

Marcio Rodrigo Garcia

**Interação Agonística e Estresse Social em
Astronotus ocellatus e *Tilapia rendalli*
(Teleostei, Cichlidae).**

04

*

1910001226





CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

**Interação Agonística e Estresse Social em
Astronotus ocellatus e *Tilapia rendalli*
(Teleostei, Cichlidae).**

MARCIO RODRIGO GARCIA



f. 1226/04

MESTRADO



PÓS GRADUAÇÃO
EM BIOLOGIA ANIMAL

2003



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

MARCIO RODRIGO GARCIA
BIÓLOGO

INTERAÇÃO AGONÍSTICA E ESTRESSE SOCIAL EM *ASTRONOTUS*
OCELLATUS E *TILAPIA RENDALLI*
(TELEOSTEI, CICHLIDAE).

ORIENTADORA: PROFA. DRA. ELIANE GONÇALVES DE FREITAS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas,
Universidade Estadual Paulista, para
obtenção do título de mestre em
Biologia Animal

-2003-



DATA DA DEFESA: 12/12/2003

BANCA EXAMINADORA

TITULARES:

PROFA.DRA.ELIANE GONÇALVES DE FREITAS _____
(ORIENTADORA)

PROFA. DRA. MARISA FERNANDES DE CASTILHO _____

PROFA. DRA. SILVIA MITIKO NISHIDA _____

SUPLENTES

PROF. DR.: GILSON LUIZ VOLPATO _____

PROFA. DRA. ROSANA MATTIOLI _____



+597.5
G216 i

20404000

Garcia, Marcio Rodrigo.

Interação agonística e estresse social em *Astronotus ocellatus* e
Tilapia rendalli (Teleostei, Cichlidae) / Marcio Rodrigo Garcia. – São
José do Rio Preto : [s.n.], 2003
36 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Eliane Gonçalves de Freitas
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Stress (Fisiologia) 2. Peixe - Comportamento. 3. Peixe -
Comportamento agressivo. 4. Ciclídeos. 5. Apaiari (Peixe). 6. Tilápia
(Peixe) 7. Hierarquia de dominância. 8. Cortisol. I. Freitas, Eliane
Gonçalves. II. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências,
Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 597.5



Dedico,

aos meus pais José Carlos (in memorian) e Marilene

por acreditarem em meus sonhos,

a minha irmã Isabele e sua família Celso e Isadora,

e aos meus avós, tios e primos.

Obrigado por sempre me dedicarem apoio, amor e carinho.

*Para ver um mundo em um grão de areia,
e um céu numa flor silvestre;
retenha o infinito na palma de sua mão,
e a eternidade em uma hora.*

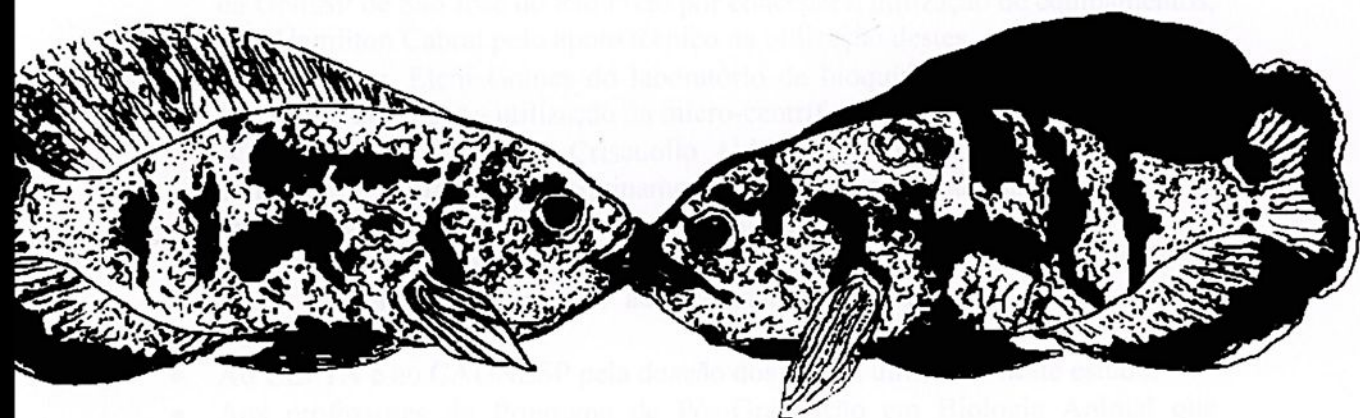
*São versos do poeta William Blake, uma notável
exposição do poder da metáfora no estímulo da
percepção.*

