e a percepção da dor é diminuída (SAPOLSKY, 1990).

A resposta primária de estresse é a ativação dos centros cerebrais, o que resulta em liberação de catecolaminas e corticosteróides; a resposta secundária é definida como as diversas ações imediatas e efeitos destes hormônios no sangue e tecidos, alterando o metabolismo. Já as respostas terciárias estendem-se ao nível do organismo e da população, na forma de inibição do crescimento, reprodução e resposta imune, bem como redução na capacidade de tolerar estressores adicionais ou subsequentes (WENDELAAR BONGA, 1997). Diversos fatores, entretanto, podem influenciar as respostas de estresse características, incluindo fatores genéticos (como espécie e linhagem), ontogenéticos (estágio de vida) e ambientais (temperatura, nutrição, qualidade da água) (BARTON, 2002).

Na Figura 1, encontram-se sintetizadas as etapas da resposta de estresse, desde a percepção do estímulo estressor até as respostas secundárias e terciárias desencadeadas pela liberação das catecolaminas e do cortisol.

Os peixes não possuem uma glândula adrenal distinta como os mamíferos; as catecolaminas e o cortisol nestes animais são produzidos pelas células cromafins e interrenais, respectivamente, localizadas no rim cefálico, onde os dois tipos de células podem estar misturados ou intimamente relacionados, em contato com as veias pós-cardinais (MOMMSEN et al., 1999; GALLO e CIVININI, 2003). Embora haja esta diferença morfológica, as diversas similaridades entre as respostas integradas de estresse de animais aquáticos e terrestres sugerem que este mecanismo adaptativo possui uma história evolucionária de pelo menos 400 milhões de anos: em contraste com a variabilidade encontrada em quase todos os outros mensageiros neuroendócrinos, entre peixes e tetrápodes há grande identidade (catecolaminas) ou similaridade (cortisol) tanto nos mensageiros quanto nas suas funções frente a um estímulo estressor (WENDELAAR BONGA, 1997).

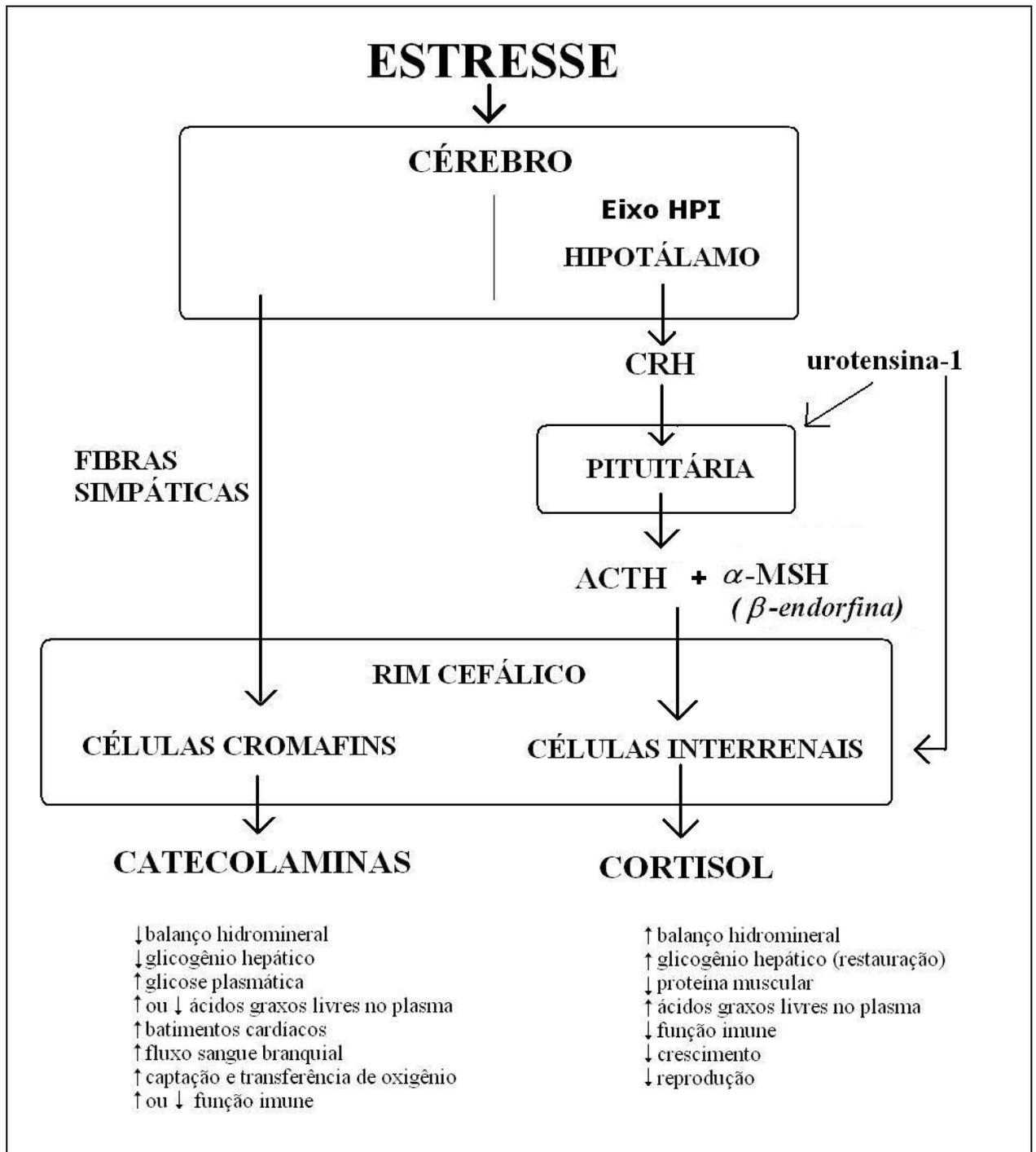


Figura 1. Resposta ao estresse em peixes. A ativação dos eixos simpático-cromafim e HPI culminam na liberação de catecolaminas e cortisol, respectivamente. Para maiores detalhes, vide texto. Adaptado de WENDELAAR BONGA, 1997.

Entre um e três minutos após o estímulo estressor ocorrem picos de secreção das catecolaminas, sendo a epinefrina a catecolamina predominante nos peixes. Concomitantemente, o eixo hipotálamo-pituitária-interrenal – eixo HPI - também é ativado. A via para a liberação de cortisol começa no núcleo paraventricular hipotalâmico, com a liberação do hormônio liberador da corticotropina, CRH (WENDELAAR BONGA, 1997; BARTON, 2002; CARPENTER et al., 2009). Uma vez liberado, o CRH estimula na pituitária

a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A glândula pituitária parece ser o controle endócrino dominante da secreção de cortisol, sendo o ACTH o secretagogo mais potente. O ACTH circulante, por fim, estimula as células interrenais no rim cefálico a sintetizar e liberar os corticosteróides para distribuição nos tecidos (WENDELAAR BONGA, 1997; BARTON, 2002). Além dessa via clássica, outros mediadores podem agir aumentando a produção de cortisol. O peptídeo urotensina-1, de estrutura parecida e mesma função que o CRH no eixo HPI, é produzido pela urófise, um sistema neuroendócrino único em peixes gnatostomados, e aparentemente possui papel significativo quando o peixe é exposto a estressores osmóticos, não estando envolvido em respostas não-específicas de estresse. Já uma das formas do hormônio α -melanóforo-estimulante (α -MSH), o diacetil- α -MSH, produzido na pituitária, é capaz de estimular a produção de cortisol, e quando associado à β -endorfina (que por si só não possui ação corticotrófica), tem sua ação equiparada à do ACTH. De fato, em algumas espécies de peixe, os níveis circulantes de α -MSH são bem maiores do que os de ACTH, sugerindo que nestes animais o papel deste mensageiro neuroendócrino alternativo é mais importante que em mamíferos (WENDELAAR BONGA, 1997).

Nas células interrenais, os corticosteróides são sintetizados a partir do colesterol pela clivagem da cadeia lateral mediada pela atividade enzimática de citocromos do complexo P450, localizados no interior da membrana mitocondrial. O produto desta clivagem é a pregnenolona, que sofre uma série de isomerações e hidroxilações, resultando na produção do cortisol (ØVERLI et al., 2007). O controle da produção do cortisol ocorre por retroalimentação negativa: níveis elevados de cortisol agem no hipotálamo e na pituitária, modulam a produção de ACTH e, conseqüentemente, a liberação do próprio cortisol (MOMMSEN et al., 1999). O sistema simpático-cromafim também pode agir sobre o eixo HPI. Conforme estudo de Rotllant et al. (2006), em rim cefálico de robalo (*Dicentrarchus labrax*) a adrenalina e a noradrenalina exercem significativa ação secretória do cortisol em ensaios *in vitro*, mediado pelos β -receptores estimulando a liberação intracelular de AMPc; o mesmo efeito não foi encontrado em ensaios *in vitro* com dourada (*Sparus auratus*) nesse estudo. Segundo esses autores, dado que a atividade corticotrófica do robalo é significativamente maior do que a da dourada, esse controle parácrino das catecolaminas na secreção de cortisol pode explicar a maior sensibilidade desta espécie na produção de cortisol.

A elevação do cortisol no sangue é o indicador de estresse mais amplamente utilizado em peixes. Geralmente, o cortisol plasmático eleva-se poucos minutos após a exposição a um estímulo estressor agudo, e o retorno aos níveis basais leva uma hora ou mais. Quando o estresse é crônico, os níveis de cortisol podem se manter elevados, embora em um nível bem menor do que o do pico (WENDELAAR BONGA, 1997). No entanto, vale ressaltar que,

embora a maior parte dos estudos considere os níveis plasmáticos do cortisol como indicador, a simples liberação do hormônio não significa um aumento nos seus efeitos; sua forma livre é a biologicamente ativa, mas grande parte do cortisol no sangue circula ligada a proteínas transportadoras (MOMMSEN et al., 1999). O cortisol nos teleósteos combina as funções dos glicocorticóides (cortisol ou corticosterona) e dos mineralocorticóides (aldosterona) dos vertebrados terrestres, o que explica a íntima relação entre o metabolismo energético e o controle hidromineral existente nos peixes, sendo brânquias, intestino e fígado importantes alvos deste hormônio (WENDELAAR BONGA 1997).

Por ser um esteróide lipossolúvel, o cortisol é capaz de adentrar células através de difusão passiva. Uma vez dentro da célula, se liga a um receptor e é ativado ou é metabolizado e inativado. Recentes estudos de microarranjos em peixe mostram que a maioria das mudanças causadas pelo estresse ocorre através de genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo, função imune e reprodução. O cortisol liga-se ao seu receptor (GR, do inglês *glucocorticoid receptor*) no citosol e o heterocomplexo GR-ligante transloca-se até o núcleo, onde forma um homodímero e se liga ao elemento de resposta (GRE, do inglês *glucocorticoid-response element*) do promotor de genes com resposta a corticóides; desta forma, pode modular a transativação ou a transrepressão de genes que codificam proteínas envolvidas no metabolismo, reprodução e função imune. O papel do cortisol também envolve controle pela ligação a proteínas de membrana associadas a sinalizações genômicas e não-genômicas (ALURU e VIJAYAN, 2009). Roy e Rai (2009), trabalhando com ensaio *in vitro* com o peixe *Chana punctatus*, encontraram dois mecanismos de ação do cortisol na inibição de fagócitos; uma rápida e não-genômica (15 minutos), envolvendo receptores de membrana e o sistema adenilato-ciclase-AMPC-PKA, e outra genômica e mais lenta, através de receptores no citosol. Interessantemente, o bloqueador do GR citosólico também bloqueou a ação não-genômica, o que sugere uma semelhança entre ambos os receptores.

Há dois receptores de glicocorticóides (GR) em peixes; diferenças na afinidade sugerem que o GR2 está envolvido na regulação do cortisol quando em níveis basais, situação em que o GR1 não se liga com o hormônio, e ambos, GR1 e GR2, são mobilizados sob condições de estresse; estudos demonstraram que um receptor de mineralocorticóides (MR) é expresso em peixes, tendo como possíveis ligantes o cortisol e a deoxicorticosterona (DOC), uma vez que a aldosterona, mineralocorticóide dos tetrápodes, não é produzida em quantidades relevantes em peixes (PRUNET et al., 2006). Especula-se que a ativação do MR e ação da DOC seriam importantes no controle osmótico de peixes. No entanto, em salmão-do-Atlântico (*Salmo salar*), a administração de aldosterona e 11-deoxicorticosterona não causou aumento na quantidade de mRNA Na^+, K^+ -ATPase, na atividade da Na^+, K^+ -ATPase

nas brânquias e na tolerância à salinidade, papel que foi desempenhado pelo cortisol em peixes que receberam este hormônio (McCORMICK et al., 2008). Portanto, seria realmente o cortisol que age na captação de íons e secreção de sais em peixes, e não um mineralocorticóide. Em situações de estresse, o aumento da epinefrina reduz a resistência vascular nas lamelas, aumentando a área para troca de gases enquanto facilita a difusão de íons pelas brânquias. O cortisol possui efeitos estimulatórios na extrusão branquial de Na^+ e Cl^- , evento essencial no controle hidromineral no ambiente marinho (WENDELAAR BONGA, 1997); assim, o retorno ao controle osmótico após a ação das catecolaminas é uma das funções do cortisol.

Um aspecto central da adaptação ao estresse é a realocação da energia metabólica de investimento, tal como aquela utilizada no crescimento e reprodução, para atividades que possibilitam restaurar a homeostase, como a respiração, locomoção, balanço hidromineral e reparo tecidual (WENDELAAR BONGA, 1997). Ainda segundo esse autor, o rápido aumento na glicemia após um estímulo estressor ocorre principal ou exclusivamente pela ação glicogenolítica das catecolaminas. A ação glicocorticóide do cortisol em peixes é mais direcionada à gliconeogênese e à manutenção das reservas energéticas a longo prazo do que à mobilização energética a curto prazo promovida pela glicólise. Após elevação dos níveis de cortisol, a glicemia pode aumentar, diminuir ou permanecer inalterada. Esta mesma variação ocorre nos estoques de glicogênio hepático. O cortisol pode aumentar a glicogenólise, provendo glicose como fonte de energia, como também pode agir aumentando a atividade de enzimas chave da gliconeogênese e provendo substratos periféricos, para restaurar as reservas de glicogênio do fígado. O cortisol aparentemente possui ação proteolítica periférica, bem como aumenta a lipólise. Os aminoácidos liberados podem tanto ser utilizados para glicogênese como gliconeogênese, além de possivelmente haver estimulação da síntese de proteínas. Já a lipólise resulta em ácidos graxos que tanto podem ser fonte de energia quanto serem ressintetizados, e glicerol, substrato para a gliconeogênese. Portanto, esse hormônio age nas duas vias: disponibilizando combustível para lidar com a situação de estresse e restaurando as reservas para recuperação após o estímulo (MOMMSEN et al., 1999).

O cortisol pode interagir com diversos hormônios, o que torna ainda mais ampla a lista de alvos de regulação (MOMMSEN et al., 1999). Além disso, parece haver uma regulação do eixo HPI pelo sistema neuroendócrino. Em truta-do-Ártico, *Salvelinus alpinus*, a administração do receptor agonista da serotonina 8-OHDPAT estimula o eixo HPI em peixes não estressados, mas o efeito é inibitório em peixes estressados por manuseio e injeção peritoneal. Isso sugere que o sistema central da serotonina possui um importante papel na regulação do eixo HPI em peixes, mas essa ação depende do estado do animal (HÖGLUND et al., 2002).

Fatores externos, como salinidade do ambiente, estresse, maturidade e estado nutricional podem influenciar a produção de cortisol. Além disso, a resposta do animal ao hormônio pode ser afetada por qualquer um dos fatores que regulam sua disponibilidade, tais como proteínas de ligação, receptores nos tecidos alvo, captação pelos tecidos e catabolismo do hormônio (MOMMSEN et al., 1999). Por exemplo, o ciprinídeo *Leuciscus cephalus* possui níveis de cortisol em repouso (entre 50 e 100 ng mL⁻¹) dez vezes maiores do que o reportado para outras espécies, alcançando níveis que nestas causam imunossupressão e falha reprodutiva. Quando estressados, um aumento de cerca de 15 vezes faz com que o nível de cortisol circulante alcance 1500 ng mL⁻¹, muito acima do encontrado em outros peixes. A glicemia e o lactato, bem como hormônios sexuais, permanecem em níveis parecidos com os de outras espécies, indicando que essa quantidade de cortisol não é disruptiva para o *L. cephalus*. O que regula a ação do cortisol nesta espécie é a afinidade do receptor do hormônio. Embora o número de receptores seja similar ao encontrado em truta-arco-íris, sua afinidade é cerca de oito vezes menor (POTTINGER et al., 2000). Provavelmente, essa elevação acentuada na produção de cortisol, mesmo sob condições de repouso, é uma adaptação da espécie à baixa afinidade de seu receptor, que exige maiores quantidades de hormônio para obter os mesmos efeitos.

A despeito da importância da resposta de estresse em retornar à homeostase após um distúrbio, se um animal sofre um estresse intenso e crônico, esta resposta pode perder seu valor adaptativo e tornar-se disfuncional. Denomina-se hormese o fenômeno em que um dado desafio em baixa quantidade ou intensidade causa uma resposta, enquanto que uma quantidade grande e/ou de alta intensidade proporciona uma resposta na direção oposta (positiva ou negativa) e vice-versa. Ou seja, dependendo da natureza do parâmetro que está sendo afetado, a direção da resposta muda. Aparentemente, o estresse e o cortisol podem agir de forma hormética; por exemplo, um desafio leve, mas já capaz de ativar o eixo HPI, parece ser benéfico na reprodução em peixes, enquanto um estresse mais acentuado pode impedir completamente a reprodução (SCHRECK, 2010).

Os animais possuem uma capacidade natural de responder fisiologicamente ao estresse para superar a perturbação imposta; no entanto, quando os mecanismos fisiológicos são forçados além do limite podem se tornar deletérios para o animal, o que pode resultar em inibição do crescimento, falha reprodutiva e queda na resistência a patógenos (BARTON e IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997). Os efeitos deletérios da elevação dos níveis de cortisol em peixes incluem supressão da resposta imune (DAVIS et al., 2003; WOJTASZEK et al., 2002), menores índices de crescimento (PETERSON e SMALL, 2005;

HOSOYA et al., 2007), alteração da resposta comportamental da progênie (EPSMARK et al., 2008).

As catecolaminas e o cortisol inibem o crescimento somático ao estimular o consumo energético, a gliconeogênese e a lipólise, além de atuar sobre hormônios que promovem o crescimento; altos níveis de cortisol podem afetar o crescimento por meio de diferentes mecanismos (WENDELAAR BONGA, 1997). Glicocorticóides retardam o crescimento tecidual e a proliferação celular tanto em tecidos hepáticos quanto não-hepáticos, além de interferir na agressão intraespecífica (e, portanto, na disponibilidade de alimento para os indivíduos do grupo), captação de nutrientes pelo intestino (principalmente aminoácidos) e na saciedade (MOMMSEN et al., 1999). Embora seja considerado o “hormônio osmorregulatório”, o cortisol também pode agir de forma disruptiva neste parâmetro. Um mecanismo de perturbação do balanço hidromineral pode ser a indução de apoptose por níveis cronicamente elevados de cortisol, o que poderia explicar a ocorrência de apoptose nas células branquiais em peixes expostos a estressores que não causam dano físico direto à brânquia, tais como isolamento e baixo status hierárquico (WENDELAAR BONGA, 1997).

A própria resposta de estresse pode ser afetada por eventos anteriores. O tecido interrenal de peixes estressados é menos sensível ao ACTH do que o de peixes não estressados (MOMMSEN et al., 1999). Trutas-arco-íris subordinadas (mantidas em pares por sete dias) tiveram uma taxa de liberação de cortisol estimulada por infusão de ACTH menor do que os indivíduos dominantes; mas o mesmo protocolo não provocou alteração na produção de catecolaminas induzida por infusão de acetilcolina. Isto demonstra que o estresse social crônico, assim como já demonstrado com outros tipos de estresse por longos períodos, não apenas causa níveis mais elevados de cortisol como também é capaz de causar uma disrupção na resposta do eixo HPI. Esta ausência de resposta pode ser devida tanto a uma retroalimentação negativa quanto a outros mecanismos combinados agindo sobre o eixo, provavelmente como uma estratégia para evitar efeitos deletérios causados por uma elevação muito grande do cortisol cronicamente (SLOMAN et al., 2002). Assim, eventos estressantes contínuos podem alterar a resposta ao estresse do indivíduo e impedir que ele lide com uma nova situação. Em piscicultura, essa disrupção se torna preocupante dado que a ocorrência de uma série de manejos, sabidamente estressantes, é prática obrigatória da atividade, e que a interação social também pode constituir um estresse crônico difícil de ser controlado.

O estresse na produção de peixes em cativeiro

O desenvolvimento de práticas que reduzam o estresse e seu potencial efeito deletério na produção de peixes é um objetivo compartilhado por aquicultores. Os protocolos de controle do estresse incluem atenção à densidade, manutenção dos animais, manejos, alterações no comportamento e doenças (CONTE, 2004). Na criação comercial de peixes, o estresse agudo pode ocorrer quando peixes são contados, classificados ou capturados. Já o estresse crônico, que mais afeta o bem-estar dos animais, pode ocorrer quando os peixes são criados com alta densidade, baixa qualidade de água (baixo pH, altos níveis de amônia, excesso de sólidos suspensos na água, etc), ou quando os peixes são transportados, confinados ou expostos a interações sociais (MORMÈDE et al., 2007).

Até o momento, os estudos sobre estresse em peixes envolveram apenas uma pequena parcela do grande número de espécies existentes, com significativas diferenças nas respostas obtidas, o que indica particularidades adquiridas como, por exemplo, adaptação a diferentes habitats (WENDELAAR BONGA, 1997). Portanto, é necessário cautela na extrapolação dos resultados encontrados em uma espécie para outras, principalmente no que concerne na interação do estresse com o comportamento agressivo. Grande parte dos estudos concentra-se em salmonídeos e outras espécies de interesse comercial de clima temperado, o que torna a aplicação do conhecimento adquirido nestes experimentos inapropriada para nossas espécies sem uma análise prévia de seus efeitos em peixes tão diferentes.

Fatores como densidade de estocagem, métodos de alimentação e manejos necessários na aquicultura afetam os níveis de estresse, alterando não apenas a saúde e a tolerância a posteriores eventos estressantes, como também o comportamento social (agressivo) dos peixes. Altas densidades, por exemplo, são associadas ao aumento da competição entre os indivíduos, agressão, injúria física (devido a abrasão dos peixes entre si e com as paredes da estrutura onde estão os animais), além de degradar a qualidade da água. Mudanças no comportamento agressivo com o aumento da densidade podem estar ligadas à disponibilidade de comida e ao nível de agressão e hierarquia social dentro do grupo (ASHLEY, 2007). No entanto, o aumento da agressividade intra-específica pode não estar apenas relacionado com o aumento da densidade. Segundo Andersen et al. (2004), conforme o número de animais no grupo aumenta, mais indivíduos se beneficiarão por não se envolverem em lutas, e usarão estratégias alternativas não agressivas para adquirir recursos.