APAIARI

*No olho d'água se vê,
Espelho, mistério;
No olho dele se vê,
Magia, Assédio...*

*Na margem d' água se vê,
Deitado, discreto...
Na cauda dele se vê,
Vibrante ocelo!*

*Embaixo d' água se vê,
Territorialidade...
Na luta dele se vê,
Singela agressividade.*



Poesia e Desenho: Marcio Rorigo Garcia

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer às pessoas que colaboraram para que este trabalho pudesse ser realizado. Expresso profunda gratidão:

- À minha orientadora, Profa. Dra. Eliane Gonçalves de Freitas, pela oportunidade que me deu para realizar o que esperei por longo tempo. À sua seriedade e profissionalismo e aos seus ensinamentos que proporcionaram os meus primeiros passos na produção científica.
- Ao Prof. Dr. Gilson Luiz Volpato pelo auxílio financeiro para adquirir material para medida do cortisol e por sua gentileza em discutir meus resultados.
- Ao Carlos Eduardo de Sousa pelos serviços técnicos prestados, mas principalmente pelo grande amigo que é.
- À Roselene Silva Costa Ferreira pelos serviços técnicos prestados e ajuda em parte da quantificação comportamental.
- Aos estagiários do Laboratório de Comportamento Animal, em especial ao André Luiz da Silva Castro e o Fabrício Barreto Teresa, pela amizade e disposição em ajudar; à Francine Zocoler Mendonça pela dedicação à coleta e quantificação dos dados; à Thais Billalba Carvalho pela sua valiosa contribuição nas análises estatísticas.
- Ao Prof. Dr. Francisco Langeani Neto e seu estagiário Fernando Rogério de Carvalho pela identificação das espécies do presente estudo.
- Ao Rodrigo Egydio Barreto (UNESP-Botucatu) por me ensinar a técnica de coleta de sangue por punção cardíaca, além de esclarecimentos técnicos.
- Ao Fábio Renato Lombardi (IBILCE-UNESP-Lab.Bioquímica) por me ensinar os procedimentos técnicos de coleta de sangue pela veia caudal.
- Ao Fábio Faria e S. Campos pela sua contribuição fotografando os animais e os procedimentos de coleta de dados.
- Ao Prof. Dr. Gustavo Orlando Bonilla Rodriguez do laboratório de bioquímica da UNESP de São José do Rio Preto por conceder a utilização de equipamentos, e ao Hamilton Cabral pelo apoio técnico na utilização destes.
- À Profa. Dra. Eleni Gomes do laboratório de bioquímica e microbiologia da Unesp por conceder a utilização da micro-centrífuga.
- À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati (CAUNESP-Jaboticabal) por conceder a utilização de equipamento para fazer o radioimunoensaio e a Damares e a Janessa que fizeram as medidas do cortisol.
- Aos Profs. Drs. Francisco Langeani Neto e Luís Henrique Florindo, que foram banca da minha qualificação, acrescentando importantes sugestões ao meu trabalho.
- Ao CEPTA e ao CAUNESP pela doação dos peixes utilizados neste estudo.
- Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal que contribuíram com seus valiosos ensinamentos para minha formação.
- Aos colegas e companheiros do curso de mestrado em Biologia Animal.