Um princípio básico da produção de peixes é a redução da competição prejudicial entre os animais. Uma vez que tanto o estresse pode iniciar mudanças comportamentais, quanto mudanças comportamentais forçadas podem causar estresse, o conhecimento do comportamento espécie-específico é um ponto crítico para assegurar o bem-estar em peixes. As interações sociais entre os peixes criados em confinamento possuem, portanto, implicações

em seu bem-estar e representam um campo em que os esforços de pesquisa podem se concentrar (CONTE, 2004). O estresse agudo pode aumentar a agressão; já o estresse crônico e, portanto, a elevação crônica dos níveis de glicocorticóides, parece inibir o comportamento agressivo, como estratégia evolucionária comportamental de indivíduos subordinados e submissos (SUMMERS et al., 2005).

Em matrinxã (*Brycon amazonicus*), o estresse fisiológico (com alterações hematológicas e nos níveis de cortisol) foi comprovado nos animais subordinados após um desafio social (FERRAZ e GOMES, 2009); estudos preliminares com a espécie mostraram aumento da agressividade após elevação aguda dos níveis de cortisol (SERRA, WOLKERS e URBINATI, dados não publicados). Portanto, se o aumento do cortisol causado pelo estresse pode aumentar a agressividade, e a agressão sofrida nas lutas é também estressante, cria-se um círculo vicioso onde o bem-estar dos peixes é constantemente desafiado.

Comportamento agressivo e interações sociais

Cooperação e suporte social são duas das maiores vantagens da vida em grupo; no entanto, conflitos sociais e competição podem ocorrer e tornar o comportamento gregário desvantajoso. Esses desafios sociais, entretanto, podem afetar de maneira diferente os membros dominantes e subordinados (GOYMANN e WINGFIELD, 2004). Dentro de um grupo, indivíduos competem por recursos, levando alguns a vencer interações contra os adversários, que por fim se submetem e uma relação de dominância se estabelece (CLEMENT et al., 2005).

Ambas as posições sociais podem representar estresse: para os animais subordinados, os estressores são a presença do peixe dominante, as sinalizações e interações agonísticas, e a própria condição de subordinação; já para os dominantes, o estressor é a presença do subordinado que pode se tornar dominante na primeira oportunidade (FERNANDES-DE-CASTILHO et al., 2008). No entanto, as interações sociais diferem muito entre espécies, tanto no comportamento emitido pelos indivíduos de cada status social como também nos meios e nos fatores que influenciam a aquisição desta posição; portanto, o nível de estresse de cada posição pode variar de acordo com essa diferença. Além disso, há uma grande variedade de estratégias de luta e fatores que influenciam as interações sociais.

Em um estudo de Ferraz e Gomes (2009) com matrinxã, apenas os peixes dominantes exibiram agressividade, que gradualmente aumentou ao longo do tempo experimental (5 horas); os subordinados não demonstraram comportamento agressivo. Em um estudo de Karino e Someya (2007) com beta (*Beta splendens*), embora o resultado do embate seja

influenciado pela linhagem, o fator que determina quão agressivo um indivíduo se apresenta em um embate real é o nível de agressão do oponente. A agressão inata (quantidade de atos agressivos frente a um espelho) também está correlacionada à linhagem, mas o estímulo social de um oponente e sua concomitante resposta parecem exercer uma influência maior. Segundo esses autores, durante um embate, um indivíduo deve aplicar um esforço comparável ao do seu adversário para que tenha chance de vencer; assim, o estímulo do ambiente social é mais forte do que a agressividade inata neste caso.

O comportamento pode variar durante o desenvolvimento do indivíduo, assim como pode variar entre as fases do ciclo de vida, podendo portanto ser alterado várias vezes durante sua vida, como quando um indivíduo ganha e perde status de dominância (ST-CYR e AUBINHORTH, 2009). Entretanto, as estratégias utilizadas nos conflitos sociais variam não apenas entre os indivíduos, mas também de acordo com o contexto ambiental. O aumento do custo de interações sociais agressivas, por exemplo, pode diminuir o comportamento agonístico. Exercício forçado moderado (corrente de água) resultou em diminuição da agressão em *Salvelinus alpinus*, provavelmente porque, tendo de nadar contra a correnteza a energia gasta em interações aumenta, diminuindo assim as vantagens obtidas com este comportamento. Embora o ganho de peso não tenha aumentado, e os animais dominantes de grupos mantidos na correnteza tenham tido menor ganho de peso do que os dominantes do grupo controle, o exercício forçado proporcionou uma diminuição na variação de peso entre os indivíduos do grupo (BRÄNNÄS, 2009).

Em juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), a comunicação química diminuiu a agressão entre co-específicos, comparado a pares estimulados apenas com comunicação visual. Isso pode ocorrer tanto por reconhecimento de um co-específico com hierarquia previamente estabelecida, quanto em peixes oriundos de grupos distintos, onde fatores químicos podem prover sinalizações de alarme que diminuem a agressão intraespecífica (GIAQUINTO e VOLPATO, 1997). Dado que não apenas substâncias de alarme, como também hormônios são secretados na água, o estado fisiológico dos oponentes pode interferir no resultado do embate também por meio do reconhecimento deste estado quimicamente. Experiências prévias do animal também podem modificar o resultado de embates futuros. Betas que venceram um embate real demonstraram um aumento na sua agressividade inata performada diante de um espelho, enquanto os perdedores diminuíram o número de atos agressivos na mesma condição (KARINO e SOMEYA, 2007).

A experiência do peixe em relação ao território é outro fator que exerce influência na interação agonística; a exposição prévia à área do embate (territorialização) aumenta as chances do indivíduo de vencer o confronto, pois o peixe que já “investiu energia” naquele

território explorando comida e abrigo na área, ou mesmo resolvendo conflitos com vizinhos, terá uma perda maior caso não vença, possuindo portanto uma maior motivação para investir no confronto (NIJMAN e HEUTS, 2000). Além disso, o próprio conhecimento do território confere uma vantagem na briga, já que o dono do território conhece o espaço e o ambiente.

O gênero também pode influenciar os embates, mesmo nas fases imaturas. Trutas-arco-íris juvenis machos são mais agressivas do que fêmeas, provavelmente por diferenças genéticas: como na idade adulta os machos competem por fêmeas, eles podem ter sido selecionados como mais agressivos, e essa diferença genética aparece mesmo nos peixes ainda imaturos sexualmente (JOHNSSON e ÅKERMAN, 1998). Em trutas-marrom juvenis, machos são mais agressivos do que as fêmeas, não havendo diferença entre machos imaturos e machos precocemente maduros; no entanto, essa maior agressividade não interferiu na probabilidade de vencer o embate, sendo essa igual entre os gêneros (JOHNSSON et al., 2001). Em truta-arco-íris, fêmeas e machos imaturos responderam de forma diferente a desafios: as fêmeas tanto se adaptaram a um ambiente novo (demonstrado pela retomada da alimentação) quanto cessaram a natação durante um desafio de confinamento significativamente mais rápido do que os machos, sem no entanto haver diferença nos níveis de cortisol entre os gêneros (ØVERLI et al., 2006).

Em confrontos intra-gênero de ciclídeos convictos (*Amatitlania nigrofasciata*), embora não tenha havido diferença na resposta a um estímulo súbito (objeto caindo na água sem prévio aviso, como teste para motivação de luta) e nem haja relação entre sexo e crescimento e entre tamanho do animal e o comportamento agressivo, houve diferença na estratégia adotada por machos e por fêmeas. Enquanto os machos usam mais demonstrações laterais e batidas caudais, as fêmeas preferem demonstrações frontais e mordidas. Isto pode sugerir uma preferência dos machos a uma lateralização e uso de apenas um dos olhos (em detrimento a confrontos frontais). Outra hipótese é que, como nesta espécie o casal cuida da prole e os machos se envolvem em um maior número de embates em defesa do ninho, utilizam uma estratégia menos custosa e mais “segura” em seus confrontos (ARNOTT e ELWOOD, 2009). Em peixe-elétrico *Apteronotus leptorhynchus*, os machos reagem com intensidades de “chirps” (breves pulsos de alta frequência e baixa amplitude que são sinalização agressiva) mais altas do que fêmeas frente a um peixe de mesma espécie (DUNLAP et al., 2002).

Estratégias de enfrentamento se caracterizam não apenas por diferenças comportamentais, como também por diferenças fisiológicas e neuroendócrinas. Embora as particularidades de cada estilo provavelmente não possam ser atribuídas a um único fator, evidências mostram que a reação do eixo HPA/HPI pode explicar algumas destas diferenças (KOOLHAAS et al., 1999). Animais proativos (ou de enfrentamento ativo, ou “luta-ou-fuga”)

caracterizam-se por lidar com o estresse com altos níveis de agressão, baixa resposta do eixo HPA/HPI e alta reação do sistema simpático. Já animais reativos (ou de enfrentamento passivo, ou “conservação-retirada”) reagem de forma mais passiva, com baixos níveis de agressão e maior imobilidade, além de elevada resposta do eixo HPA/HPI e pouca reação simpática (SUMMERS et al., 2005; ØVERLI et al., 2007).

Em truta-arco-íris, ao confrontar peixes de uma linhagem com maior resposta de estresse (maior elevação do cortisol) com linhagens de menor resposta, Pottinger e Carrick (2001) observaram que os peixes de menor resposta foram dominantes mais vezes do que os de maior resposta, bem como que os animais subordinados apresentaram níveis de cortisol maiores do que os dominantes. No entanto, ainda não está claro se a diferença comportamental está ligada ao padrão de elevação do cortisol das duas linhagens, se esta diferença comportamental está ligada a elementos neuroendócrinos que influenciam simultaneamente atributos comportamentais e endócrinos, ou se a diferença comportamental foi co-selecionada juntamente com a resposta ao estresse, mas estas não estão ligadas direta nem indiretamente.

Em truta-marrom (*Salmo trutta*), Brelin et al. (2008) encontraram diferentes estratégias aparentemente ligadas à reação simpática e não do eixo HPI. Os animais com alta reação simpática (HCat) mostraram maiores níveis de noradrenalina, adrenalina e dopamina do que os de baixa reação (LCat), sem diferenças significativas no cortisol entre os dois grupos. Aparentemente, a frequência de indivíduos HCat e LCat é determinada geneticamente, além de diferir entre populações de diferentes origens.

Injeções intracraniais de CRH em truta-arco-íris não elevaram o nível de cortisol; na verdade, preveniram a elevação adicional causada pela injeção em si, mas modificaram a estratégia de luta contra pares de mesmo tamanho injetados apenas com veículo; embora o número de ataques dos injetados com CRH tenha sido significativamente menor quando comparado a animais que não receberam injeção, a latência do primeiro ataque e o número de comportamentos de retirada diminuiu (quando analisados os vencedores). Assim, a maioria dos animais injetados com CRH foi o vencedor sem, no entanto, aumentar a agressividade direta. Aparentemente, o CRF no cérebro modula a motivação através de neurotransmissão monoaminérgica, e a ansiedade, modificando a estratégia de luta do peixe (CARPENTER et al., 2009).

Uma vez assumido que haja uma ligação causal entre comportamento e fisiologia, pode-se atribuir a variabilidade encontrada em dados fisiológicos como sendo estreitamente derivada da variabilidade comportamental; interações agonísticas são caracterizadas por diversos padrões comportamentais e, assim, é possível que parâmetros fisiológicos possam

mudar de acordo com a especificidade do comportamento agonístico e não apenas com o nível total de agressão (ALVARENGA e VOLPATO, 1995).

Cortisol e comportamento

Barreto et al. (2006) reportaram que trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), submetidas a uma elevação crônica exógena de cortisol, responderam a um estímulo condicionado por um tempo inferior ao grupo controle, sugerindo que um aumento supra basal do cortisol afeta menos a memória de curto prazo do que a consolidação (período de tempo mais longo) da memória. O cortisol também pode desempenhar um importante papel em comportamentos sinalizados por estímulos ambientais, como é o caso da migração de salmões (MUNAKATA et al., 2007). A relação entre o comportamento e o cortisol parece ser bem complexa e com seus resultados dependendo do tempo, magnitude, contexto e coordenação entre as respostas fisiológicas e comportamentais. Aparentemente, o cortisol possui a capacidade tanto de inibir quanto de potencializar a agressão (SUMMERS et al., 2005).

Os glicocorticóides possivelmente afetam a agressividade induzida pelo desafio através da facilitação das respostas neurais induzidas por este desafio (MIKICS et al., 2007). Recentes estudos parecem indicar que a ação de curta duração dos corticosteróides no cérebro, talvez em regiões especializadas como o hipotálamo anterior, ou promove ativamente uma resposta agressiva (nas fases iniciais da agressão, quando influencia a predisposição à agressão), ou é necessária, mas permissiva em relação ao aumento da agressão e / ou atividade (nas fases posteriores do embate) (SUMMERS et al., 2005; SUMMERS e WINBERG, 2006). Exemplo desse papel permissivo desempenhado pelo hormônio, Sakakura et al. (1998) encontraram uma correlação positiva entre mudanças ontogênicas na concentração tecidual de cortisol e o comportamento agressivo em larvas de rabo-amarelo (*Seriola quinqueradiata*): após a transição do estágio larval para o juvenil, os níveis basais de cortisol aumentaram concomitantemente com o início e desenvolvimento do comportamento agressivo.

Os níveis basais de cortisol podem influenciar o resultado de embates, talvez por demonstrar a condição fisiológica inicial do animal. Machos não-territoriais (subordinados) de *Astatotilapia burtoni* que possuem níveis de elevação de cortisol médios, que seriam ideais, possuem o mesmo perfil comportamental que os animais territoriais dominantes, atacando diretamente um estímulo agressor mais que efetuando ataques transferidos (ataques desferidos contra um indivíduo de condição social mais baixa, e não contra o agressor inicial); enquanto os que apresentavam níveis extremos do hormônio (muito alto ou muito baixo) preferencialmente demonstravam mais ataques transferidos. Uma possível explicação é que

para animais que estão fora de sua condição ótima (cortisol muito alto ou muito baixo), o custo de uma retaliação agressiva será maior, sendo mais garantido reagir contra um indivíduo menos provável de retribuir. Já quando o animal possui uma resposta moderada de estresse esta pode lhe garantir uma melhor condição física, diminuindo o custo potencial de um desafio e estimulando uma reação direta contra o agressor (CLEMENT et al., 2005).

Trutas-arco-íris cuja adaptação a um novo ambiente (evidenciada pela aceitação de alimento) foi mais rápida tornaram-se dominantes na maioria das vezes, demonstrando que a inibição do apetite após a transferência a um novo ambiente provavelmente reflete algum aspecto fisiológico da resposta de estresse, que pode influenciar o resultado de interações agonísticas (ØVERLI et al., 2004a). Tanto na truta-arco-íris quanto na truta-marrom (*Salmo trutta*), o pareamento causou elevação significativa do cortisol após quatro horas de embate nos animais subordinados, elevação essa que se manteve durante uma semana na qual foram monitorados. Ainda no mesmo estudo, a análise do cortisol pré e pós-embate, em pares das duas espécies mantidos juntos por 48 horas, demonstrou que não apenas o cortisol dos subordinados elevou-se após a derrota, como também os indivíduos com maiores níveis de cortisol basal se tornaram subordinados. Os autores inferiram que condições fisiológicas mais precárias, evidenciadas por uma elevação crônica do cortisol, podem resultar na falha da aquisição de um status mais elevado; assim, o cortisol pode de fato ser um indicador de subordinação. O padrão de elevação do cortisol pós-embate dos subordinados em truta-arco-íris foi mais elevado que em truta-marrom, fato que pode ser explicado pelo comportamento mais agressivo dos indivíduos dominantes destas primeiras, que causaria nos perdedores um estresse crônico mais intenso (SLOMAN et al., 2001).

Em “killifish” (*Kryptolebias marmoratus*), quando um indivíduo era pareado contra um oponente de tamanho menor, a probabilidade de que ele iniciasse o embate e de que o vencesse tinha relação positiva com o nível de cortisol pré-embate do oponente. Além disso, no oponente menor seu próprio nível de cortisol pré-embate estava negativamente relacionado com o sucesso na briga (EARLEY e HSU, 2008). Portanto, o nível de cortisol do indivíduo pode influenciar também a estratégia do oponente, ou diretamente, como um estímulo químico proveniente da liberação do hormônio na água, ou indiretamente, por modular o comportamento do peixe e assim influenciar a resposta comportamental de seu oponente.

Peixes-elétricos *Apteronotus leptorhynchus* implantados com cortisol e mantidos isolados responderam a um estímulo elétrico com “chirps” na mesma intensidade que aqueles que foram pareados com um co-específico (sem implante); já os animais implantados como controle e isolados, sem o hormônio, emitiram “chirps” na mesma intensidade que animais isolados e não estimulados eletricamente. Portanto, a elevação do cortisol fez com que o

estímulo elétrico, que por si só não foi capaz de aumentar a intensidade de “*chirps*” em animais sem elevação exógena do hormônio, se equiparasse ao estímulo da presença de um competidor. Além disso, em peixes pareados o nível de cortisol plasmático teve correlação positiva com a intensidade de “*chirps*”. Assim, o cortisol pode participar causalmente em mudanças socialmente induzidas no comportamento de “*chirping*” (DUNLAP et al., 2002).

Trutas-arco-íris alimentadas por um dia com cortisol exógeno tiveram a atividade locomotora aumentada quando desafiadas com a introdução de um co-específico, enquanto peixes alimentados com cortisol, mas mantidos sem perturbação, não demonstraram diferença na locomoção. Assim, supõe-se que os efeitos comportamentais do cortisol sejam mediados pela interação com outros sistemas de sinais que são ativados pelo desafio, como na introdução de um intruso. O tratamento por dois dias com cortisol na alimentação provocou diminuição tanto na agressividade quanto na atividade locomotora. Esta resposta dependente do tempo pode ter um significado adaptativo: durante um curto período de estresse, quando ainda não está claro se o organismo é capaz de escapar ou neutralizar o estressor, um incremento energético no sentido de lidar com a situação deve ser atendido. Por outro lado, caso o organismo não seja capaz de escapar do estresse crônico, por um período mais longo, seria melhor reagir com uma resposta passiva, poupando energia (ØVERLI et al., 2002). Portanto, pensando no cortisol como agindo hormeticamente e respondendo de acordo com a intensidade e especificidade do estímulo, essa diferença de ação mostra-se mais adaptativa do que discrepante.

Dunlap et al. (2006) demonstraram que tanto o pareamento quanto a elevação exógena de cortisol, ambos tratamentos que elevam a intensidade de “*chirping*” em peixes-elétricos *Apteronotus leptorhynchus*, aumentam a adição de células na zona periventricular adjacente ao núcleo cerebral que controla o comportamento de *chirping* (PPn-C, núcleo pré-marcapasso diencefálico). Esses tratamentos também aumentam a densidade das fibras gliais radiais entre a zona de proliferação ventricular e o PPn-C, aumentando assim o meio pelo qual as novas células adicionadas poderiam migrar para o circuito eletrocomunicador e se diferenciar em neurônios. No entanto, ainda segundo esses autores, novos estudos devem ser feitos para elucidar qual o verdadeiro papel do cortisol nessa adição celular, sendo direta ou indireta. Caso essa adição seja realmente mediada pelo cortisol, a elevação do hormônio pode não apenas alterar a resposta comportamental como também os aspectos morfológicos relacionados a esse comportamento.

Embora ainda seja pouco avaliado, é provável que o sistema endócrino possa influenciar não apenas o status (dominante/subordinado), mas também a dinâmica e, portanto,

o resultado da disputa. Por exemplo, em killifish (*Kryptolebias marmoratus*), níveis altos de cortisol pré-embate são correlacionados a baixos níveis de agressão (EARLEY e HSU, 2008).

Condições estressantes anteriores, passíveis de causar disrupção na resposta de estresse, também podem afetar o comportamento. Earley et al. (2006) avaliaram a influência da condição de alojamento pré-embate, a intensidade do embate e o resultado na concentração de cortisol pós-embate em ciclídeos territoriais (*Archocentrus nigrofasciatus*). Os animais mantidos isolados antes do embate apresentaram aumento nos níveis de cortisol, indicando estar sob uma situação estressante. Apenas os perdedores, que antes do desafio social foram mantidos em grupos, mostraram uma relação positiva entre o nível de agressividade sofrida e o nível de cortisol, o que pode indicar que os animais isolados sofreram uma disrupção do eixo HPI, evidenciando que uma situação estressante anterior pode diminuir a capacidade do animal em nivelar sua resposta à intensidade da demanda energética de um novo desafio.

Até mesmo o estresse dos progenitores pode ser um fator relevante no comportamento da prole. Durante a oogênese em peixes o cortisol pode ser transferido para os ovos em desenvolvimento, e a condição de estresse causar impacto tanto na qualidade dos ovos como no desenvolvimento posterior da progênie. Cortisol injetado em fêmeas antes da desova, somado à hipertermia durante a incubação dos ovos, alterou a resposta da prole frente a um novo ambiente, despendendo mais tempo no fundo do aquário e sem movimentação em salmão-do-Atlântico (EPSMARK et al., 2008).

Outro fator a ser considerado na relação entre o cortisol e o comportamento é o gênero do animal. No ciclídeo *Neolamprologus pulcher*, os machos possuem níveis de cortisol mais altos que as fêmeas, particularmente entre membros de um mesmo grupo. Essa diferença pode ser devida tanto ao papel de defesa de território mais exacerbado nos machos, quanto a potencial competição reprodutiva entre indivíduos do mesmo gênero (BENDER et al., 2008).

Em diversas espécies, derrotas sociais são eventos extremamente estressantes que podem levar a alterações drásticas na fisiologia e no comportamento. Entretanto, muitas vezes é difícil discernir se as diferenças fisiológicas e comportamentais entre dominantes e subordinados são causa ou consequência da posição social (ØVERLI et al., 2004a).

Diversos estudos vêm tentando elucidar como a posição social afeta os níveis de cortisol e qual a relação entre o status e o estresse crônico, com diferentes resultados em diferentes espécies. Embora a interação agonística seja estressante para ambos os animais, a recuperação dos níveis basais de cortisol pode ser diferente entre dominantes e subordinados. Trutas-arco-íris dominantes apresentaram os níveis de cortisol mais elevados que os subordinados uma semana após ter cessado o pareamento, sugerindo uma diferença no tempo de recuperação devido à posição social (FERNANDES-DE-CASTILHO et al., 2008). No

ciclídeo com reprodução cooperativa (em que no grupo há um macho reprodutor e machos subordinados “ajudantes”), *Neolamprologus pulcher*, os machos subordinados que faziam maior número de demonstrações de submissão ao macho reprodutor possuíam níveis significativamente menores de cortisol, sendo essa correlação não observada quanto ao número de agressões do reprodutor contra o ajudante. Os autores concluíram que o comportamento submisso é um importante mecanismo de alívio de situações estressantes nos peixes subordinados nos conflitos destes com os machos reprodutores (BENDER et al., 2006). Nessa mesma espécie não foi encontrada diferença nos níveis de cortisol entre os reprodutores, ajudantes e ajudantes juvenis (de posição hierárquica mais baixa). Entretanto, quando comparados juvenis subordinado de um grupo com juvenis mantidos em grupos agregados (em que não há hierarquia), os primeiros tinham níveis de cortisol significativamente mais altos, além de haver, nesses animais, uma correlação entre a baixa posição social, altos níveis de cortisol e aumento do comportamento de cuidado da prole do grupo, o que provavelmente é um sinal de apaziguamento para o dominante reprodutor (BENDER et al., 2008).