Projeto financiado pela CAPES



Tilapia rendalli



Fishbase

Astronotus ocellatus



Foto: Fábio Faria e S. Campos

ÍNDICE

RESUMO.....	01
ABSTRACT.....	02
INTRODUÇÃO.....	03
MATERIAL E MÉTODOS.....	06
Animais e Condições de Manutenção.....	06
Delineamento Experimental.....	06
INTERAÇÃO AGONÍSTICA.....	07
ESTRESSE SOCIAL.....	07
Análise Estatística.....	08
RESULTADOS.....	09
Etograma do Comportamento Agonístico.....	09
Dinâmica da Interação Agonística.....	15
Hierarquia de Dominância.....	19
Estresse Social	20
DISCUSSÃO.....	24
Dinâmica da Interação Agonística.....	24
Estresse Social.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

RESUMO

O apaiari (*Astronotus ocellatus*) e a tilápia (*Tilapia rendalli*), como os ciclídeos em geral exibem comportamentos sociais, estabelecendo hierarquia de dominância e defendendo território por meio de interações agonísticas, que são o principal fator causal do estresse social. Essas espécies, embora da mesma família, originaram-se em ambientes distintos e então, é possível que apresentem diferenças nas interações sociais e respondam de forma diferente a um mesmo estressor. Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar a dinâmica da interação agonística e os níveis de estresse social por meio do cortisol plasmático em dominantes e submissos de *A. ocellatus* e *T. rendalli*. As espécies foram submetidas ao estresse social por meio de pareamento em aquários de 50 X 30 X 40 cm durante 1 hora, após 9 dias de isolamento. O sangue foi coletado antes do isolamento, 48 horas antes do pareamento e logo após o pareamento. Foram avaliados o perfil agonístico, a latência para o início dos confrontos, a frequência de ataques e os níveis de cortisol antes e após estresse social. Os comportamentos agonísticos foram divididos em Alta, Média e Baixa intensidade de agressividade e foram avaliados em 4 períodos de 15 minutos. A latência para as interações agonísticas iniciais foi semelhante entre as espécies, porém, os confrontos diretos (de alta intensidade) ocorreram com latência menor para a tilápia. A frequência de confrontos totais e confrontos de alta intensidade foi maior no início da luta para *T. rendalli*. O apaiari apresentou luta ritualizada e iniciou os confrontos com comportamentos de avaliação. O apaiari apresentou maior responsividade ao estresse de manipulação e as duas espécies responderam ao estresse social, porém, de forma diferente em dominantes e submissos. Concluiu-se que os diferentes habitats naturais onde esses animais evoluíram podem ter moldado o comportamento e a responsividade ao estresse de acordo com as pressões de seleção de cada ambiente. Nos lagos Africanos há uma maior diversidade de ciclídeos do que nos rios Amazônicos e, conseqüentemente, maior competição por recursos comuns, favorecendo o escalonamento rápido das lutas. Nos rios Amazônicos, onde a diversidade é menor, os apaiaris podem avaliar seu oponente, engajando em lutas mais ritualizadas. A menor responsividade da tilápia ao estresse pode também estar associada ao seu ambiente, pois, com menores níveis de cortisol a recuperação do estresse pode ser mais rápida, evitando que o animal entre em distresse. Já em apaiaris, a menor competição permite maiores níveis de estresse, pois, nesse caso haveria mais tempo para recuperação do que em ambientes com intensa competição.



ABSTRACT

The oscar fish (*Astronotus ocellatus*) and tilapia (*Tilapia rendalli*), show social behavior as are all cichlids, settling hierarchical rank and defending territories by means of agonistic interactions, which lead them to a social stress. Such species are coming from different habitats, what means that their behavior may be differently modulated by environmental influences and the response to stress also may be variable between them. Thus, the aim of this study was compare the agonistic dynamics and social stress (by means of serum cortisol) in dominant and subordinate *A. ocellatus* and *T. rendalli*. The fish were grouped in pairs in 50 X 30 X 40 cm aquaria during 1 hour after 9 days of isolation. Blood sample was taken before isolation, 48 h before pairing, and after pairing. It was analyzed the agonistic profile and dynamics, the latency to start agonistic interaction, the frequency of attacks and the cortisol levels. The agonistic behavior was classified in High, Median and Low intensity, which were analyzed in 4-min periods. the latency to start interaction was similar between the species. However, high intensity contests were shown faster in tilapia. The frequency of total attacks and the High Intensity Attacks was higher in *T. rendalli*. The oscar shown ritualized and assesment behavior at fight beginning. The oscar was the most responsive to manipulative stress and both of species were responsive to social stress, but in different ways for dominant and subordinated fish. It was concluded that differences in original environment where such species evolved may modulate agonistic interactions and the stress response, according to selective pressures. In the African lakes, there is a higher diversity in cichlid species than is in Amazonian rivers. Thus, high competition may arise and select species with fast fight escalation to territorial maintaining, while ritualized contest is favored in less competitive habitats. Moreover, reduced stress response in tilapia may also be related to its habitat, since with low cortisol level the stress recover can occurs easier and faster, avoiding distress from several fights. In oscar, the reduced competition can be accompaning by high cortisol levels, since in such case could be more time between fights to permit stress recover.