Mas afinal, qual posição social é a mais estressante? Qual o motivo dessa aparente discrepância na relação entre o status social e a elevação crônica do cortisol? Segundo Goymann e Wingfield (2004), suporte e cooperação podem diminuir a carga alostática na vida em grupo; do mesmo modo, conflito social e competição aumentam essa carga, o que pode ser inferido pelo nível de corticóides. O status social ocupado por um indivíduo em um grupo exerce grande influência na carga alostática deste animal. Esses autores compararam a carga alostática do status social com seu padrão de glicocorticóides entre várias espécies no ambiente natural (aves, primatas, canídeos, etc), levantando a hipótese de que a carga alostática inerente a um determinado status é que irá apontar se os indivíduos naquela posição terão os maiores ou menores níveis de cortisol do grupo. Por exemplo, se a dominância é inerente (ou sua aquisição segue uma convenção) e aceita pelos outros membros do grupo sem desafios posteriores, então os dominantes terão o menor nível de cortisol nesta população. Já se a dominância é adquirida e mantida através de intensa agressão contra o subordinado e é permanentemente ameaçada, então o custo da dominância se torna maior, aumentando a possibilidade de que os dominantes apresentem cronicamente maiores níveis de cortisol. Da mesma forma, o “custo” de ser um subordinado está relacionado ao nível de cortisol: em espécies em que nesta posição o acesso ao alimento, reprodução e território é severamente diminuído, e/ou o dominante demonstra muitos atos agressivos contra seus subordinados, provavelmente o status inferior demonstrará estresse crônico e níveis elevados de cortisol.

No ciclídeo *Haplochromis burtoni*, a diferença entre os perfis fisiológicos (nível de cortisol) entre machos territoriais e machos não-territoriais aumenta conforme aumenta a

estabilidade do grupo: com o passar do tempo após a formação do grupo, o crescimento do índice de estabilidade social aumenta ao mesmo tempo que uma elevação significativa do cortisol nos machos não-territoriais se torna aparente (FOX et al., 1997). Já em matrinxãs, após interação social de cinco horas, subordinados já apresentaram aumento significativo nos níveis de cortisol, glicemia, hematócrito e hemoglobina, quando comparados a indivíduos não-pareados. Entretanto, estes parâmetros não se mostraram alterados nos peixes dominantes (FERRAZ e GOMES, 2009).

Deve-se considerar, também, que as condições laboratoriais talvez não sejam ideais para demonstrar os efeitos do status social sobre os animais. Ao contrário do encontrado em laboratório, sob condições naturais Sloman et al. (2008) demonstraram que as trutas-marrom dominantes em três locais diferentes de um lago possuíam níveis de cortisol mais alto do que os animais subordinados. Além disso, houve relação positiva entre o cortisol elevado e maiores deposições de lipídeos no fígado e no músculo; embora não significativa, também houve uma tendência de maiores taxas de crescimento entre os dominantes. Portanto, é possível que, em condições naturais, níveis elevados de cortisol possam não significar necessariamente uma desvantagem.

Mesmo experiências prévias podem alterar essa relação entre cortisol e comportamento. Ruiz-Gomez et al. (2008) trabalharam com linhagens LR e HR de truta-arco-íris após transporte, e observaram uma inversão no padrão comportamental destas linhagens: os indivíduos HR reiniciaram a alimentação antes e foram dominantes na maioria significativa dos embates contra os LR; no entanto, nenhuma alteração do padrão de resposta do eixo HPI foi observada. Mesmo um ano após o transporte, a linhagem HR continuou sendo mais rápida na recuperação da alimentação, embora já não houvesse diferença significativa na aquisição da dominância entre as linhagens. Interessantemente, tanto indivíduos destas linhagens testados no local de saída do transporte (ou seja, que não sofreram esse manejo) quanto a prole dos animais transportados demonstraram o padrão usual de comportamento, com os peixes LR sendo dominantes e reiniciando a alimentação após estresse em um período de tempo menor. Os autores sugerem que haja um grau de plasticidade em aspectos comportamentais da estratégia de enfrentamento que são independentes do eixo HPI, já que a alteração no comportamento não foi acompanhada por uma mudança no padrão do nível de cortisol. Mais ainda, esta alteração pode ter uma explicação: os peixes da linhagem HR submetidos ao transporte tiveram uma perda de peso significativamente maior com o manejo; portanto, estes animais se tornaram mais agressivos e competitivos por recursos devido ao seu maior déficit metabólico.

A elevação do cortisol pode obedecer à intensidade do estímulo inclusive quando não há agressão direta. Paulistinhas (*Danio rerio*) submetidos apenas a contato visual com um predador tiveram aumento significativo de cortisol em relação aos peixes que não tiveram contato nenhum, mas esse aumento foi maior no grupo que teve contato direto (no mesmo aquário) com o predador. Esse maior aumento pode ser explicado pela detecção de uma situação relevante de risco combinando informações visuais, olfatórias e químicas (BARCELLOS et al., 2007). Desta forma, pode-se inferir que estímulos visuais são estressantes por si só, mas a combinação de vários estímulos (químico, olfatório, e até mesmo físico – agressão direta) são potencialmente mais estressantes. Peixes-elétricos *Apteronotus leptorhynchus* mantidos com um co-específico no mesmo aquário por 7 dias, separados apenas por uma tela, possuíam níveis de cortisol significativamente mais altos do que os animais mantidos isolados. Apenas a presença do oponente, mesmo sem embate físico, mas sentida química, elétrica e visualmente, por si só é estressante (DUNLAP et al., 2002).

Por outro lado, a própria agressão pode funcionar como uma “válvula de escape” para o estresse. Trutas-arco-íris submetidas à derrota por um co-específico de tamanho maior aumentaram sua agressividade contra um subordinado de menor tamanho previamente estabelecido. Entretanto, a relação entre o nível de agressão sofrido na derrota e o aumento na agressão transferida foi negativa. Mais ainda, houve uma tendência de que peixes não reparados com seus subordinados tivessem níveis de cortisol mais altos do que aqueles que tiveram oportunidade de desferir agressão transferida (ØVERLI et al., 2004b). Em *Kryptolebias marmoratus*, se o vencedor do embate for o animal de tamanho maior, há uma relação negativa entre o nível de cortisol basal (pré-embate) e o número de ataques de reforço (após o status estar definido); já se o vencedor for o peixe menor, essa relação é positiva. Essa diferença poderia ser devida a algum outro sistema (que não o cortisol) atuando quando o vencedor é um peixe menor; ou, mais provavelmente, uma estratégia dos vencedores de menor tamanho para “aliviar” o maior estresse de um combate onde ele entrou com um nível maior de cortisol (EARLEY e HSU, 2008).

Em resumo, não apenas as interações sociais podem ser estressantes para os peixes, como também o estresse, e o consequente aumento nos níveis de cortisol, podem afetar o comportamento agressivo. Apesar do grande número de estudos na área, a imensa variabilidade de resultados, somada às claras diferenças entre as espécies estudadas até o momento e nossos peixes nativos (ambientais, evolutivas) torna inadequada a extrapolação de inferências existentes para as espécies brasileiras. Dado que a aquicultura traz consigo uma série de manejos estressantes inevitáveis, e que o estresse pode influenciar um comportamento negativo para a produção de matrinxã, a compreensão da relação entre o cortisol e a

agressividade nesta espécie é um passo importante para se estabelecer as bases de um pacote tecnológico para a criação do matrinxã.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALURU, N.; VIJAYAN, M. M. Stress transcriptomics in fish: A role for genomic cortisol signaling. **General and Comparative Endocrinology**, v. 164, p. 142-150, 2009.

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

ANDERSEN, I. L.; NÆVDAL, E.; BAKKEN, M.; BØE, K. E. Aggression and group size in domesticated pigs, *Sus scrofa*: 'when the winner takes it all and the loser is standing small'. **Animal Behaviour**, v. 68, p. 965-975, 2004.

ARNOTT, G.; ELWOOD, R. W. Gender differences in aggressive behaviour in convict cichlids. **Animal Behaviour**, v. 78, p. 1221-1227, 2009.

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

BARCELLOS, L. J. G.; RITTER, F.; KREUTZ, L. C.; QUEVEDO, R. M.; SILVA, L. B.; BEDIN, A. C.; FINCO, J.; CERICATO, L. Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, *Danio rerio*. **Aquaculture**, v. 272, p. 774-778, 2007.

BARRETO, R. E.; VOLPATO, G. L.; POTTINGER, T. G. The effect of elevated blood cortisol levels on the extinction of a conditioned stress response in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 50, p. 484-488, 2006.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Review of Fish Diseases**, v. 1, p. 3-26, 1991.

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. 517-525, 2002.

BENDER, N.; HEG, D.; HAMILTON, I. M.; BACHAR, Z.; TABORSKY, M.; OLIVEIRA, R. F. The relationship between social status, behaviour, growth and steroids in male helpers and breeders of a cooperatively breeding cichlid. **Hormones and Behavior**, v. 50, p. 173-182, 2006.

BENDER, N.; HEG-BACHAR, Z.; OLIVEIRA, R. F.; CANARIO, A. V. M.; TABORSKY, M. Hormonal control of brood care and social status in a cichlid fish with brood care helpers. **Physiology & Behavior**, v. 94, p. 349-358, 2008.

BRÄNNÄS, E. The effect of moderate exercise on growth and aggression depending on social rank in groups of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 119, p. 115-119, 2009.

- BRELIN, D.; PETERSSON, E.; DANNEWITZ, J.; DAHL, J.; WINBERG, S. Frequency distribution of coping strategies in four populations of brown trout (*Salmo trutta*). **Hormones and Behavior**, v. 53, p. 546-556, 2008.
- CARPENTER, R. E.; KORZAN, W. J.; BOCKHOLT, C.; WATT, M. J.; FORSTER, G. L.; RENNER, K. J.; SUMMERS, C. H. Corticotropin releasing factor influences aggression and monoamines: modulation of attacks and retreats. **Neuroscience**, v. 158, p. 412-425, 2009.
- CLEMENT, T. S.; PARIKH, V.; SCHRUMPF, M.; FERNALD, R. D. Behavioral coping strategies in a cichlid fish: the role of social status and acute stress response in direct and displaced aggression. **Hormones and Behavior**, v. 47, p. 336-342, 2005.
- CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, p. 205-223, 2004.
- CRESCÊNCIO, R. **Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação**. In: BALDISSEROTTO, B; GOMES LC. (Org.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. v. 1, p. 149-174, Santa Maria, 2005.
- DAVIS, K. B.; GRIFFIN, B. R.; GRAY, W. L. Effect of dietary cortisol on resistance of channel catfish to infection by *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus disease. **Aquaculture**, v. 218, p. 121-130, 2003.
- DUNLAP, K. D.; PELCZAR, P. L.; KNAPP, R. Social interactions and cortisol treatment increase the production of aggressive electrocommunication signals in male electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. **Hormones and Behavior**, v. 42, p. 97-108, 2002.
- DUNLAP, K. D.; CASTELLANO, J. F.; PRENDJAJ, E. Social interaction and cortisol treatment increase cell addition and radial glia fiber density in the diencephalic periventricular zone of adult electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. **Hormones and Behavior**, v. 50, p. 10-17, 2006.
- EARLEY, R. L.; EDWARDS, J. T.; ASEEM, O.; FELTON, K.; BLUMER, L. S.; KAROM, M.; GROBER, M. S.. Social interactions tune aggression and stress responsiveness in a territorial cichlid fish (*Archocentrus nigrofasciatus*). **Physiology & Behavior**, v. 88, p. 353-363, 2006.
- EARLEY, R. L.; HSU, Y. Reciprocity between endocrine state and contest behavior in the killifish, *Kryptolebias marmoratus*. **Hormones and Behavior**, v. 53, p. 442-451, 2008.
- EPSMARK, A. M.; ERIKSEN, M. S.; SALTE, R.; BRAASTAD, B. O.; BAKKEN, M. A note on pre-spawning maternal cortisol exposure in farmed Atlantic salmon and its impact on the behaviour of offspring in response to a novel environment. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 404-409, 2008.
- FAO. Fishery and Aquaculture Country Profiles. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_BR/3/en>. Acesso em: 23 nov. 2009.
- FERNANDES-DE-CASTILHO, M.; POTTINGER, T. G.; VOLPATO, G. L. Chronic social stress in rainbow trout: Does it promote physiological habituation? **General and Comparative Endocrinology**, v. 155, p. 141-147, 2008.

- FERRAZ, F. B.; GOMES, L. C. Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 153, p. 293-296, 2009.
- FOX, H. E.; WHITE, S. A.; KAO, M. H. F.; FERNALD, R. D. Stress and dominance in a social fish. **The Journal of Neuroscience**, v. 17, p. 6463–6469, 1997.
- GALLO, V. P.; CIVININI, A. Survey of the adrenal homolog in teleosts. **International Review of Cytology**, v. 230, p. 89-187, 2003.
- GIAQUINTO, P. C.; VOLPATO, G. L. Chemical communication, aggression and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. **Physiology & Behavior**, v. 62, n. 6, p. 1333-1338, 1997.
- GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. **Criação de Matrinxã**. In: BALDISSEROTTO, B; GOMES LC. (Org.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. v. 1, p. 149-174, Santa Maria, 2005.
- GOYMANN, W.; WINGFIELD, J. C.. Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. **Animal Behaviour**, v. 67, p. 591-602, 2004.
- HÖGLUND, E.; BALM, P. H. M.; WINBERG, S. Stimulatory and inhibitory effects of 5-HT_{1A} receptors on adrenocorticotrophic hormone and cortisol secretion in a teleost fish, the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). **Neuroscience Letters**, v. 324, p. 193–196, 2002.
- HOSOYA, S.; JOHNSON, S. C.; IWAMA, G. K.; GAMPERL, A. K.; AFONSO, L. O. B. Changes in free and total plasma cortisol levels in juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) exposed to long-term handling stress. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 146, p. 78-86, 2007.
- HOWES, G. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). **Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology**, v. 43, p. 1-47, 1982.
- JOHANSSON, J. I.; ÅKERMAN, A. Intersexual differences in aggression in juvenile rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 52, p. 1292–1294, 1998.
- JOHANSSON, J. I.; SERNLAND, E.; BLIXT, M. Sex-specific aggression and antipredator behaviour in young brown trout. **Ethology**, v. 107, p. 587-599, 2001.
- KARINO, K.; SOMEYA, C. The influence of sex, line, and fight experience on aggressiveness of the Siamese fighting fish in intrasexual competition. **Behavioural Processes**, v. 75, p. 283–289, 2007.
- KOOLHAAS, J. M.; KORTE, S. M.; DE BOER, S. F.; DER VEGT, B. J.; VAN REENEN, C. G.; HOPSTER, H.; DE JONG, I. C.; RUIS, M. A. W.; BLOKHUIS, H. J. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 23, p. 925–935, 1999.
- MCCORMICK, S. D.; REGISH, A.; O’DEA, M. F.; SHRIMPTON, J. M. Are we missing a mineralocorticoid in teleost fish? Effects of cortisol, deoxycorticosterone and aldosterone on osmoregulation, gill Na⁺,K⁺-ATPase activity and isoform mRNA levels in Atlantic salmon. **General and Comparative Endocrinology**, v. 157, p. 35–40, 2008.

- McEWEN, B. S.; WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 2–15, 2003.
- MIKICS, E.; BARSY, B.; HALLER, J. The effect glucocorticoids on aggressiveness in established colonies of rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, p. 160-170, 2007.
- MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 9, p. 211-268, 1999.
- MORMÈDE, P.; ANDANSON, S.; AUPÉRIN, B.; BEERDA, B.; GUÉMÉNÉ, D.; MALMKVIST, J.; MANTECA, X.; MANTEUFFEL, G.; PRUNET, P.; VAN REENEN, C. G.; RICHARD, S.; VEISSIER, I. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Physiology & Behavior**, v. 92, p. 317-339, 2007.
- MUNAKATA, A.; AMANO, M.; IKUTA, K.; KITAMURA, S.; AIDA, K.. Effects of growth hormone and cortisol on the downstream migratory behavior in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 150, p. 12-17, 2007.
- NIJMAN, V.; HEUTS, B. A. Effect of environmental enrichment upon resource holding power in fish in prior residence situations. **Behavioural Processes**, v. 49, p. 77–83, 2000.
- ØVERLI, Ø.; KOTZIAN, S.; WINBERG, S. Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 42, p. 53-61, 2002.
- ØVERLI, Ø.; KORZAN, W. J.; HÖGLUND, E.; WINBERG, S; BOLLIG, H.; WATT, M.; FORSTER, G. L.; BARTON, B. A.; ØVERLI, E.; RENNER, K. J.; SUMMERS, C. H. Stress coping style predicts aggression and social dominance in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 45, p. 235-241, 2004a.
- ØVERLI, Ø.; KORZAN, W. J.; LARSON, E. T.; WINBERG, S.; LEPAGE, O.; POTTINGER, T. G.; RENNER, K. J.; SUMMERS, C. H.. Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. **Hormones and Behavior**, v. 45, p. 324-329, 2004b.
- ØVERLI, Ø.; SØRENSEN, C.; NILSSON, G. E. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? **Physiology & Behavior**, v. 87, p. 506 – 512, 2006.
- ØVERLI, Ø.; SØRENSEN, C.; PULMAN, K. G. T.; POTTINGER, T. G.; KORZAN, W.; SUMMERS, C. H.; NILSSON, G. E. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 396–412, 2007.
- PETERSON, B. C.; SMALL, B. C. Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 28, p. 391-404, 2005.
- POTTINGER, T. G.; CARRICK, T. R.; APPLEBY, A.; YEOMANS, W. E. High blood cortisol levels and low cortisol receptor affinity: is the chub, *Leuciscus cephalus*, a cortisol-resistant teleost? **General and Comparative Endocrinology**, v. 120, p. 108–117, 2000.
- POTTINGER, T. G.; CARRICK, T. R. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 40, p. 419-427, 2001.

- PRUNET, P.; STURM, A.; MILLA, S. Multiple corticosteroid receptors in Wsh: From old ideas to new concepts. **General and Comparative Endocrinology**, v. 147, p. 17–23, 2006.
- ROTLANT, J.; RUANE, N. M.; DINIS, M. T.; CANARIO, A. V. M.; POWER, D. M. Intra-adrenal interactions in fish: Catecholamine stimulated cortisol release in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 143, p. 375–381, 2006.
- ROY, B.; RAI, U. Genomic and non-genomic effect of cortisol on phagocytosis in freshwater teleost *Channa punctatus*: An in vitro study. **Steroids**, v. 74, p. 449–455, 2009.
- RUIZ-GOMEZ, M. L.; KITILSEN, S.; HÖGLUND, E.; HUNTINGFORD, F. A.; SØRENSEN, C.; POTTINGER, T. G.; BAKKEN, M.; WINBERG, S.; KORZAN, W. J.; ØVERLI, Ø. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. **Hormones and Behavior**, v. 54, p. 534–538, 2008.
- SAKAKURA, Y.; TAGAWA, M.; TSUKAMOTO, K. Whole-body cortisol concentrations and ontogeny of aggressive behavior in yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel; Carangidae). **General and Comparative Endocrinology**, v. 109, p. 286–292, 1998.
- SAPOLSKY, R. M. Stress in the wild. **Scientific American**, p. 106-113, jan. 1990.
- SCHRECK, C. B. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 549-556, 2010.
- SLOMAN, K. A.; METCALFE, N. B.; TAYLOR, A. C.; GILMOUR, K. M. Plasma cortisol concentrations before and after social stress in rainbow trout and brown trout. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 74, n. 3, p. 383-389, 2001.
- SLOMAN, K. A.; MONTPETIT, C. J.; GILMOUR, K. M. Modulation of catecholamine release and cortisol secretion by social interactions in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 127, p. 136–146, 2002.
- SLOMAN, K. A.; BAKER, D.; WINBERG, S.; WILSON, R. W. Are there physiological correlates of dominance in natural trout populations? **Animal Behaviour**, v. 76, p. 1279-1287, 2008.
- ST-CYR, S.; AUBIN-HORTH, N. Integrative and genomics approaches to uncover the mechanistic bases of fish behavior and its diversity. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 152, p. 9–21, 2009.
- SUMMERS, C. F.; WATT, M. J.; LING, T. L.; FORSTER, G. L.; CARPENTER, R. E.; KORZAN, W. J.; LUKKES, J. L.; ØVERLI, Ø. Glucocorticoid interaction with aggression in non-mammalian vertebrates: Reciprocal action. **European Journal of Pharmacology**, v. 526, p. 21-35, 2005.
- SUMMERS, C. H.; WINBERG, S. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 4581-4589, 2006.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews**, v. 77, p. 591-625, 1997.

WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA, D.; ŁOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. **General and Comparative Endocrinology**, v. 125, p. 176-183, 2002.

**Elevação plasmática do cortisol
aumenta a agressividade em juvenis de
matrinxã, *Brycon amazonicus*.**

RESUMO

A agressividade intraespecífica do matrinxã (*Brycon amazonicus*) causa perdas por estresse e canibalismo na sua criação em cativeiro; compreender os fatores que influenciam esse comportamento é necessário para a tecnologia de produção desta espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da elevação do nível de cortisol, do gênero e da residência prévia na interação agonística de juvenis de matrinxã. Os peixes foram isolados e alimentados com ração controle ou suplementada com cortisol, e então pareados com co-específicos de mesmo tamanho tratados com ração controle. O pareamento foi feito em aquários neutros ou no aquário do animal tratado, estabelecendo uma relação residente-intruso; após o embate foi feita a sexagem dos peixes para testar o efeito do gênero. Nos animais pareados em território neutro, houve aumento da agressividade causado pela administração do cortisol em comportamentos de agressão direta que definem o vencedor do embate. Igualmente, no estudo dos animais residentes e intrusos, a elevação do cortisol aumentou ainda mais a agressividade e vantagem no embate conferidas pela territorialização. Em relação ao gênero, os machos se mostraram mais agressivos do que as fêmeas. Concluiu-se que a elevação do cortisol causa aumento da agressividade, portanto, nesta espécie eventos estressantes podem aumentar a interação agonística.

Palavras-chave: agressividade, *Brycon amazonicus*, comportamento, cortisol, matrinxã, territorialidade.

ABSTRACT

The intraspecific aggressiveness of matrinxã (*Brycon amazonicus*) causes stress and cannibalism in its captive breeding; the understanding of the factors that influence this behavior is necessary to the technology of production of this species. The aim of this study was to evaluate the effect of the raising the level of cortisol, gender and prior residence in agonistic interaction of juvenile matrinxã. The fish were isolated and fed with control diet or supplemented with cortisol diet, and then matched with conspecifics of the same size treated with control diet. The pairing was done in neutral aquariums, or in the aquarium of the animal treated by establishing a resident-intruder interaction; after the fight the sex from the fishes was checked to test the effect of gender. In animals paired in neutral territory, was increased aggression caused by administration of cortisol in direct aggression behaviors that define the winner of the fight. In the same way, in the study of the resident and intruders animals, the

elevation of cortisol further increased the advantage in aggression and confrontation conferred by territoriality. In relation to gender, the males proved more aggressive than females. We concluded that the elevation of cortisol causes increased aggressiveness, therefore, stressful events can increase the agonistic display in this species.

Keywords: aggression, behavior, *Brycon amazonicus*, cortisol, matrinxã, territoriality.

INTRODUÇÃO

O crescimento da aquicultura no Brasil estimula o interesse pela criação de espécies nativas; no entanto, o conhecimento sobre as características destas para criação ainda não é suficiente para a elaboração de um pacote tecnológico. O matrinxã, *Brycon amazonicus*, é uma espécie com boa aceitação no mercado por sua carne saborosa e esportividade na pesca, além de possuir características que favorecem sua criação tais como fácil aceitação da ração artificial e rápido crescimento (GOMES & URBINATI, 2005). No entanto, sua agressividade intraespecífica é um entrave por causar grandes perdas na produção. Além das perdas devido ao canibalismo, o estresse causado pelas interações pode representar uma ameaça para a saúde e o bem-estar dos peixes.

O estresse social, derivado entre os indivíduos de um grupo, pode ser considerado um estresse crônico na criação comercial de peixes, posto que nestas condições os animais são agrupados artificialmente, sem controle do tamanho do grupo, impedindo que os subordinados possam fugir das agressões migrando para outro território (ANDERSEN et al., 2004). Estímulos estressores desencadeiam respostas comportamentais e fisiológicas consideradas compensatórias e/ou adaptativas, que permitem ao animal superar a ameaça. Entretanto, caso esse estresse seja intenso e crônico, a resposta de estresse pode perder seu valor adaptativo e tornar-se deletéria, resultando em inibição do crescimento, comprometimento reprodutivo e queda na resistência a patógenos (WENDELAAR BONGA, 1997). Um dos indicadores mais comumente usado para medir o estresse em peixes é o cortisol, hormônio liberado pelas células interrenais em peixes e que atua principalmente no metabolismo hidromineral e energético (MOMMSEN et al., 1999).

Diversos fatores podem influenciar o comportamento agressivo: estratégias utilizadas no embate, como reação pró-ativa ou reativa (SUMMERS et al., 2005; ØVERLI et al., 2007), experiências anteriores (ØVERLI et al., 2004; KARINO e SOMEYA, 2007), nível de contato entre oponentes (visual, químico, elétrico) (GIAQUINTO e VOLPATO, 1997; DUNLAP et al., 2002), resposta do oponente (KARINO e SOMEYA, 2007), gênero (DUNLAP et al., 2002; ARNOTT e ELWOOD, 2009), territorialidade (NIJMAN e HEUTS, 2000), e mesmo níveis de cortisol pré-embate, tanto basais quanto elevados por resposta de estresse.

O gênero pode influenciar o comportamento agressivo tanto em animais adultos quanto nos ainda imaturos. Trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e trutas-marrom (*Salmo trutta*) machos são mais agressivos do que as fêmeas, mesmo na fase juvenil (JOHNSSON e ÅKERMAN, 1998; JOHNSSON et al., 2001); machos e fêmeas de ciclídeo convicto *Amatitlania nigrofasciata* adultos possuem diferentes estratégias de embate: os machos optam

mais por demonstrações laterais e batidas caudais, enquanto as fêmeas preferem demonstrações frontais e mordidas (ARNOTT e ELWOOD, 2009). Fêmeas imaturas de truta-arco-íris se adaptam a um novo ambiente antes dos machos, mas cessam a natação frente a um desafio antes também (ØVERLI et al., 2006).

Animais que tiveram uma exposição prévia à área do embate (territorialização) possuem mais chances de vencer o confronto, pois o indivíduo que já “investiu energia” naquele território explorando comida e abrigo na área, ou mesmo resolvendo conflitos com vizinhos, terá uma perda maior caso não vença, possuindo, portanto, uma maior motivação para investir no confronto; além disso, o próprio conhecimento do ambiente do território confere uma vantagem na briga (NIJMAN e HEUTS, 2000).

Trutas-arco-íris com o cortisol aumentado por administração oral do hormônio aumentaram sua atividade locomotora frente ao estímulo de um oponente uma hora após o tratamento; porém, após 48 horas de tratamento, diminuíram a agressão e a locomoção (ØVERLI et al., 2002). Na mesma espécie, peixes da linhagem que responde com elevação moderada de cortisol durante o estresse são dominantes na maior parte das vezes quando pareados com peixes da linhagem que responde com níveis muito elevados de cortisol (POTTINGER e CARRICK, 2001). Os machos dominantes do ciclídeo *Astatotilapia burtoni* apresentaram resposta de estresse com elevação moderada do cortisol, e respondem ao estímulo de um vídeo de um oponente na maioria das vezes com agressão direta; já os subordinados, com resposta de estresse muito alta ou muito baixa (em relação ao nível de cortisol), reagiram ao mesmo estímulo com agressão transferida a membros inferiores do grupo. Já os subordinados que demonstraram elevação moderada do cortisol responderam da mesma forma que os dominantes, com agressão diretamente contra o vídeo (CLEMENT et al., 2005). A elevação do cortisol em peixes-elétricos *Apteronotus leptorhynchus*, por meio de implantes do hormônio, fez com que os peixes respondessem a um estímulo elétrico com “chirps” (breves pulsos de alta frequência e baixa amplitude que representam sinalização agressiva) na mesma intensidade que aqueles que foram pareados com um coespecífico (sem implante); nos animais implantados como controle, sem o hormônio, estimulados eletricamente e isolados, emitiram “chirps” na mesma intensidade que os animais isolados e não estimulados eletricamente (DUNLAP et al., 2002).

A criação comercial de peixes traz consigo manejos indispensáveis, passíveis de causar estresse agudo; e as condições de estocagem podem causar um estresse crônico. Posto que o aumento dos níveis de cortisol em uma situação estressante é mais lento e sustentado (WENDELAAR BONGA, 1997), seus efeitos sobre o comportamento agressivo são extremamente relevantes, pois podem se estender por um período maior. Portanto,

compreender as variáveis passíveis de afetar a agressão permite a introdução de medidas mitigadoras que minimizem este comportamento. Neste sentido, foi avaliado o efeito do cortisol na agressividade, tanto em animais pareados em território neutro quanto com residência estabelecida, através da administração oral do hormônio a um dos indivíduos do par. Criando-se essa diferença hormonal, foi possível analisar a alteração do comportamento agressivo causada por níveis elevados do cortisol em um dos oponentes, demonstrando os efeitos do aumento deste hormônio após situações de estresse na interação agonística.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da elevação do cortisol pré-embate na agressividade de juvenis de matrinxã pareados em um território neutro, assim como com a influência da territorialidade (relação residente-intruso), analisando alterações comportamentais e fisiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos neste estudo: no primeiro, foi testada a influência da elevação do cortisol na agressividade de animais mantidos previamente isolados e pareados em um território neutro; no segundo, foi testada a influência da elevação do cortisol na agressividade de animais residentes frente a um intruso. Ambos os experimentos utilizaram as mesmas instalações, ração, protocolo de coleta e análises. O protocolo de alimentação, com administração de duas doses de hormônio (dois dias) foi adaptado de Øverli et al. (2002). A metodologia de suplementação da ração com cortisol está de acordo com Brinn (2003): nesse estudo, após a ingestão da ração, o nível de cortisol elevou-se acentuadamente, alcançando em três horas um pico de mais de três vezes a quantidade de hormônio encontrada nos peixes controle. Após esse período, o cortisol diminuiu gradualmente, retornando aos níveis basais em 24 horas. Em estudo preliminar utilizando o protocolo experimental e o tempo de amostragem dos dois experimentos aqui apresentados, o nível de cortisol dos animais controle era em média de 60 ng.mL^{-1} após o embate; já nos animais tratados com cortisol, o valor médio encontrado foi de 200 ng.mL^{-1} . Para garantir a eficácia do tratamento nos experimentos aqui apresentados, apenas os peixes que ingeriram a porção total oferecida nas refeições foram amostrados.

Ao final de cada experimento, os animais foram sexados, e realizada análise estatística para avaliar o efeito do gênero sobre o comportamento, independente do efeito do tratamento com cortisol.

1. Animais experimentais

Foram utilizados peixes com cerca de 7 meses de idade, com $114,48 \pm 2,22$ g e $20,54 \pm 0,13$ cm, oriundos da Piscicultura Águas Claras, em Mococa, em janeiro de 2009. Os animais foram mantidos em tanque escavado até o período do experimento, e arraçoados 2 vezes ao dia até saciedade aparente.

2. Instalações

Antes do período experimental, os animais foram aclimatados às condições laboratoriais em caixas de 500 L (caixas de manutenção), com renovação e aeração constante, a uma densidade média de 70 animais/caixa, por cerca de um mês. Para o isolamento dos peixes durante o período experimental, foram utilizadas caixas plásticas de 50 L, de cor preta, equipadas com termostatos e aeração constante. Para evitar que os animais pulassem para fora das caixas, as caixas foram tampadas com tule preso por elásticos e cobertas com telas, permitindo a passagem da luz. Os embates foram realizados em aquários de 60x40x40 cm, com 72 L de água, revestidos de papel pardo para evitar que os animais de um aquário visualizassem os do aquário ao lado, e o fundo do revestimento foi quadriculado com seis retângulos de 20x10 cm, utilizados posteriormente na análise comportamental e de locomoção.

Ao final do período experimental, o oxigênio dissolvido médio nas caixas de manutenção foi de $4,03 \pm 0,19$ mg.L⁻¹; a temperatura $28,93 \pm 0,12$ °C; o pH $7,77 \pm 0,03$; a amônia total, $1,72 \pm 0,17$ mg.L⁻¹; e a amônia não-ionizada (NH₃), $0,08 \pm 0,01$ mg.L⁻¹.

3. Protocolo experimental

Antes do início dos experimentos, os peixes foram capturados aleatoriamente em diferentes caixas de manutenção, para diminuir o efeito da familiaridade e hierarquia; sendo então pesados e separados em pares de acordo com o peso. A diferença de peso entre os indivíduos de um par não ultrapassou 10 g (diferença média de $5 \pm 1,80$ g); e o peso não apresentou diferença estatística entre os tratamentos de cada experimento (Experimento 1: controle = $114,37 \pm 18,10$ g, cortisol = $109,85 \pm 17,42$, P=0,3837; Experimento 2: controle =

107,72 ± 18,73, cortisol = 112,60 ± 16,53, P=0,7244). Cada um dos peixes recebeu um corte na nadadeira caudal, no lóbulo superior em um dos peixes e no inferior no outro do par, para que pudessem ser identificados posteriormente. Também foram isolados animais que receberam o corte na nadadeira e o tratamento experimental (controle ou cortisol), mas que não foram pareados, permanecendo sem perturbação até o momento da coleta (testemunhas).

Experimento 1: efeito da elevação do cortisol no comportamento agressivo

Neste experimento, ambos os peixes do par foram mantidos sob iguais condições de isolamento e inseridos no aquário simultaneamente para embate. Nos pares controle, os dois peixes foram alimentados com ração controle, portanto ambos foram pareados na condição mais próxima possível. Já nos pares cortisol, um dos oponentes recebeu ração suplementada com cortisol, e o outro foi tratado com ração controle; assim, criou-se uma diferença de nível do hormônio entre o par, enquanto todas as outras condições eram similares, permitindo avaliar o efeito do aumento do cortisol quando não há outra vantagem manipulada.

Durante o período experimental, todos os peixes foram mantidos isolados nas caixas pretas antes do embate; por três dias, todos os animais foram alimentados com ração controle, recebendo 1% do peso vivo pela manhã e 0,5% à tarde. Após essa aclimatação, os pares foram divididos em Tratamento Controle e Tratamento Cortisol. No pares controles, ambos os peixes foram tratados com ração controle (C-C); nos pares cortisol, um dos animais foi tratado com ração controle (C-H) e o outro foi tratado com ração suplementada com cortisol (H-C) (Figura 2). Os peixes alimentados com ração suplementada com cortisol receberam duas doses desta, no quarto e quinto dia pela manhã. O protocolo de alimentação encontra-se no Quadro 1.

Período			Par controle	Par cortisol	
			C-C (ambos)	C-H	H-C
Aclimatação	Dias 1, 2 e 3	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração controle
		tarde	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle
Tratamento experimental	Dia 4	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração cortisol
		tarde	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle
	Dia 5	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração cortisol

Quadro 1. Protocolo alimentar do Experimento 1.

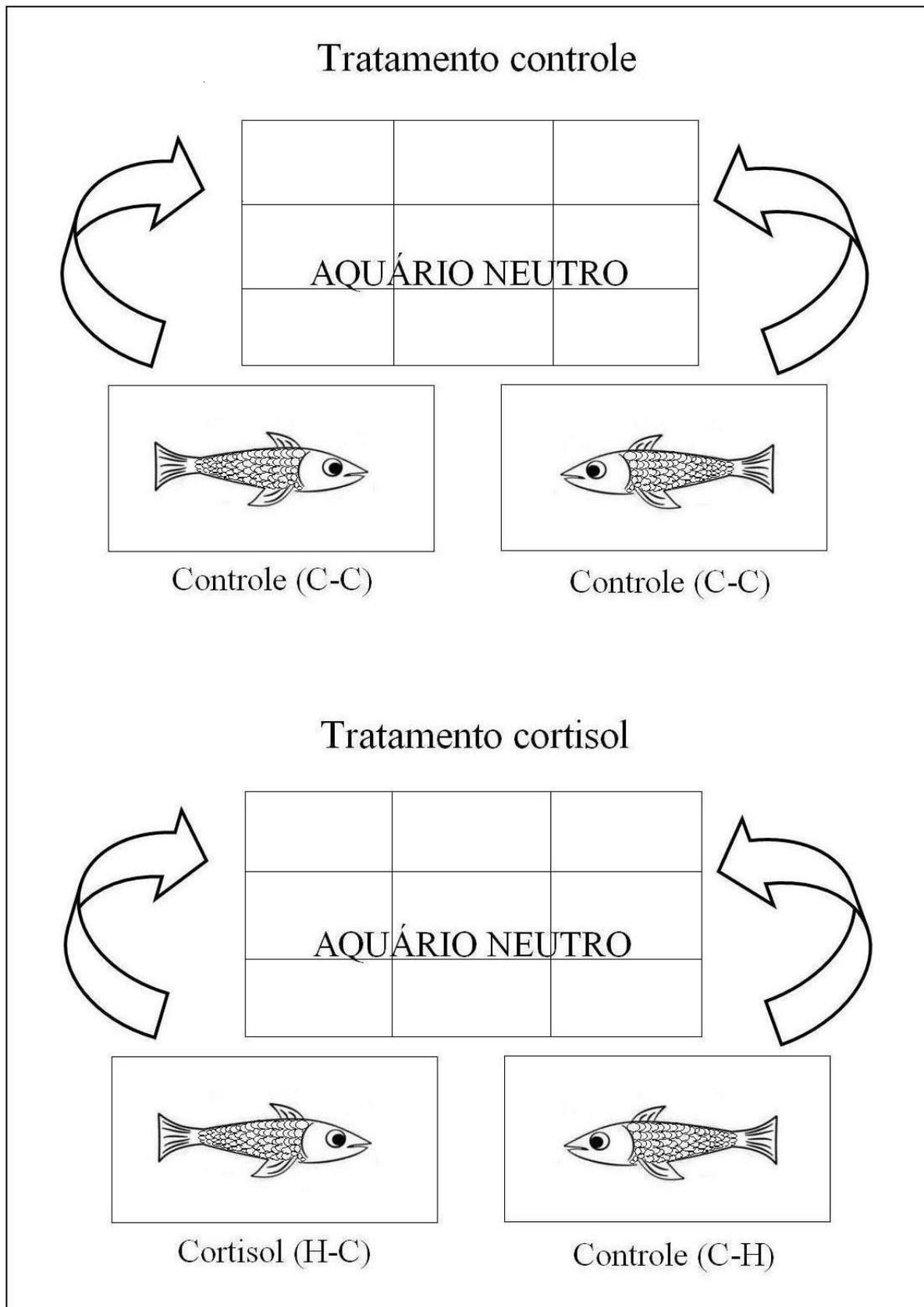


Figura 2. Esquema dos pares em cada tratamento do Experimento 1: os peixes foram mantidos isolados (em caixas de 50 L) e após o tratamento experimental foram pareados em um aquário (território neutro) para embate.

Experimento 2: efeito da elevação do cortisol no comportamento agressivo de peixes territorializados

Neste experimento, metade dos peixes foi mantida isolada no aquário onde foi realizado o embate (residentes), enquanto a outra metade foi mantida isolada nas caixas pretas, sendo introduzida no aquário apenas no momento do embate (intrusos) (Figura 3). Os residentes foram divididos em Tratamento Controle e Tratamento Cortisol, enquanto todos os intrusos receberam ração controle. Assim, ambos os residentes possuíam vantagem sobre os intrusos, causada pela territorialização, e aos animais tratados com cortisol foi adicionado uma diferença endócrina em relação a seu intruso. Assim, foi possível analisar o efeito da elevação do cortisol em animais que já possuem uma vantagem na luta (residência prévia). Durante 3 dias, todos os animais foram alimentados com ração controle, recebendo 1% do peso vivo pela manhã e 0,5% à tarde. Após essa aclimatação, os residentes controle (RC) receberam apenas ração controle, enquanto os residentes cortisol (RH) receberam duas doses de ração suplementada com o hormônio. Todos os intrusos receberam apenas ração controle durante todo o período. O protocolo de alimentação encontra-se no Quadro 2.

Período			Intrusos	Residentes	
			IC	RC	RH
Aclimatação	Dias 1, 2 e 3	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração controle
		tarde	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle
Tratamento experimental	Dia 4	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração cortisol
		tarde	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle	0,5% pv ração controle
	Dia 5	manhã	1% pv ração controle	1% pv ração controle	1% pv ração cortisol

Quadro 2. Protocolo alimentar do Experimento 2.

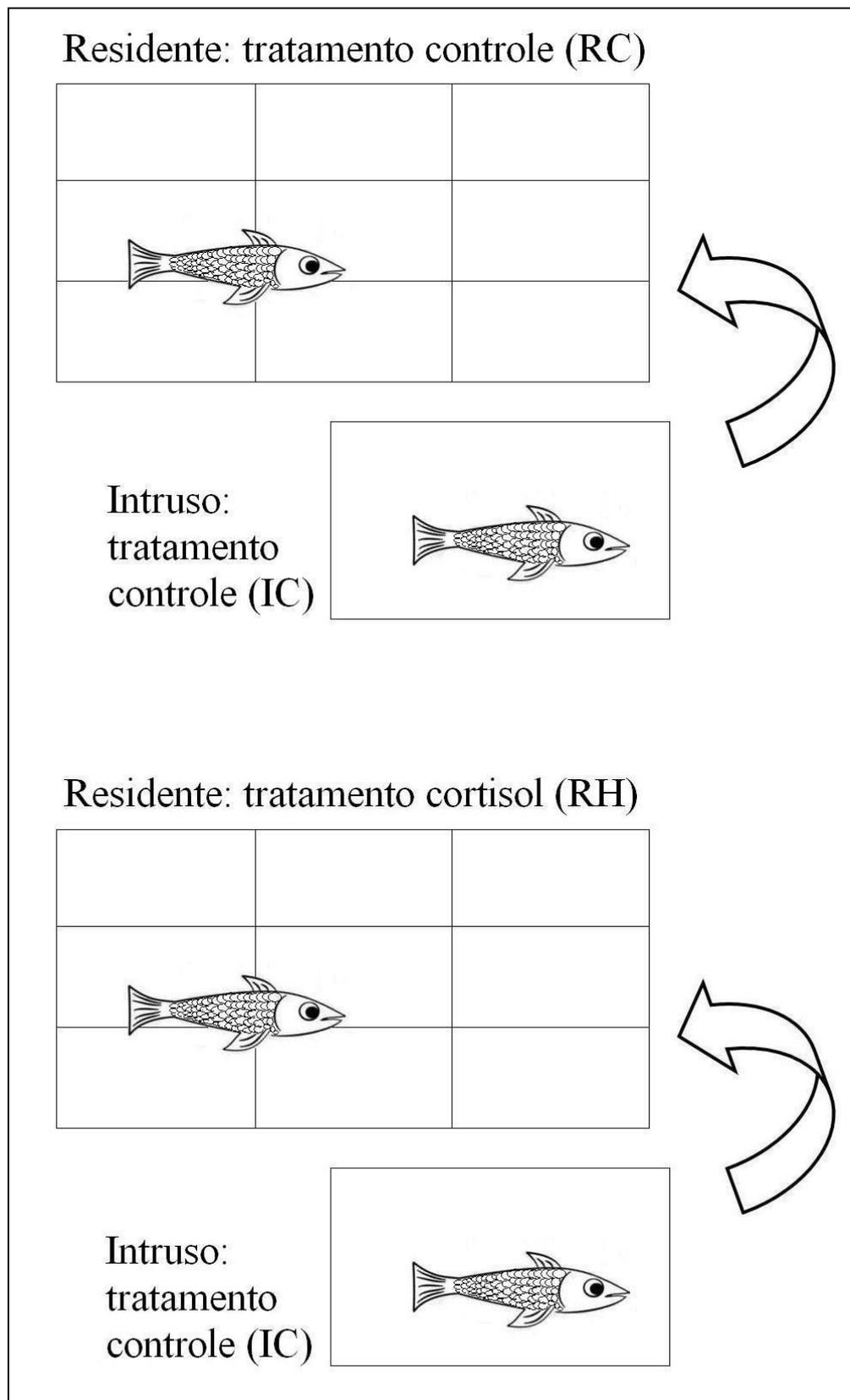


Figura 3. Esquema dos pares em cada tratamento do Experimento 2: os peixes residentes foram mantidos isolados (no aquário de embate) e após o tratamento os intrusos foram introduzidos no aquário.

3.1. Pareamento e coleta

Em ambos os experimentos, no quinto dia, três horas após serem alimentados pela manhã, os peixes foram pareados para embate (ambos os peixes do par foram transferidos para o aquário ao mesmo tempo no Experimento 1, e o intruso foi introduzido no aquário de seu residente correspondente no Experimento 2). A interação agonística foi filmada por 20 minutos a partir do momento em que os animais foram pareados; após esse tempo, os peixes foram anestesiados com benzocaína (1g a cada 15 L de água), e amostras de sangue retiradas por punção dos vasos caudais. Alíquotas do sangue foram separadas em microtubos contendo EDTA fluoretado (Glistab – Labtest) para a análise de parâmetros sanguíneos e obtenção de plasma. Após a retirada do sangue, os animais foram abatidos, pesados, medidos (comprimento total) e retiradas as gônadas para posterior avaliação do sexo. Os animais testemunha de cada tratamento foram amostrados da forma descrita acima, mas sem terem sido pareados para embate.

4. Preparo da ração

A ração suplementada com cortisol foi preparada borrifando com 400 mg de hidrocortisona (Sigma), diluídas em 200 mL de etanol, um quilograma de ração comercial (28% proteína – Pirá 28, Guabi). Em seguida, a ração foi borrifada com 6% (60 g) de óleo de peixe, para aumentar a palatabilidade e aceitação dos peixes, seca e congelada até o momento da utilização. A ração controle passou pelo mesmo procedimento, sendo borrifada com álcool e óleo de peixe, sem o hormônio.

5. Análise comportamental

Dado que o repertório comportamental do matrinxã ainda não havia sido estabelecido, os comportamentos aqui descritos foram padronizados pelo grupo do laboratório, e validados por membros que não participaram da padronização. A análise comportamental foi feita pela visualização da filmagem de 20 minutos do embate, sendo os tempos e a latência calculados pelo programa GW Basic. Os comportamentos contabilizados foram:

Mordida no corpo: mordida efetiva no oponente, em qualquer parte do corpo, exceto a cabeça.

Mordida na cabeça: mordida efetiva na cabeça do oponente, geralmente por ataque frontal.

Colisão: colisão com o oponente, causada por deslocamento em sua direção, ou desvio da rota na direção do corpo do oponente.

Ameaça de mordida: tentativa de mordida no oponente sem sucesso.

Perseguição: explosão de movimento (deslocamento rápido) do perseguidor na direção do oponente, que por sua vez foge do agressor, deslocando-se ao menos um quadrante. Se quem inicia o movimento é o oponente (fugindo antes do perseguidor se deslocar) ou mesmo se o oponente não fugir do agressor, não se considera perseguição.

Acompanhamento: seguindo o deslocamento do oponente. O agressor posiciona-se atrás ou na lateral do oponente, ligeiramente para trás, e segue seu deslocamento, na mesma velocidade, permanecendo em uma posição com o oponente em seu campo de visão.

Vigia: agressor permanece parado ao lado do oponente, que não está se movimentando, mantendo-o em seu campo de visão.

Rodear: movimento do peixe em torno do oponente, que está parado.

Arrasto no chão: um dos animais nada para frente apoiando a parte externa do assoalho bucal no substrato, de forma que seu corpo fique perpendicular ao fundo.

Ciranda: natação em círculos de ambos os animais, sendo os dois posicionados com a cabeça seguindo a cauda do outro.

Boca insuflada: peixe “infla” a boca abrindo o opérculo, e permanece assim.

Locomoção: número de vezes em que o peixe muda de quadrante (marcado na parede do fundo do aquário). Considera-se que ele mudou de quadrante quando ultrapassa a linha de divisão com a cabeça toda. Se o animal está com o corpo ocupando dois quadrantes, considera-se que ele está naquele onde se encontra sua cabeça. Contou-se também o tempo relativo (% do tempo) que ele passou em cada nível (fundo, meio e superfície do aquário). Na Figura 4, encontra-se um esquema dos quadrantes do aquário e dos níveis.

Dos itens mordida no corpo, mordida na cabeça, colisão, perseguição e ameaça de mordida foram contabilizados frequência absoluta e latência; dos rodear, vigia, acompanhamento, arrasto no chão, boca insuflada e ciranda foram contabilizados o tempo absoluto e latência para cada animal. O índice de dominância (ID) foi adaptado de Winberg et al. (1992), utilizando a seguinte equação:

$ID = Ag^+ / (Ag^+ + Ag^-)$, na qual Ag^+ são os comportamentos realizados pelo peixe contra o oponente e Ag^- os comportamentos recebidos por ele.

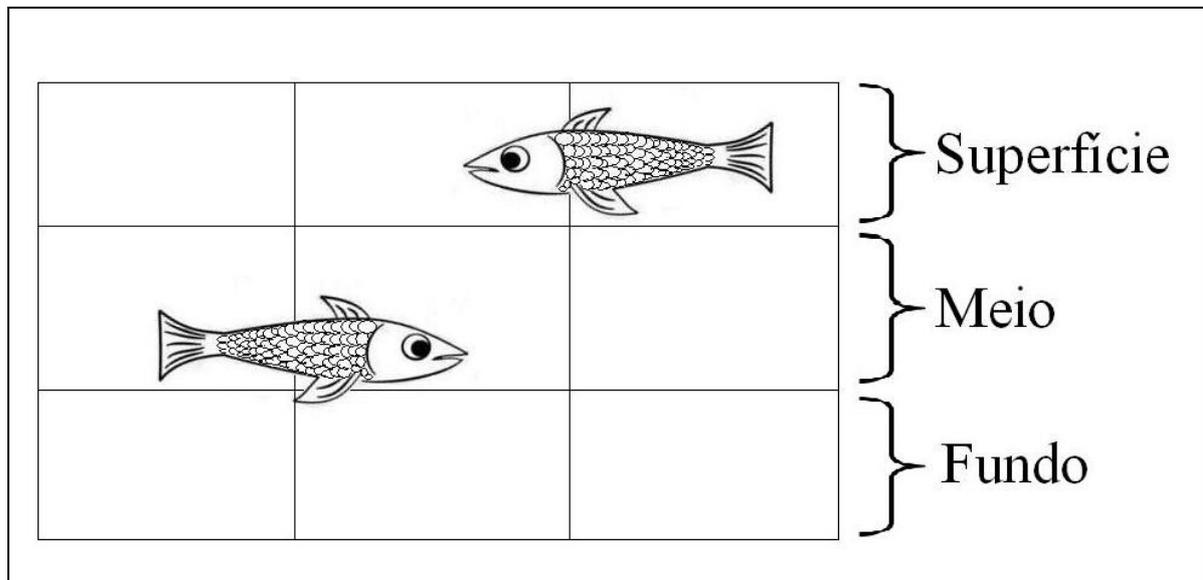


Figura 4. Esquema da parede do fundo dos aquários, com os quadrantes, e os três níveis (superfície, meio e fundo) nos quais foi contabilizada a permanência do peixe.

O ID foi calculado separadamente para os comportamentos de agressão direta (mordida no corpo, mordida na cabeça, colisão e perseguição), utilizando-se a soma das frequências absolutas destes comportamentos. Para calcular o ID dos comportamentos de ameaça, foi calculado o ID da ameaça de mordida utilizando sua frequência absoluta, e o ID da soma do tempo absoluto de rodear, vigia, acompanhamento, arrasto no chão, ciranda e boca insuflada, e feita a média entre os dois. Para obter o ID médio, foi feita a média entre o ID dos comportamentos de agressão direta e o ID dos comportamentos de ameaça. No experimento 1, o peixe era considerado vencedor do embate se seu ID fosse maior que 0,5 nos três parâmetros (ID de agressão direta, ID de ameaça e ID médio). Quando um dos peixes era superior nas agressões diretas e o outro era superior nas ameaças considerou-se esse par como sem definição da dominância, recebendo ambos a condição indefinido. Não foi feita a divisão de condição pós-embate (indefinido, perdedor ou vencedor) no Experimento 2, pois na maior parte das vezes o animal residente alcançava os índices de dominância maiores do que 0,5.

6. Análises do sangue

O sangue com EDTA fluoretado foi utilizado para determinação de hematócrito, número de células vermelhas e concentração de hemoglobina utilizando-se um Contador de Células – Celm, e o restante foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos a 10°C para retirada do plasma. A glicose plasmática foi determinada utilizando-se kit Glicose PAP Liquiform (Labtest).

7. Análise morfológica e determinação do sexo

As gônadas foram fixadas em solução de formol a 10% tamponado por 24 horas. Após fixação, procederam-se lavagens em álcool 70°GL, desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em série de xilóis, inclusão em parafina, microtomia de 5µm e coloração pela técnica da hematoxilina de Harris - eosina (HE). Os cortes histológicos foram analisados e fotomicrografados em fotomicroscópio Leica DM 2500. As fotomicrografias foram utilizadas para determinação do sexo do peixe.

8. Análise estatística

O delineamento do Experimento 1 foi fatorial 3x2x2x3, com três tipos de pareamento; dois gêneros do peixe; dois gêneros do oponente e três tipos de condição pós-embate do peixe após os 20 minutos de observação. Os dados foram analisados como modelo linear misto usando o processo MIXED do SAS V9.2 (SAS, 2008). O modelo incluiu os efeitos ao acaso dos blocos (3 blocos ao todo) e do aquário dentro dos blocos, e os efeitos fixos do tipo de pareamento (dois graus de liberdade: controle x controle, C-C; controle x hormônio, C-H; hormônio x controle, H-C), o gênero do peixe, o gênero de seu oponente, a condição do peixe pós-embate (dois gl: indefinido, perdedor ou vencedor). O efeito do tipo de pareamento foi decomposto em dois contrastes de graus de liberdade únicos *a priori*: C-C *versus* C-H para determinar o efeito do tratamento do peixe oponente nos animais tratados como controle; e C-C *versus* H-C para determinar o efeito do tratamento no próprio peixe. Quando significativas, as médias dos termos de interação foram comparadas usando diferença menos-significativa protegida de Fisher (opção DIFF do SAS). Todas as variáveis dependentes foram transformadas em log antes da análise estatística para garantir uma distribuição próxima do normal dos erros residuais, mas os resultados estão apresentados em escalas não transformadas, usando o anti-log dos mínimos quadrados das médias.

Quatro peixes do Experimento 1 cujo sexo não pode ser definido foram removidos das análises do efeito do gênero. Um conjunto separado de análises estatísticas foi feito para comparar o efeito da interação dos peixes no aquário (grupo embate) *versus* o tratamento com isolamento (grupo testemunha) nos parâmetros fisiológicos. O modelo misto incluiu os efeitos ao acaso dos blocos, e os efeitos fixos do tipo de grupo (um gl: embate ou testemunha), dieta (um gl: controle ou hormônio), gênero (um gl) nas *two-way*. Quando significativas, as médias foram separadas usando diferença menos-significativa protegida de Fisher. Em todos os testes, a significância estatística foi declarada como $P < 0,05$.

O delineamento experimental do Experimento 2 foi fatorial 3x2x2 com três tipos de tratamento, 2 gêneros do peixe e 2 gêneros do peixe oponente. Os dados foram analisados por modelo linear misto usando o processo MIXED do SAS V9.2 (SAS, 2008). O modelo incluiu os efeitos ao acaso dos blocos (2 blocos) e do aquário dentro dos blocos, e os efeitos fixos do tipo de tratamento (dois graus de liberdade: peixe intruso tratado com dieta controle, IC; peixe residente tratado com tratamento controle, RC; e peixe residente tratado com hormônio, RH); o gênero do peixe (um gl: fêmea ou macho); o gênero do peixe oponente (um gl: fêmea ou macho). O efeito do tipo de tratamento foi decomposto em dois contrastes de graus de liberdade únicos *a priori*: RC *versus* IC para testar o efeito da condição de isolamento no peixe; e RC *versus* RH para testar o efeito das dietas nos residentes. Quando significativas, as médias dos termos de interação foram comparadas usando diferença menos-significativa protegida de Fisher (opção DIFF do SAS). Lotes padrão residuais foram utilizados para avaliar a distribuição do resíduo, no que diz respeito à suposição de normalidade. Para a maioria das variáveis dependentes, os resíduos demonstraram distribuição oblíqua que exigiu a transformação em log das variáveis dependentes para reestabelecer a normalidade. Todos os testes estatísticos foram feitos com variáveis log-transformadas, mas os resultados estão apresentados em escalas não transformadas, usando o anti-log dos mínimos quadrados das médias.

Dez peixes cujo sexo não pôde ser determinado no Experimento 2 foram excluídos das análises do efeito do gênero. Um conjunto separado de análises estatísticas foi feito para comparar o efeito da interação dos peixes no aquário (grupo embate) *versus* o tratamento com isolamento (grupo testemunha) nos parâmetros fisiológicos. O modelo misto incluiu os efeitos ao acaso dos blocos, e os efeitos fixos do tipo de grupo (um gl: embate ou testemunha), dieta (i gl: controle ou hormônio), gênero (i gl) e todas as interações *two-way*. Quando significativas, as médias foram separadas usando diferença menos-significativa protegida de Fisher. Em todos os testes, a significância estatística foi declarada $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Resultados Experimentos 1 e 2: efeito do cortisol na agressividade e variáveis fisiológicas

Experimento 1: Condição pós-embate

Os animais vencedores foram significativamente superiores aos perdedores e indefinidos nas variáveis mordida no corpo (Figura 5) e perseguição (Figura 6). Nas variáveis mordida na cabeça, ameaça de mordida e acompanhamento, os peixes vencedores foram superiores aos perdedores, enquanto os indefinidos tiveram valores intermediários (Tabela 1). Na colisão, indefinidos e vencedores foram significativamente superiores aos perdedores; houve uma tendência numérica de que os animais indefinidos tivessem um maior tempo absoluto de boca insuflada (Tabela 1). Na colisão houve uma tendência numérica de que vencedores tivessem menores latências de ataque (Tabela 2).

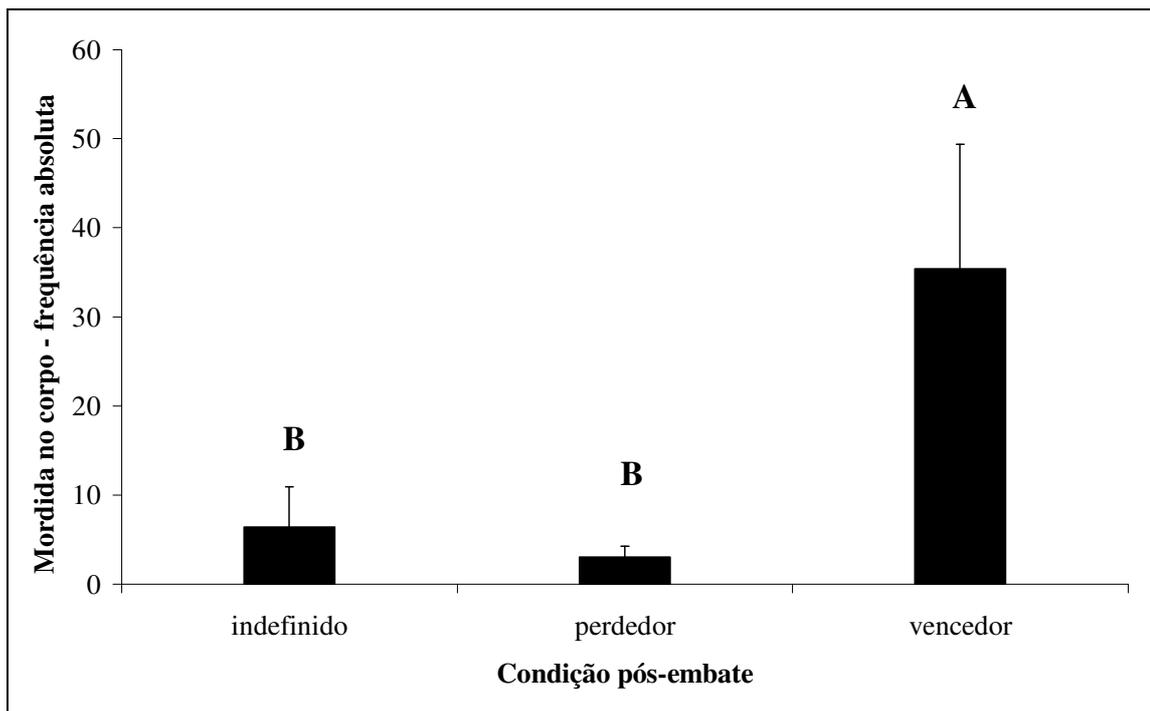


Figura 5. Frequência absoluta de mordidas no corpo das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições ($P < .0001$). Indefinidos: $n=12$; perdedores: $n=24$; vencedores: $n=24$.

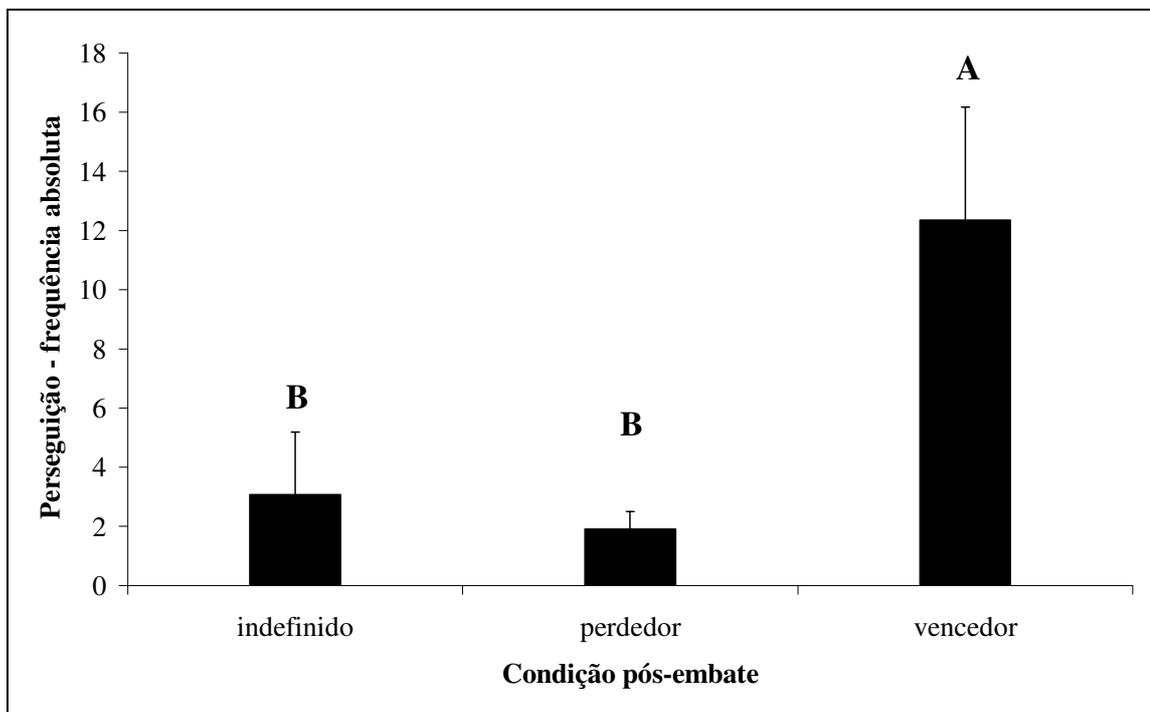


Figura 6. Frequência absoluta de perseguições das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições (P=0,0002). Indefinidos: n=12; perdedores: n=24; vencedores: n=24.

Tabela 1. Efeito da condição pós-embate na agressão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as condições em cada variável (mordida na cabeça, P=0,003; colisão, P=0,0016; ameaça de mordida, P=0,0001; acompanhamento, P=0,0026; boca insuflada, P=0,0944). Indefinidos: n=12; perdedores: n=24; vencedores: n=24.

Efeito da condição pós-embate na agressão			
	Indefinido	Perdedor	Vencedor
Mordida na cabeça	3,37 ± 1,29 AB	1,85 ± 0,39 B	4,84 ± 1,01 A
Colisão	45,57 ± 15,31 A	18,15 ± 2,67 B	43,62 ± 6,30 A
Ameaça de mordida	4,91 ± 2,17 AB	2,26 ± 0,53 B	11,34 ± 2,63 A
Acompanhamento	325,31 ± 168,38 AB	127,88 ± 29,08 B	423,55 ± 95,24 A
Boca insuflada	763,48 ± 827,26	98,49 ± 46,27	226,73 ± 105,60

Tabela 2. Efeito da condição pós-embate na latência (em segundos) de colisão (P=0,0654). Indefinidos: n=12; perdedores: n=24; vencedores: n=24.

Efeito da condição pós-embate na latência de agressão			
	Indefinido	Perdedor	Vencedor
Colisão	15,42 ± 15,42	30,06 ± 21,54	11,81 ± 8,45

Os índices de dominância de agressões diretas, de ameaça e médio tiveram diferença significativa entre as condições, não diferindo numericamente entre si; o ID médio encontra-se na Figura 7.

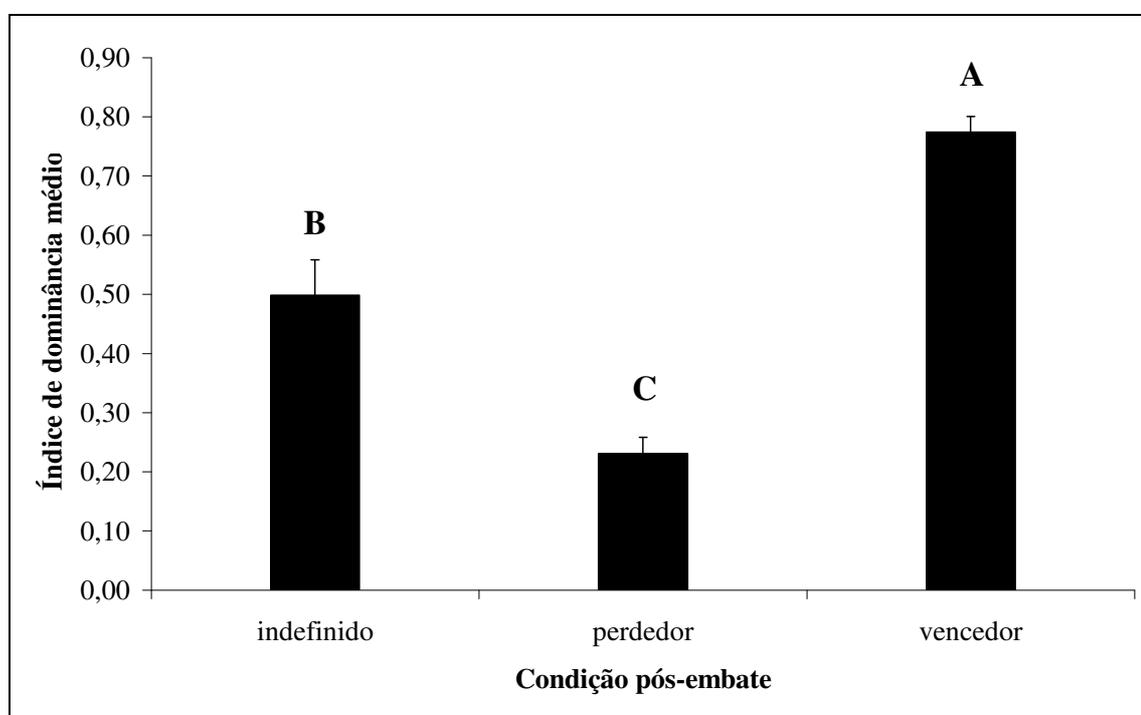


Figura 7. Índice de dominância médio das diferentes condições pós-embate (indefinido, vencedor e perdedor). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições (P<.0001). Indefinidos: n=12; perdedores: n=24; vencedores: n=24.

Experimento 1: Tipo de par e efeito do tratamento do peixe e do oponente

Os peixes tratados com cortisol (H-C) efetuaram uma frequência absoluta de mordidas no corpo significativamente maior (Figura 8), além de haver uma tendência numérica de que os animais H-C fossem superiores na mordida na cabeça e boca insuflada (Tabela 3). A latência da mordida na cabeça foi significativamente menor nos animais tratados com cortisol (Tabela 3).

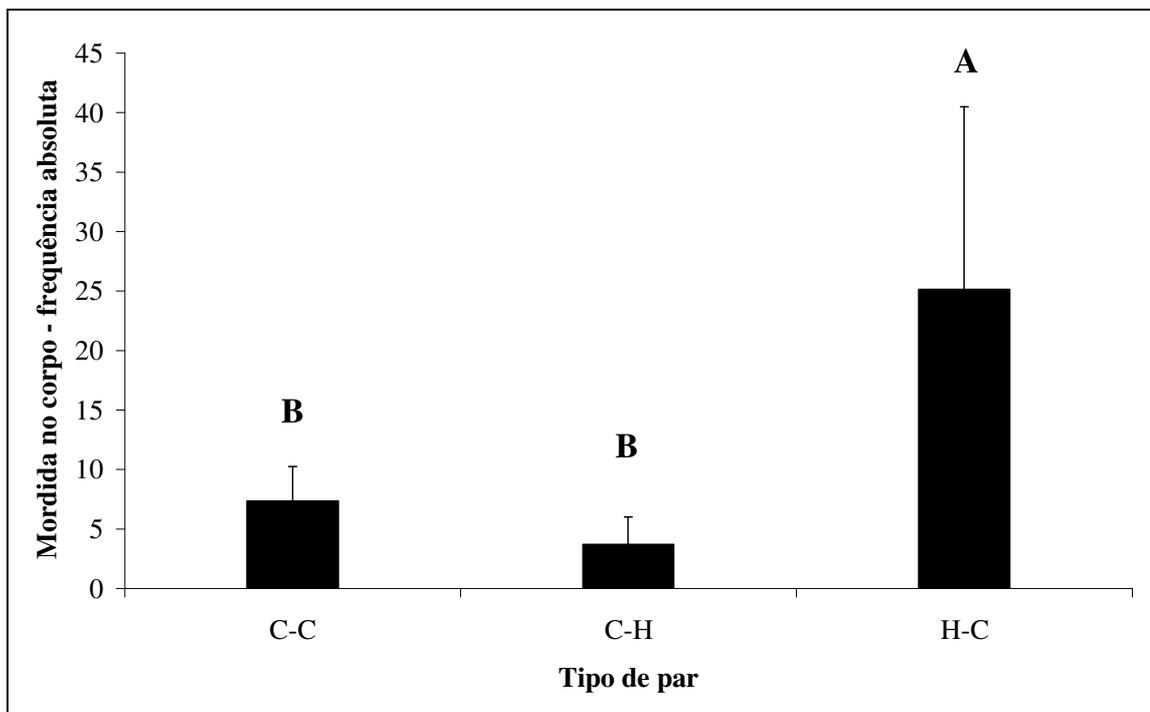


Figura 8. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tipos de par (C-C, C-H e H-C). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tipos de par ($P=0,0284$). C-C: $n=30$; C-H: $n=15$; H-C: $n=15$.

Tabela 3. Efeito do tipo de par na agressão e na latência de agressão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tipos de par (mordida na cabeça, $P=0,072$; boca insuflada, $P=0,0726$, mordida no corpo, $P=0,041$) C-C: $n=30$; C-H: $n=15$; H-C: $n=15$.

Efeito do tipo de par na agressão			
	C-C	C-H	H-C
Mordida na cabeça	$2,49 \pm ,51$	$2,25 \pm 0,76$	$5,38 \pm 1,80$
Boca insuflada	$83,75 \pm 37,42$	$337,13 \pm 309,62$	$603,81 \pm 547,01$
Latência da mordida na cabeça	$880,04 \pm 115,69$ A	$990,15 \pm 204,78$ A	$539,14 \pm 110,37$ B

O tratamento com cortisol aumentou significativamente a mordida no corpo (Figura 9), mordida na cabeça (Figura 10) e boca insuflada, e diminuiu a latência de mordida na cabeça (Tabela 4). Já em relação ao efeito do tratamento do oponente, o pareamento com um animal que recebeu tratamento cortisol (peixes C-H) elevou a latência de colisão (C-C, $9,74 \pm 6,93$; C-H, $36,73 \pm 33,59$; $P=0,0431$).

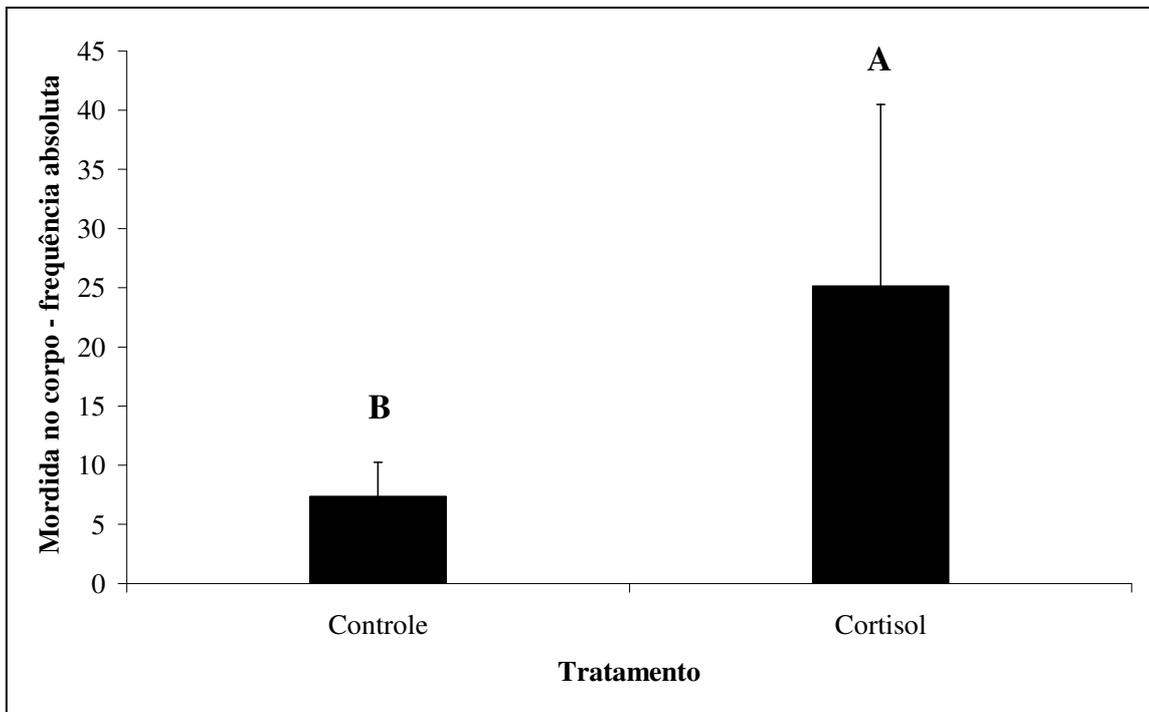


Figura 9. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tratamentos (controle e cortisol). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,0432$). Controle: $n=45$; cortisol: $n=15$.

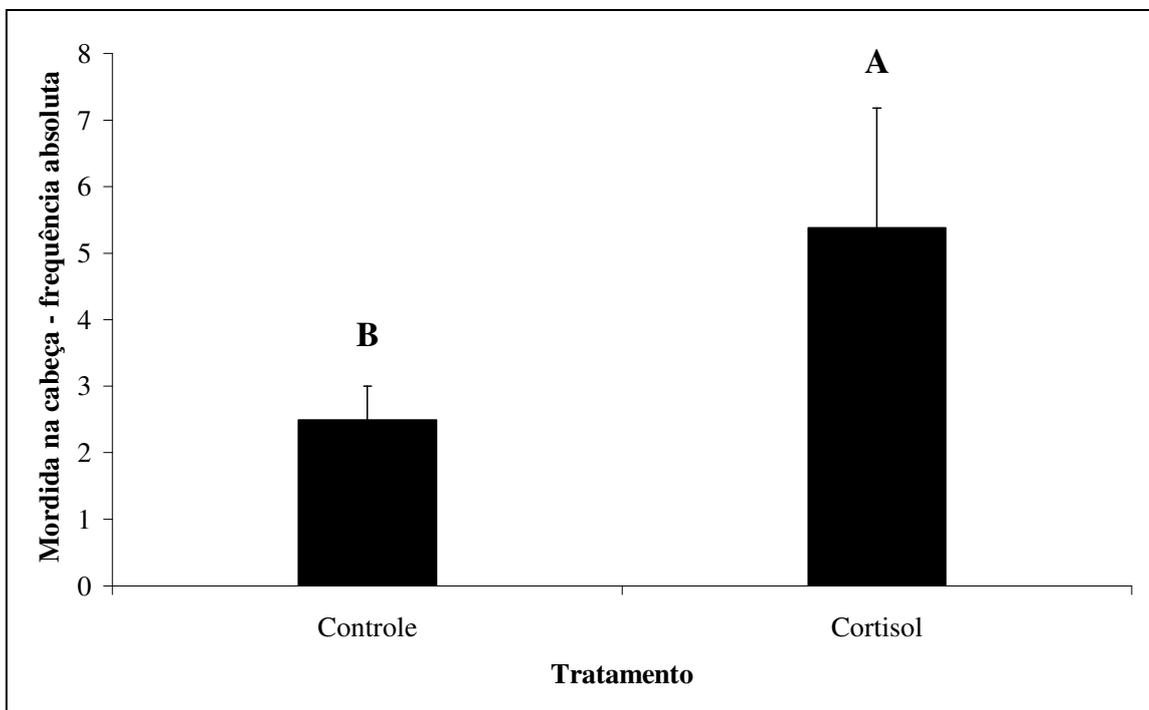


Figura 10. Frequência absoluta de mordidas na cabeça dos diferentes tratamentos (controle e cortisol). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,0353$). Controle: $n=45$; cortisol: $n=15$.

Tabela 4. Efeito do tratamento no tempo absoluto de boca insuflada e latência de mordida na cabeça (segundos). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos (boca insuflada, $P=0,0407$; latência mordida na cabeça, $P=0,0264$). Controle: $n=45$; cortisol: $n=15$.

Efeito do tratamento		
	Controle - C	Cortisol - H
Boca insuflada	$83,75 \pm 37,42$ B	$603,81 \pm 547,01$ A
Latência de mordida na cabeça	$880,04 \pm 115,69$ A	$539,14 \pm 110,37$ B

Experimento 1: Variáveis fisiológicas

Tipo de par, tratamento e condição pós-embate não tiveram efeito significativo nas variáveis hematológicas. Os peixes H-C tiveram glicemia significativamente maior do que os C-C e C-H (Figura 11).

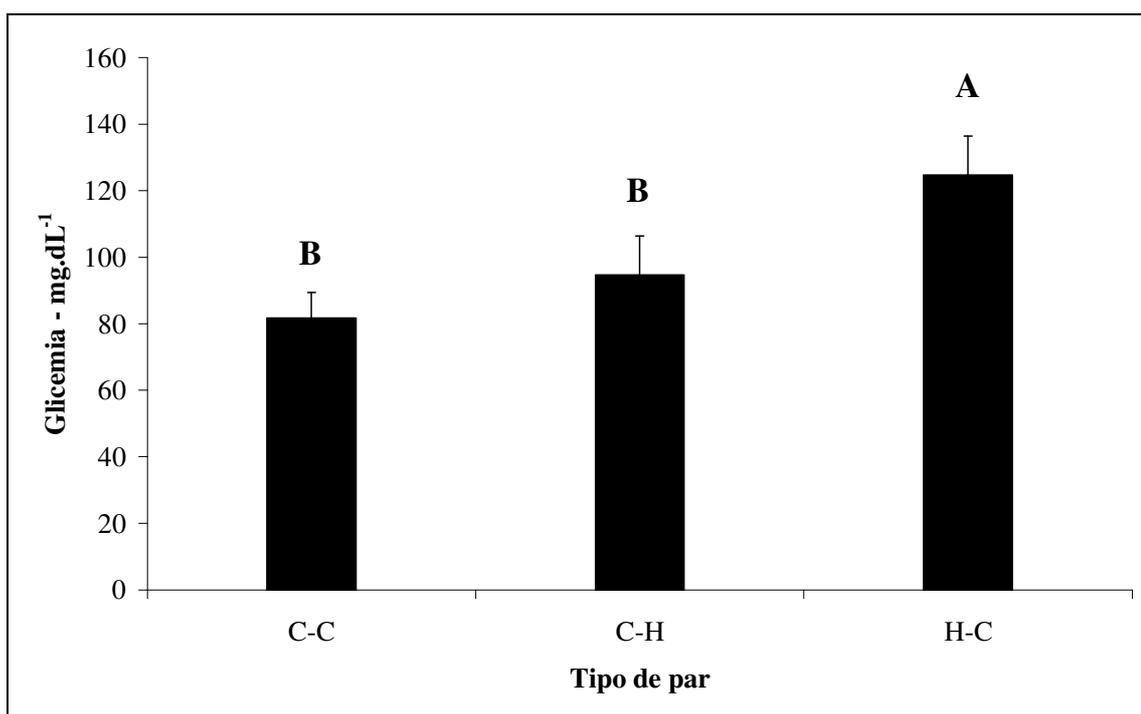


Figura 11. Glicemia dos diferentes tipos de par (C-C, C-H e H-C). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tipos de par ($P=0,04$). C-C: $n=30$; C-H: $n=15$; H-C: $n=15$.

Quando inseridas na análise as testemunhas, houve efeito do grupo (testemunha ou embate, Figura 12) e do tratamento na glicemia (Figura 13), mas não da interação entre ambos. O grupo embate também teve aumento significativo da hemoglobina e uma tendência numérica a maiores valores de hematócrito e número de células vermelhas (Tabela 5).

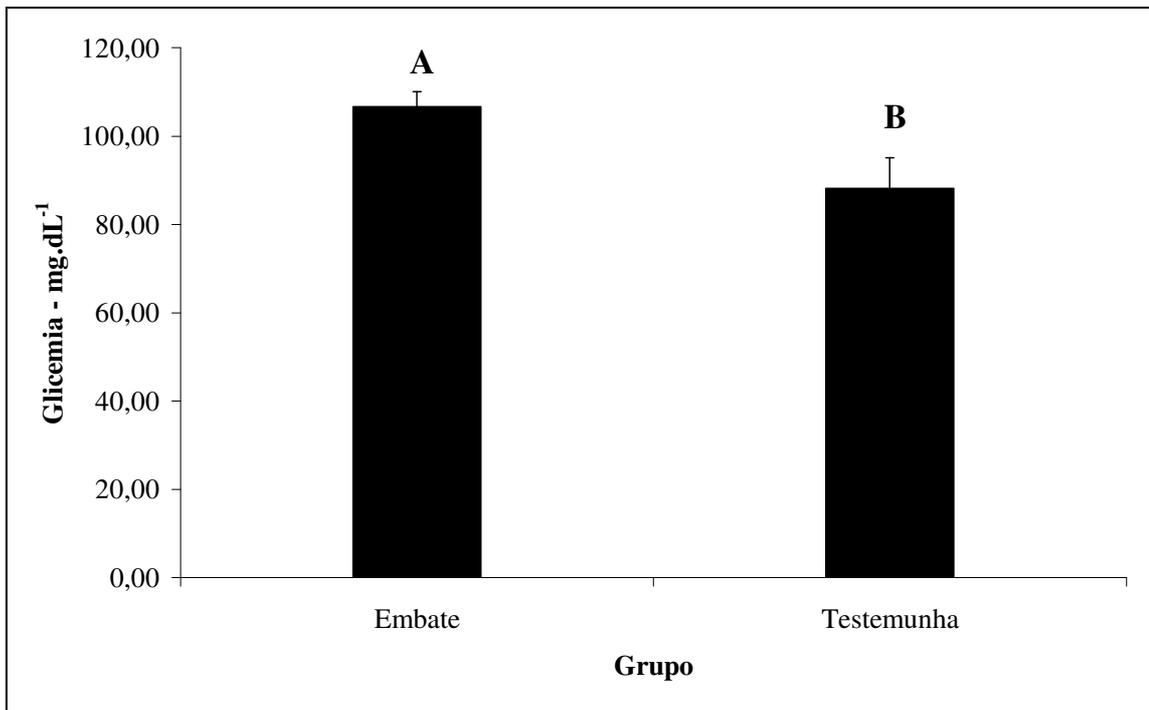


Figura 12. Glicemia dos diferentes grupos (embate e testemunha). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos ($P=0,0195$). Embate: $n=60$; testemunha: $n=18$.

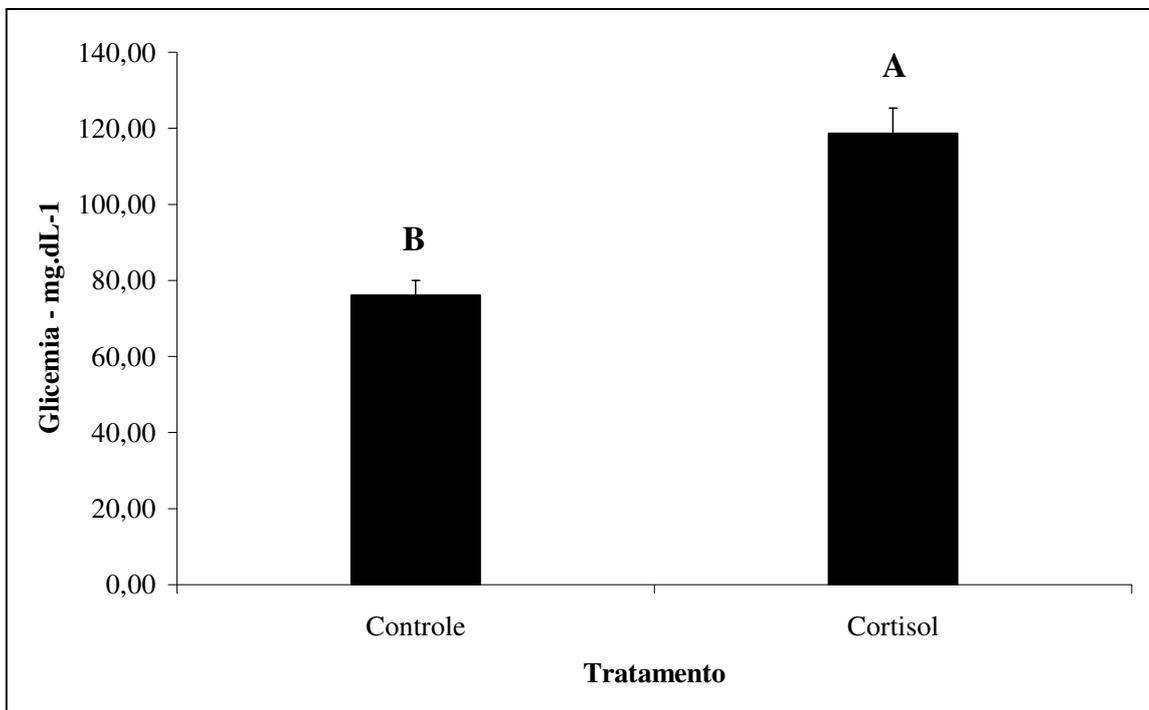


Figura 13. Glicemia dos diferentes tratamentos (controle e cortisol) com testemunhas inseridas na análise. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P<.0001$). Controle: $n=55$; cortisol: $n=23$.

Tabela 5. Efeito do grupo nas variáveis hematológicas. Letras diferentes indicam diferença estatística na hemoglobina (hemoglobina, P=0,0209; hematócrito, P=0,0829; número de células vermelhas: P=0,0886). Embate: n=60; testemunha: n=18.

Efeito do grupo nos parâmetros hematológicos		
	Embate	Testemunha
Hematócrito (%)	27,98 ± 1,04	24,63 ± 1,59
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	14,00 ± 0,38 A	12,34 ± 0,58 B
Células vermelhas (x10 ⁶ .mm ³)	2,73 ± 0,08	2,48 ± 0,12

Experimento 2: Condição de isolamento

O estabelecimento da territorialidade (animais residentes) resultou em aumento significativo da frequência absoluta de mordida no corpo (Figura 14), colisão (Figura 15), tempo absoluto de acompanhamento e latência de arrasto no chão, além de uma tendência a maior número de ameaças de mordida (Tabela 6). Todos os índices de dominância dos residentes foram significativamente maiores, sem diferir numericamente entre si; o ID médio encontra-se na Figura 16.

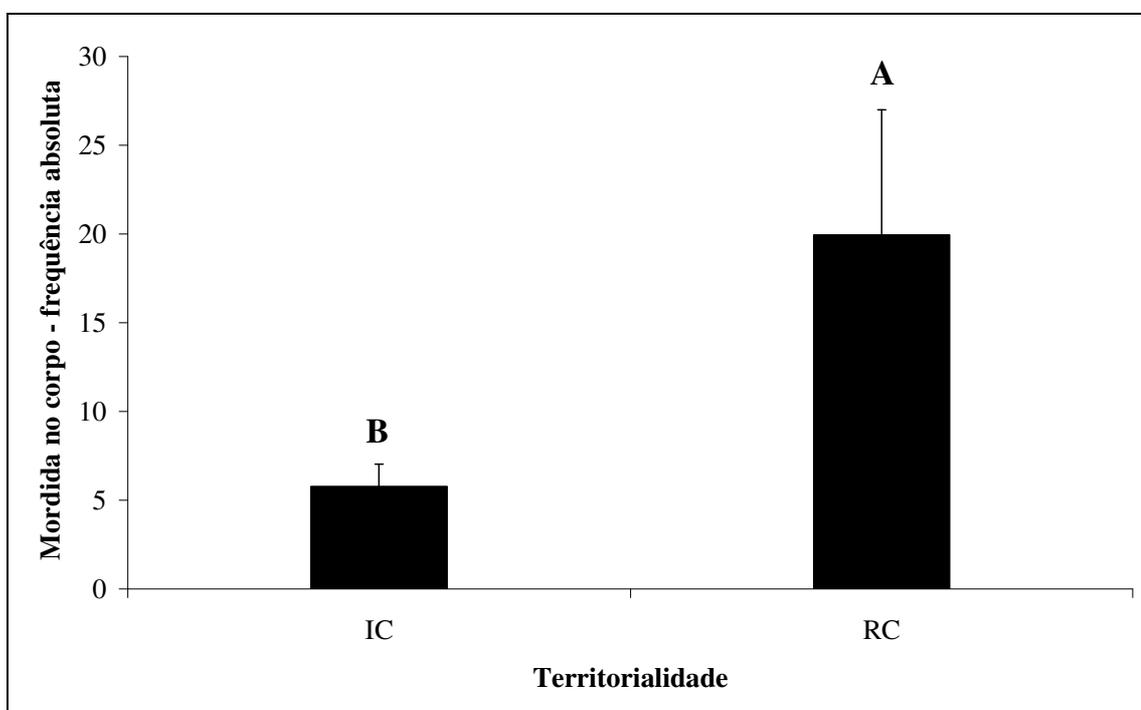


Figura 14. Frequência absoluta de mordidas no corpo de intrusos e residentes. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições de isolamento (P=0,0043). Intrusos: n=30; residentes: n=30.

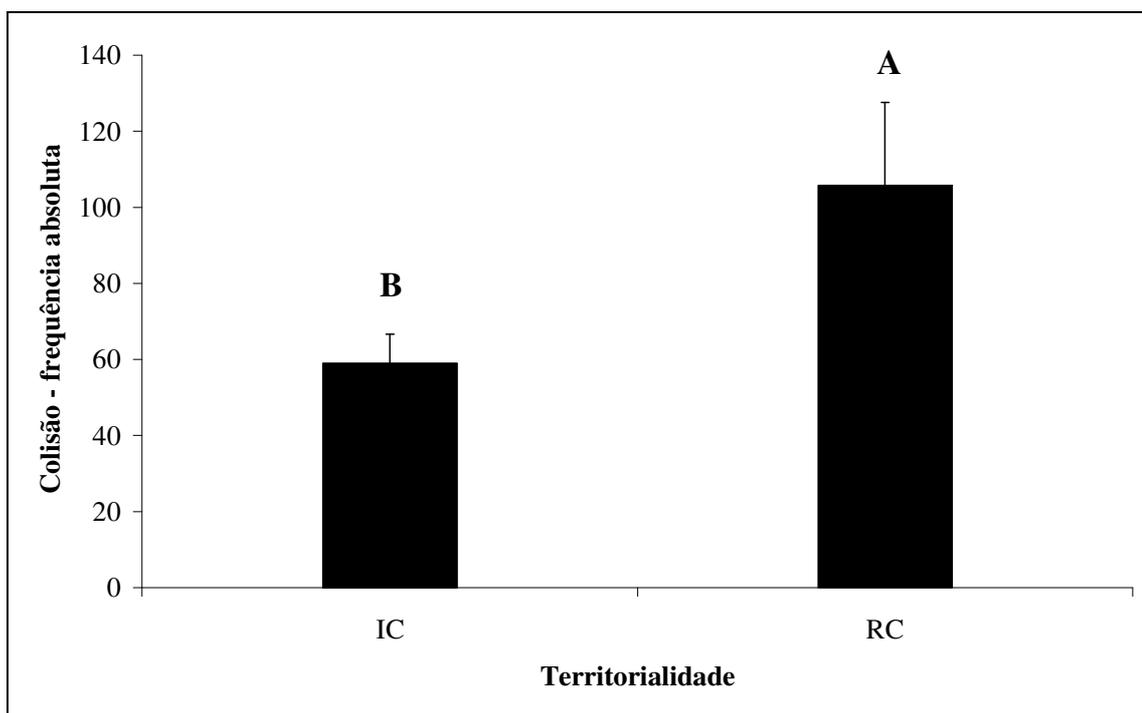


Figura 15. Frequência absoluta de colisões de intrusos e residentes. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições de isolamento ($P=0,0205$). Intrusos: $n=30$; residentes: $n=30$.

Tabela 6. Efeito da condição de isolamento no tempo absoluto de acompanhamento e de latência de arrasto (segundos), e frequência absoluta de ameaças de mordida de intrusos e residentes. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições de isolamento (acompanhamento, $P=0,0055$; latência de arrasto no chão, $P=0,0442$; ameaça de mordida, $P=0,0509$). Intrusos: $n=30$; residentes: $n=30$.

Efeito da territorialidade na agressão		
	Intruso	Residente
Acompanhamento	123,74 ± 22,34 B	338,22 ± 99,67 A
Latência de arrasto no chão	10,09 ± 5,26 B	73,16 ± 65,94 A
Ameaça de mordida	5,79 ± 1,05	11,59 ± 3,45

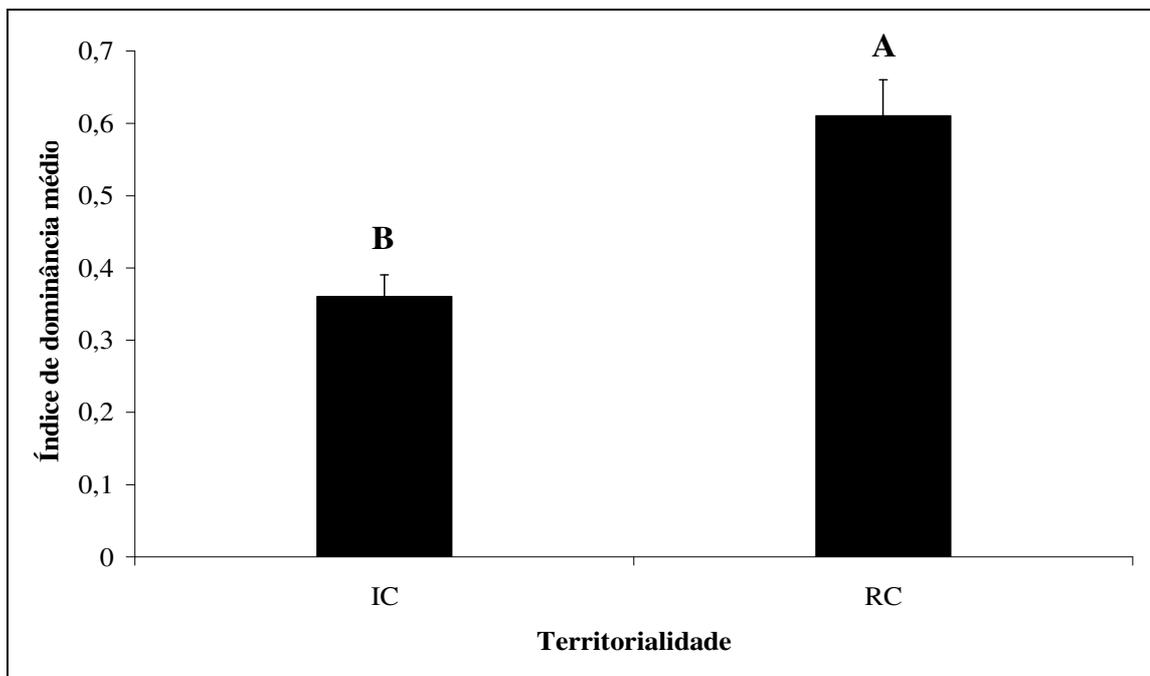


Figura 16. Índice de dominância médio de intrusos e residentes. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as condições de isolamento ($P=0,0002$). Intrusos: $n=30$; residentes: $n=30$.

Experimento 2: Tratamento

O efeito do tratamento com cortisol nos residentes causou aumento significativo na mordida no corpo (Figura 17), perseguição (Figura 18) e locomoção (Figura 19).

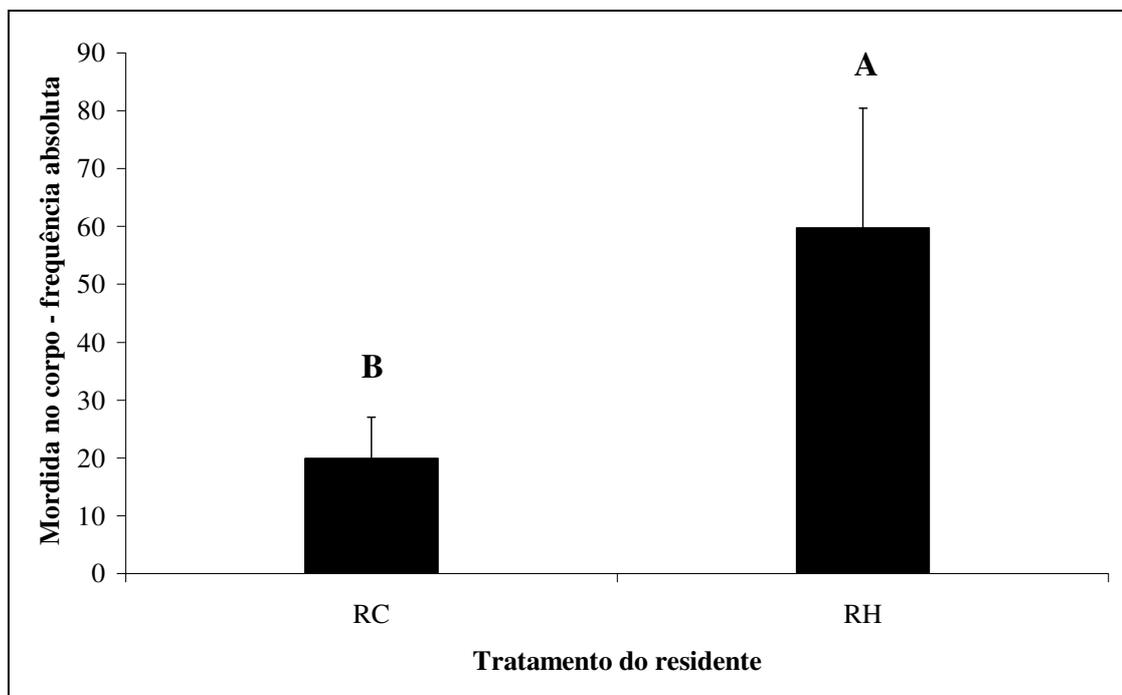


Figura 17. Frequência absoluta de mordidas no corpo dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,0297$). RC: $n=15$; RH: $n=15$.

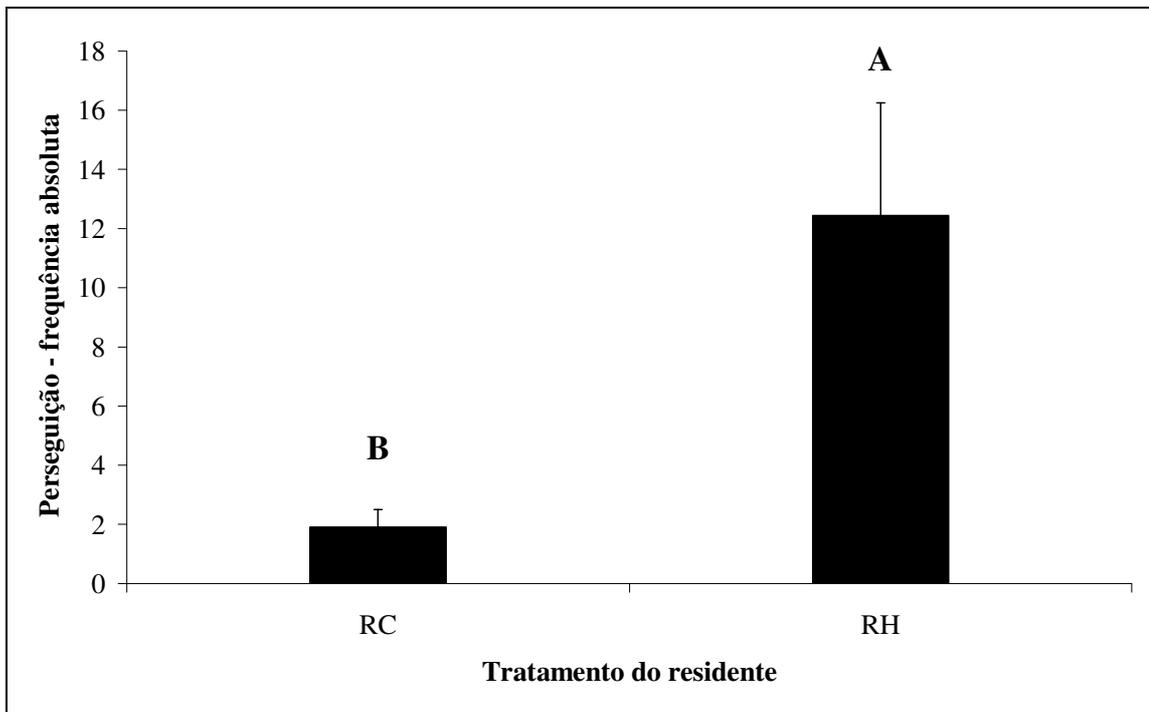


Figura 18. Frequência absoluta de perseguições dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol). Asteriscos indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P < .0001$). RC: $n=15$; RH: $n=15$.

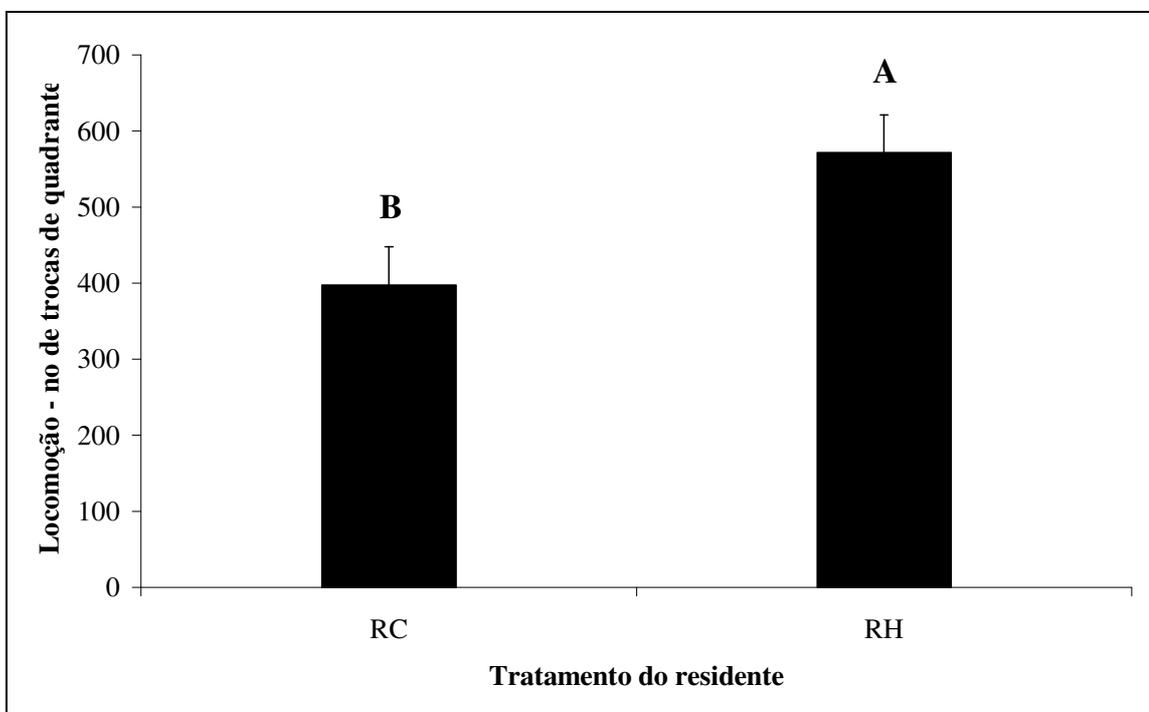


Figura 19. Locomoção dos diferentes tratamentos dos residentes (controle e cortisol). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,02$). RC: $n=15$; RH: $n=15$.

Experimento 2: Variáveis fisiológicas

A análise apenas dos animais pareados para embate não mostrou diferença significativa para tratamento ou condição de isolamento. Quando inseridas as testemunhas na análise, houve efeito significativo do tratamento (Figura 20) e do tratamento x grupo (Figura 21) na glicemia. O efeito do grupo (embate ou testemunha) foi significativo no hematócrito, hemoglobina e número de células vermelhas (Tabela 7).

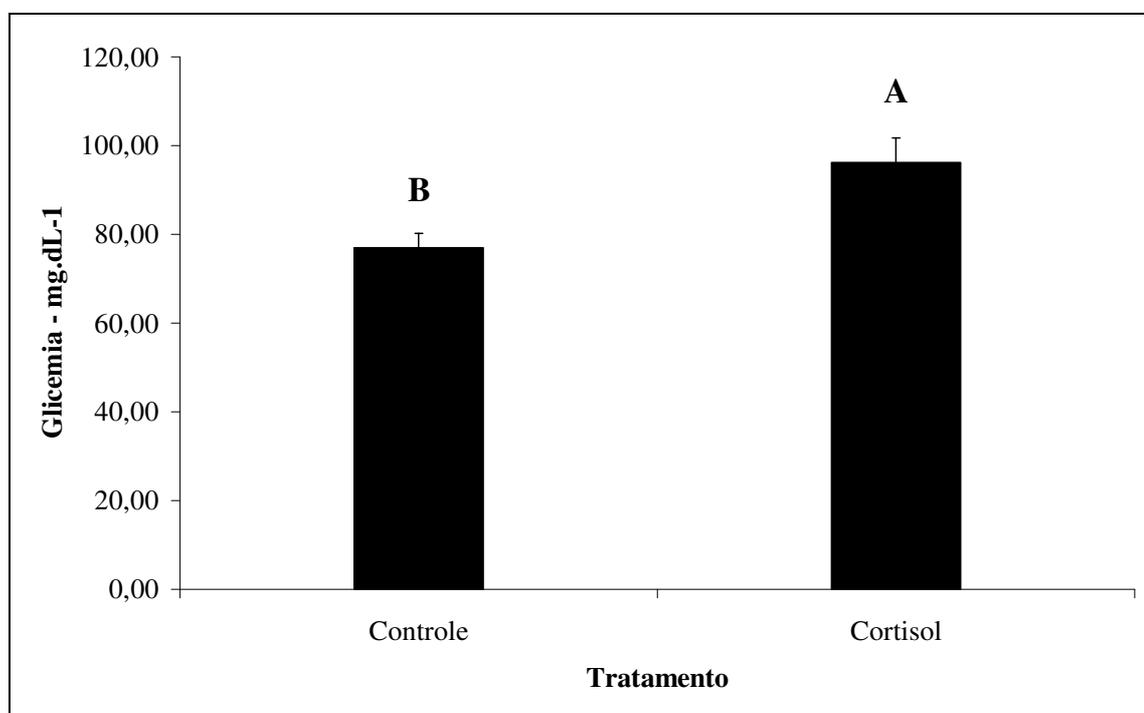


Figura 20. Glicemia dos diferentes tratamentos (controle e cortisol) com testemunhas inseridas na análise. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,0035$). Controle: $n=55$; cortisol: $n=23$.

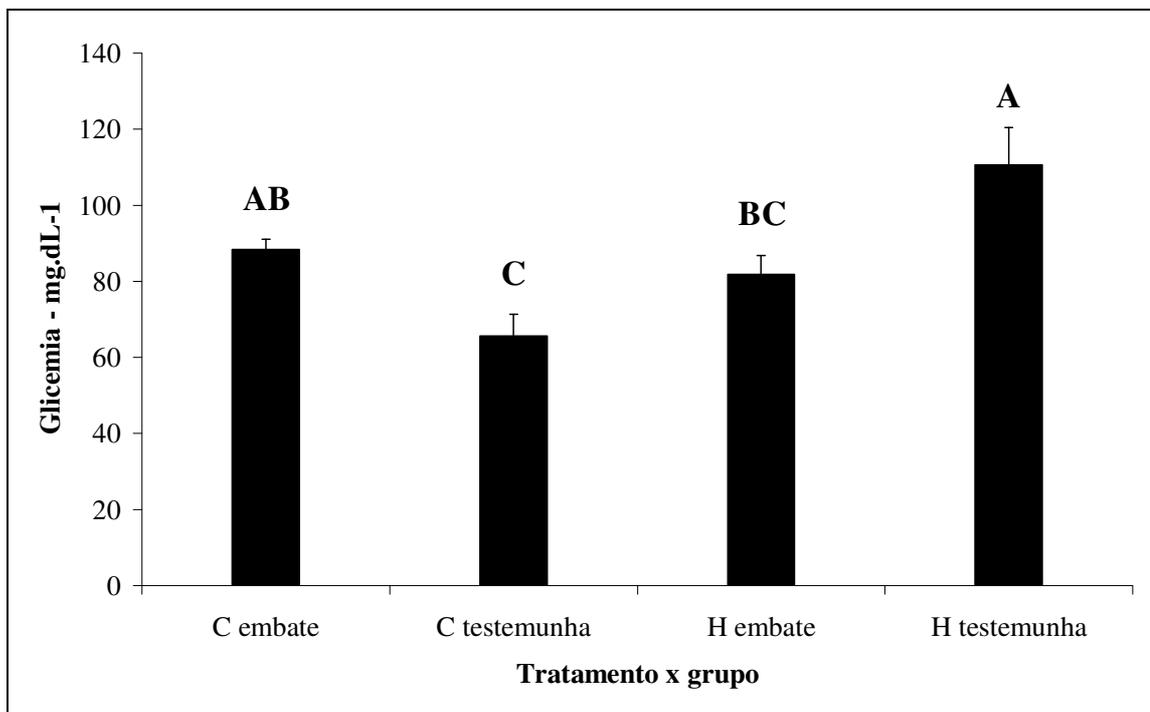


Figura 21. Glicemia dos tratamentos x grupos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre da interação ($P=0,0001$). Controle embate: $n=45$; controle testemunha: $n=10$; cortisol embate: $n=15$; cortisol testemunha: $n=8$.

Tabela 7. Efeito do grupo nas variáveis hematológicas. Letras diferentes indicam diferença estatística nas variáveis (hematócrito, $P=0,0356$; hemoglobina, $P=0,0014$; número de células vermelhas: $P=0,00043$). Embate: $n=60$; testemunha: $n=18$.

Efeito do grupo nos parâmetros hematológicos		
	Embate	Testemunha
Hematócrito (%)	$27,66 \pm 0,72$ A	$24,63 \pm 1,21$ B
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	$14,53 \pm 0,33$ A	$12,34 \pm 0,56$ B
Células vermelhas ($\times 10^6$.mm ³)	$2,84 \pm 0,10$ B	$2,48 \pm 0,10$ A

2. Discussão Experimentos 1 e 2: efeito do cortisol na agressividade e variáveis fisiológicas

Analisando a condição pós-embate do Experimento 1, observou-se que dentre os comportamentos agressivos a mordida no corpo e a perseguição foram significativamente superiores nos animais vencedores, quando comparados aos perdedores e indefinidos. Em outros comportamentos, como mordida na cabeça, colisão, ameaça de mordida e acompanhamento, assim como uma tendência numérica em boca insuflada e latência de colisão, os peixes vencedores foram superiores mas não diferiram estatisticamente dos indefinidos. Dado que nos aquários onde não foi estabelecido o resultado do embate ambos os

peixes disputaram ativamente a vitória durante o confronto, pode-se afirmar que a ocorrência elevada destes comportamentos (mordida na cabeça, colisão, ameaça de mordida, acompanhamento e boca insuflada) indicam que o indivíduo tentou, combativamente, estabelecer sua dominância frente ao oponente. Já a mordida no corpo e a perseguição, por serem mais frequentes nos vencedores, são os comportamentos determinantes do resultado do confronto.

Como esperado, houve diferença altamente significativa entre as condições pós-embate nos índices de dominância. Vale ressaltar que em nenhum dos efeitos testados houve diferença entre o índice de dominância de agressão direta e de ameaça e destas com o índice de dominância médio, indicando não haver uma diferença de estratégia (tendendo mais ao ataque ou à ameaça). Portanto, os peixes vencedores, embora demonstrem superioridade apenas na mordida no corpo e perseguição significativamente, aumentam a ocorrência tanto de ameaças quanto de ataques diretos ao oponente.

O matrinxã é um peixe muito ativo, que responde a estímulos (som, captura, luz, entre outros) de forma bastante vigorosa, com natação intensa e saltos. Frente a um oponente, ou mesmo quando mantidos em grupos para manutenção, são animais muito agressivos, havendo frequentemente mortalidade decorrente destes embates (observação pessoal). O levantamento do repertório comportamental do matrinxã ainda é recente; no entanto, foi possível perceber que, embora os comportamentos de agressão mais direta se sobressaiam numericamente, os peixes vencedores efetuam em maior quantidade todo o repertório, dado corroborado pela igualdade dos valores de índice de dominância tanto de agressão direta, de ameaça e médio. O fato de mordida no corpo e perseguição serem os dois comportamentos em que os vencedores mais se destacam não surpreende, posto que uma vez que um dos oponentes se sobressai na luta, frequentemente ocorre uma escalada na intensidade da agressão direta que resulta em repetidos ataques efetuados usando praticamente apenas estes dois comportamentos. Essa escalada na agressividade não apenas é bastante frequente como também é a provável causa da alta mortalidade em pares ou grupos de matrinxã: no decorrer da luta a maior parte dos animais, ao invés de optar por demonstrações de dominância mais brandas após o estabelecimento do *status* social, aumenta o número de ataques mais agressivos, causando ferimentos e levando o oponente à morte.

Conforme esperado, a territorialização conferiu uma clara vantagem aos peixes residentes, que foram superiores na mordida no corpo, colisão e acompanhamento. A defesa de um território no qual o animal já investiu energia aumenta a motivação do peixe para o embate; além disso, o conhecimento do território também confere uma vantagem para o residente (ver NIJMAN e HEUTS, 2000). A maior agressividade dos residentes garantiu que

fossem os vencedores na maioria dos embates, alcançando um ID médio significativamente maior do que os intrusos. Estes, por sua vez, tiveram uma menor latência do arrasto no chão, comportamento que pode ser demonstração agressiva ou um comportamento deslocado no embate. Caso seja uma demonstração agressiva, sua ocorrência pode aumentar frente a um oponente mais agressivo como uma forma de manter-se ativo na luta mas sem, efetivamente, ameaçar a posição do dominante, com um comportamento intermediário; em matrinxãs, quando o subordinado cessa completamente a resposta ou retalia os ataques muito agressivamente, o dominante aumenta a intensidade de ataques. Caso seja um comportamento deslocado (comportamento não agressivo feito fora de seu contexto original porque o animal não consegue responder de acordo com a situação), da mesma forma está demonstrando uma incapacidade dos peixes em confrontar um oponente superior. O real sentido do arrasto no chão ainda deve ser investigado, mas pode-se afirmar que iniciá-lo mais rapidamente frente aos residentes significa, de qualquer maneira, que os intrusos tiveram dificuldade em desempenhar outros comportamentos agressivos mais diretos.

O tratamento com cortisol aumentou o número de mordidas no corpo tanto nos peixes pareados em território neutro quanto em residentes; além disso, o cortisol aumentou o número de mordidas na cabeça e tempo de boca insuflada, além de diminuir a latência de mordida na cabeça, nos peixes do Experimento 1; no Experimento 2, também causou aumento do número de perseguições e da locomoção. Portanto, a elevação dos níveis de cortisol aumentaram a agressividade, especialmente em comportamentos decisivos no embate (mordida no corpo e perseguição), demonstrando que o aumento do hormônio circulante não apenas torna o peixe mais agressivo como age efetivamente nas variáveis que poderão definir o vencedor. A elevação do cortisol em peixes sem territorialização aumentou a frequência absoluta de mordida no corpo para números próximos aos obtidos por animais com residência estabelecida tratados com ração controle; nos residentes, o cortisol potencializou a vantagem já conferida pela residência, fazendo com que os animais mordessem três vezes mais o intruso em relação ao controle.

Embora diversos estudos avaliem o nível de cortisol pós-embate e de dominantes e subordinados, a análise do efeito do cortisol pré-embate é mais escassa. Em killifish (*Kryptolebias marmoratus*), altos níveis de cortisol pré-embate são correlacionados a baixos níveis de agressão (EARLEY e HSU, 2008); da mesma forma, aumento exógeno do hormônio por dois dias em trutas-arco-íris causou diminuição na agressão (ØVERLI et al., 2002). Já em rabo-amarelo (*Seriola quinqueradiata*), o desenvolvimento ontogênico do eixo HPI e a elevação dos níveis de cortisol nos juvenis são concomitantes com o aumento da agressão (SAKAKURA et al., 1998). De acordo com Summers et al. (2005), o cortisol pode tanto inibir

quanto potencializar a agressão, dependendo do tempo, magnitude, contexto e coordenação entre as respostas fisiológicas e comportamentais. Ainda segundo esse autor, o cortisol pode ou promover ativamente uma resposta agressiva (nas fases iniciais da agressão, quando influencia a predisposição à agressão), ou ser necessário, mas permissivo em relação ao aumento da agressão e / ou atividade (nas fases posteriores do embate). O aumento da agressividade causado pelo cortisol neste experimento pode refletir essas duas ações do hormônio, tanto na promoção da resposta agressiva (evidenciado por menores latências, como na mordida na cabeça) quanto no aumento da agressão no decorrer do embate, com aumento da frequência de mordidas e perseguições.

No Experimento 2, o cortisol aumentou a locomoção significativamente, resultado contrário ao encontrado em trutas-arco-íris: no estudo de Øverli et al. (2002), a administração de ração suplementada com cortisol causou aumento da locomoção no primeiro dia, mas o efeito foi contrário no segundo dia. Portanto, o tratamento com cortisol em matrinxãs demonstrou uma resposta diferente da encontrada em outras espécies, aumentando tanto a agressividade quanto a mobilidade dos animais. Vale ressaltar que, dado o protocolo experimental adotado, o efeito observado neste experimento foi atribuído diretamente à elevação do cortisol, e não à ativação do eixo HPI e o consequente aumento de outros hormônios liberados pelo eixo, já que foi administrado o hormônio já sintetizado. Portanto, embora ainda não seja completamente elucidado como o cortisol age no comportamento, se direta ou indiretamente (causando alterações fisiológicas que irão agir no cérebro), o fato é que o aumento da agressão neste estudo foi consequência da elevação do cortisol em si, podendo portanto ocorrer em uma situação de estresse, já que a resposta culmina com a liberação do hormônio.

Em relação às variáveis fisiológicas, o tratamento com cortisol aumentou a glicemia em ambos os experimentos, sem causar alterações hematológicas. No Experimento 2 houve uma diferença entre os animais tratados com cortisol pareados para embate e mantidos sem perturbação (testemunhas); essa diferença pode ser atribuída a um maior gasto energético dos animais que lutaram, diminuindo assim a glicose plasmática ao fim do embate. O embate em si já causa um aumento da glicemia, conforme observado no Experimento 1; esse aumento pode ser atribuído inicialmente à liberação de catecolaminas e sua ação glicolítica no início do desafio, sendo que o cortisol possui uma ação mais direcionada à gliconeogênese e à manutenção das reservas energéticas a longo prazo do que a mobilização energética a curto prazo promovida pela glicólise (WENDELAAR BONGA 1997). No entanto, após elevação dos níveis de cortisol, a glicemia pode aumentar, diminuir ou permanecer inalterada (MOMMSEN et al., 1999); neste estudo, portanto, o cortisol agiu disponibilizando substrato

energético, efeito observado mesmo nos animais mantidos como testemunha, e que, portanto, não sofreram elevação da glicemia causada pela liberação das catecolaminas em resposta ao estresse da luta. O embate, ainda, causou um aumento do hematócrito, hemoglobina e número de células vermelhas nos dois experimentos, evidenciando uma resposta dos animais pareados no sentido de promover uma melhor oxigenação em uma situação de exercício físico intenso.

3. Resultados: efeito do gênero

Análise morfológica e determinação do sexo

- Testículos: Os machos apresentaram testículos pares, em forma de fio transparente, localizados ventralmente ao sistema renal e ventrolateralmente à bexiga natatória. Microscopicamente, constituídos por túnica albugínea e tecido conjuntivo que envolviam os túbulos seminíferos, os quais apresentaram apenas presença de células germinativas primordiais em seu interior.

- Ovários: As fêmeas apresentaram ovários pares achatados dorsoventralmente em forma de fita e transparentes, constituídos por túnica albugínea da qual projetou-se prolongamentos de tecido conjuntivo formando as lamelas ovulíferas, contendo em seu interior ovócitos pré-vitelogênicos na fase perinucleolar com núcleo esférico e presença de nucléolos em toda a sua extensão periférica e citoplasma basófilo, além de grupos de ovogônias em divisão celular.

- Indiferenciados: Foram considerados indiferenciados os peixes que apresentaram gônadas constituídas apenas de tecido conjuntivo sem presença de células germinativas e nem conformação característica de gônada masculina ou feminina.

No total, foram encontrados 23 machos e 35 fêmeas entre os indivíduos pareados no Experimento 1; 33 machos e 22 fêmeas nos animais pareados no Experimento 2; e oito machos e oito fêmeas entre as testemunhas. Em sete peixes pareados e duas testemunhas não foi possível determinar o sexo.

Gênero e gênero do oponente

No Experimento 1 (embate em território neutro), os machos perseguiram mais o oponente significativamente (Figura 22), e tiveram uma tendência a ser numericamente superiores na mordida no corpo e ameaça de mordida (Tabela 8). Peixes que foram pareados contra machos tiveram tempo absoluto de arrasto no chão significativamente maior, além de uma tendência a maior latência de mordida no corpo (Tabela 9). Fêmeas permaneceram no

meio do aquário numericamente mais tempo, tendência que foi significativa em seus oponentes (Tabela 10). Não houve diferença entre os gêneros nas variáveis comportamentais do Experimento 2 (residência estabelecida).

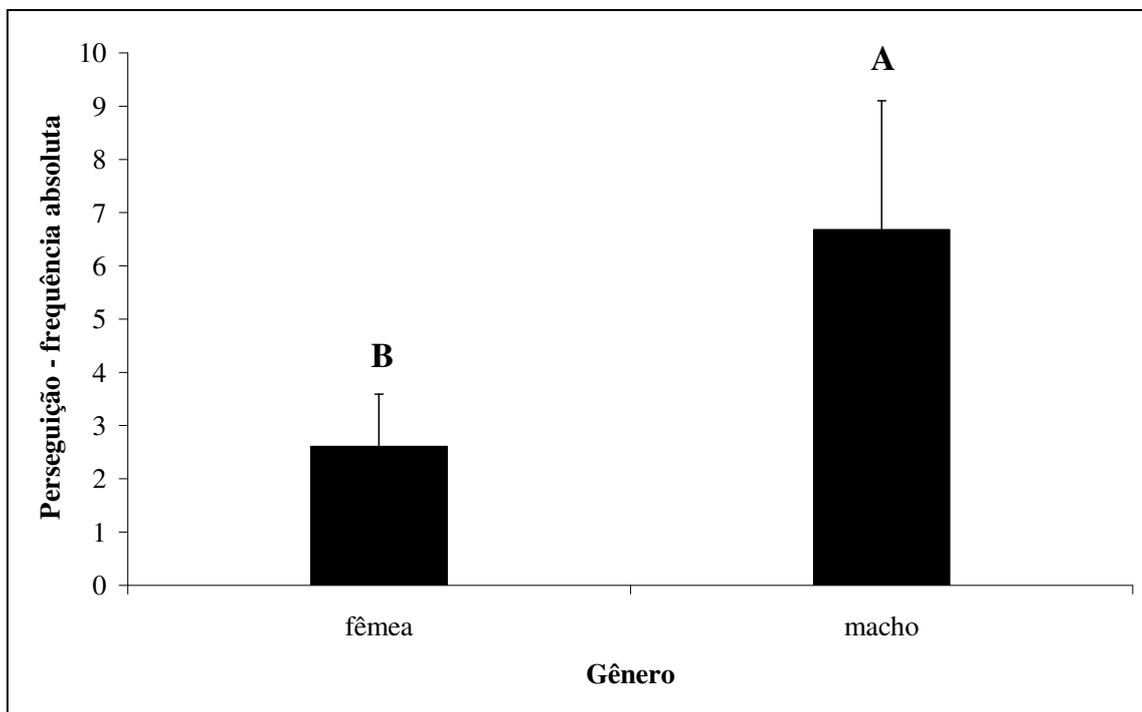


Figura 22. Frequência absoluta de perseguições de machos e fêmeas. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os gêneros ($P=0,0444$). Machos: $n=23$; fêmeas: $n=35$.

Tabela 8. Efeito do gênero na agressão (mordida no corpo, $P=0,0649$; ameaça de mordida, $P=0,0514$). Machos: $n=23$; fêmeas: $n=35$.

Efeito do gênero na agressão		
	Fêmea	Macho
Mordida no corpo	6,04 ± 2,70	13,01 ± 5,68
Ameaça de mordida	3,78 ± 1,02	6,65 ± 1,74

Tabela 9. Efeito do gênero do oponente no tempo absoluto de arrasto no chão e latência de mordida no corpo (segundos) Letras diferentes indicam diferença estatística entre os gêneros do oponente (arrasto no chão, $P=0,0125$; latência mordida no corpo, $P=0,0882$). Oponente macho: $n=23$; oponente fêmea: $n=35$.

Efeito do gênero do oponente na agressão		
	fêmea	macho
Arrasto no chão	4,37 ± 1,41 B	12,57 ± 3,97 A
Latência mordida no corpo	379,75 ± 116,20	751,10 ± 223,69

Tabela 10. Efeito do gênero e do gênero do oponente no tempo relativo de permanência no meio do aquário. Letras diferentes indicam diferença estatística entre o gênero do oponente (P=0,0363; gênero, P=0,0743). Machos: n=23; fêmeas: n=35; oponente macho: n=23; oponente fêmea: n=35.

Efeito do gênero e gênero do oponente na posição		
Permanência no meio (%)		
Gênero	Fêmea	29,72 ± 3,68
	Macho	20,35 ± 3,49
Gênero do oponente	Fêmea	30,10 ± 3,48 A
	Macho	19,97 ± 3,38 B

Variáveis fisiológicas

Na análise dos animais pareados do Experimento 1, machos tiveram aumento significativo de hemoglobina e número de células vermelhas, sendo essa tendência seguida numericamente pelo hematócrito (Tabela 11). Novamente, não houve diferença entre os gêneros no Experimento 2.

Tabela 11. Efeito do gênero nas variáveis hematológicas. Letras diferentes indicam diferença estatística entre o gênero nas variáveis hematológicas (hemoglobina, P=0,0093; número de células vermelhas, P=0,0358; hematócrito, P=0,063). Machos: n=23; fêmeas: n=35.

Efeito do gênero nas variáveis hematológicas		
	Fêmea	Macho
Hematócrito (%)	26,82 ± 3,17	30,19 ± 3,01
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	12,76 ± 0,97 B	14,71 ± 0,89 A
Células vermelhas (x10 ⁶ .mm ³)	2,53 ± 0,18 B	2,88 ± 0,16 A

4. Discussão: efeito do gênero

No experimento com embate em território neutro, machos perseguiram significativamente mais, e obtiveram maiores valores na mordida de corpo e ameaça de mordida. Conforme observado no Experimento 1, mordida no corpo e perseguição são os comportamentos agressivos mais efetuados pelos vencedores; portanto, machos não apenas

demonstraram maior agressividade como também o fizeram nos comportamentos mais relevantes. Entretanto, não houve diferença significativa nos índices de dominância entre os gêneros, indicando que essa maior agressividade não implicou em vantagem para os machos no resultado da luta. Dado o estágio de desenvolvimento das gônadas observado nos peixes, a maior agressividade dos machos encontrada neste experimento não pode ser atribuída aos hormônios sexuais; essa diferença precoce entre machos e fêmeas pode ter origem evolutiva. Segundo Johnsson e Åkerman (1998), trutas-arco-íris juvenis machos são mais agressivos do que fêmeas, provavelmente por diferenças genéticas: como os machos competem por fêmeas na idade adulta, eles podem ter sido selecionados como mais agressivos, e essa diferença genética aparece mesmo nos peixes ainda imaturos sexualmente. Trutas-marrom juvenis machos são mais agressivos do que as fêmeas, e não há diferença entre machos imaturos e machos precocemente maduros (ou seja, a diferença entre os juvenis é genética e não hormonal, realmente); no entanto, nessa espécie essa maior agressividade não interferiu na probabilidade de vencer o embate, sendo igual entre os gêneros (JOHNSSON et al., 2001), padrão também encontrado neste estudo.

Os peixes que brigaram contra machos aumentaram significativamente o arrasto no chão, além de ter uma tendência numérica a maior latência de mordida no corpo. Embora ainda não esteja claro se o comportamento de arrasto nesta espécie é uma demonstração agressiva ou um comportamento deslocado no embate, pode-se afirmar que seu aumento frente oponentes machos significa que quem foi pareado contra esse gênero teve dificuldade em desempenhar um comportamento agressivo mais direto que seria mais efetivo na obtenção da dominância, como por exemplo a mordida no corpo, cuja latência nos animais pareados contra machos foi maior.

Houve uma tendência de que as fêmeas permanecessem mais no estrato do meio do aquário, e seus oponentes permanecessem significativamente mais nessa posição. Assim que são introduzidos no novo ambiente, os matrinxãs permanecem mais no fundo, levando um tempo para explorar o restando do aquário. Assim, se as fêmeas permaneceram um tempo relativo no meio maior, isso significa que elas iniciaram a exploração do novo ambiente antes. Como o par tende a ficar no mesmo lugar, se as fêmeas exploram mais é natural que seus oponentes sigam o mesmo padrão. Fêmeas imaturas de trutas-arco-íris tanto se adaptam a um ambiente novo (adaptação demonstrada pela retomada da alimentação) quanto cessam a natação durante um desafio de confinamento significativamente mais rápido do que os machos imaturos, sem, no entanto, haver diferença nos níveis de cortisol entre os gêneros (ØVERLI et al., 2006). Aparentemente, as fêmeas de matrinxã também seguem esse perfil: são mais rápidas na adaptação e exploração de um novo ambiente, mas frente um desafio (oponente)

são mais cautelosas (menos agressivas). Já em fêmeas de ciclídeos convictos *Amatitlania nigrofasciata*, não há diferença na resposta a um estímulo súbito (objeto caindo na água) entre os gêneros, mas as estratégias de luta adotadas são diferentes: enquanto os machos usam mais demonstrações laterais e batidas caudais, as fêmeas preferem demonstrações frontais e mordidas. Essa maior cautela do macho pode tanto ser resultado da lateralização (e uso de apenas um dos olhos, em detrimento a confrontos frontais) destes, como também simplesmente refletir a diferença de atribuições na espécie: ambos cuidam da prole, mas os machos se envolvem em maior número de confrontos em defesa do ninho, o que explica sua estratégia mais cautelosa e menos custosa a cada confronto (ARNOTT e ELWOOD, 2009).

Quanto às variáveis fisiológicas, a análise apenas dos peixes pareados mostrou uma tendência a um maior hematócrito dos machos, com significativa elevação da hemoglobina e número de células vermelhas destes comparados às fêmeas. Essa diferença, no entanto, não foi observada nos peixes mantidos sem perturbação (testemunhas). Portanto, esse aumento não significa que há uma diferença hematológica entre os gêneros, e sim que, provavelmente, quando frente a um desafio, machos e fêmeas possuem respostas distintas. Assim como podem ter sido selecionados em genes ligados à agressividade (que são importantes na vida adulta), os machos podem ter sido selecionados a, pelo mesmo motivo, responderem fisiologicamente mais rápido em variáveis que conferem vantagem em um confronto, como uma maior capacidade de oxigenação.

Não houve efeito significativo do gênero nas variáveis de agressividade no Experimento 2. No entanto, enquanto no Experimento 1 todos os animais encontravam-se em iguais condições de isolamento, no Experimento 2 machos e fêmeas estavam misturados em residentes e intrusos. Provavelmente, o efeito do gênero neste caso foi diluído pela territorialização, já que esta se mostrou ser um fator bastante efetivo, sugerindo que a residência pode igualar as diferenças comportamentais encontradas entre machos e fêmeas.

CONCLUSÃO

A elevação do cortisol aumentou a agressividade tanto em indivíduos de pares com condições iguais de isolamento quanto em peixes com territorialidade estabelecida, causando efeito principalmente nos comportamentos relacionados à condição de vencedor após o embate, o que sugere que os níveis do hormônio podem interferir na definição da dominância. O protocolo experimental adotado permite afirmar que o que desencadeou estas alterações foi a elevação do cortisol em si e não a ativação do eixo HPI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, I. L.; NÆVDAL, E.; BAKKEN, M.; BØE, K. E. Aggression and group size in domesticated pigs, *Sus scrofa*: 'when the winner takes it all and the loser is standing small'. **Animal Behaviour**, v. 68, p. 965-975, 2004.
- ARNOTT, G.; ELWOOD, R. W. Gender differences in aggressive behaviour in convict cichlids. **Animal Behaviour**, v. 78, p. 1221–1227, 2009.
- BRINN, R. P. **Cortisol exógeno em matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae, Gûnter, 1869): Variáveis fisiológicas na maturação final e crescimento inicial da prole.** 2003, 43 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2003.
- CLEMENT, T. S.; PARIKH, V.; SCHRUMPF, M.; FERNALD, R. D. Behavioral coping strategies in a cichlid fish: the role of social status and acute stress response in direct and displaced aggression. **Hormones and Behavior**, v. 47, p. 336– 342, 2005.
- DUNLAP, K. D.; PELCZAR, P. L.; KNAPP, R. Social interactions and cortisol treatment increase the production of aggressive electrocommunication signals in male electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. **Hormones and Behavior**, v. 42, p. 97-108, 2002.
- EARLEY, R. L.; HSU, Y. Reciprocity between endocrine state and contest behavior in the killifish, *Kryptolebias marmoratus*. **Hormones and Behavior**, v. 53, p. 442–451, 2008.
- GIAQUINTO, P. C.; VOLPATO, G. L. Chemical communication, aggression and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. **Physiology & Behavior**, v. 62, n. 6, p. 1333-1338, 1997.
- GOMES, L. C.; URBINATI, E. C. **Criação de Matrinxã.** In: BALDISSEROTTO, B; GOMES LC. (Org.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. v. 1, p. 149-174, Santa Maria, 2005.
- JOHNSSON, J. I.; ÅKERMAN, A. Intersexual differences in aggression in juvenile rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 52, p. 1292–1294, 1998.
- JOHNSSON, J. I.; SERNLAND, E.; BLIXT, M. Sex-specific aggression and antipredator behaviour in young brown trout. **Ethology**, v 107, p. 587-599, 2001.
- KARINO, K.; SOMEYA, C. The influence of sex, line, and fight experience on aggressiveness of the Siamese fighting fish in intrasexual competition. **Behavioural Processes**, v. 75, p. 283–289, 2007.
- MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 9, p. 211-268, 1999.
- NIJMAN, V.; HEUTS, B. A. Effect of environmental enrichment upon resource holding power in fish in prior residence situations. **Behavioural Processes**, v. 49, p. 77–83, 2000.
- ØVERLI, Ø.; KOTZIAN, S.; WINBERG, S. Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 42, p. 53-61, 2002.

ØVERLI, O.; KORZAN, W. J.; LARSON, E. T.; WINBERG, S.; LEPAGE, O.; POTTINGER, T. G.; RENNER, K. J.; SUMMERS, C. H.. Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. **Hormones and Behavior**, v. 45, p. 324-329, 2004.

ØVERLI, Ø.; SØRENSEN, C.; NILSSON, G. E. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? **Physiology & Behavior**, v. 87, p. 506 – 512, 2006.

ØVERLI, Ø.; SØRENSEN, C.; PULMAN, K. G. T.; POTTINGER, T. G.; KORZAN, W.; SUMMERS, C. H.; NILSSON, G. E. Evolutionary background for stress-coping styles: Relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 396–412, 2007.

POTTINGER, T. G.; CARRICK, T. R. Stress responsiveness affects dominant-subordinate relationships in rainbow trout. **Hormones and Behavior**, v. 40, p. 419-427, 2001.

SAKAKURA, Y.; TAGAWA, M.; TSUKAMOTO, K. Whole-body cortisol concentrations and ontogeny of aggressive behavior in yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel; Carangidae). **General and Comparative Endocrinology**, v. 109, p. 286–292, 1998.

SUMMERS, C. F.; WATT, M. J.; LING, T. L.; FORSTER, G. L.; CARPENTER, R. E.; KORZAN, W. J.; LUKKES, J. L.; ØVERLI, Ø. Glucocorticoid interaction with aggression in non-mammalian vertebrates: Reciprocal action. **European Journal of Pharmacology**, v. 526, p. 21-35, 2005.

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

WINBERG, S.; NILSSON, G. E.; OLSÉN, K. H. Changes in brain serotonergic activity during hierarchic behavior in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) are socially induced. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 170, p. 93-99, 1992.