INTRODUÇÃO

Os ciclídeos estão entre os teleósteos mais estudados etologicamente e são, freqüentemente, objeto de estudos ecológicos, evolutivos e comportamentais (Beeching, 1997). Isso ocorre porque as espécies dessa família apresentam um grau relativamente alto na complexidade das suas relações sociais e possuem um complexo repertório comportamental agonístico em suas relações com os indivíduos da mesma espécie (Baerends & Baerends-Van Roon, 1950).

As interações agonísticas são utilizadas no estabelecimento de hierarquia de dominância social e defesa de território, o que torna essas espécies interessantes para estudos sobre agressividade (*ex.* Walter & Trillmich, 1994; Koops & Grant, 1993) e estresse social (*ex.* Fernandes & Volpato, 1993).

No estresse social, os estressores originam-se de um contato social imediato no ambiente natural (Fraser & Broom, 1990) e os agrupamentos e encontros agressivos estão entre os fatores mais freqüentemente citados como sua causa (Craig, 1981). Em grupos onde existe essa estrutura hierárquica, o estressor social terá um impacto diferencial sobre os membros do grupo em relação às suas posições hierárquicas. Estar no nível mais baixo da hierarquia social (submissão) pode representar maior intensidade estressora sobre este do que em relação ao dominante, topo hierárquico do grupo (Wendelaar Bonga, 1997; Zayan, 1991).

Apesar de existirem vários estudos sobre os fatores que interferem na hierarquia de dominância de ciclídeos, poucos trabalhos se ocupam de uma abordagem comparativa. Mesmo nos estudos sobre confrontos assimétricos, os fatores que favorecem a dominância, como tamanho corporal, fase de desenvolvimento das gônadas, níveis de andrógenos plasmáticos etc., podem variar dependendo da espécie (Gonçalves-de-Freitas, 2002). Ambientes naturais diferentes apresentam variações nas pressões ecológicas e esse é um importante fato que pode moldar os comportamentos dos animais. Por exemplo, os lagos Africanos tem maior diversidade de ciclídeos do que os rios da América do Sul, aumentando a competição por recursos comuns nos habitats de maior diversidade (Malarba *et al.*, 1998; Lowe-McConnell, 1996; Lowe-McConnell, 1993). Assim, comparações entre espécies tornam-se cada vez mais necessárias, uma vez que a diversidade de peixes é grande e muitas generalizações têm sido feitas com base em poucas espécies.



Interesse particular é dado sobre a natureza da resposta ao estresse em teleósteos, particularmente aquelas espécies significativas para piscicultura (Barton & Iwama, 1991). O centro dessas respostas é neuroendócrina, contendo ativação do sistema simpático-cromafin com resultante liberação de cotecolaminas na circulação (Gingerich & Drottter, 1989) e uma estimulação concomitante do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal (HPI), que culmina na liberação de glicorticóides do tecido interrenal, principalmente de cortisol (Fryer & Loderis, 1986). Essas respostas endócrinas primárias promovem mudanças adaptativas secundárias nos sistemas respiratório e cardiovascular e na capacidade metabólica, aumentando a probabilidade de sobrevivência sob condições de estresse agudo. Contudo, se o animal é incapaz de evitar a origem do estresse, este se torna crônico e prejudicial, causando supressão do crescimento (Barton *et al.*, 1987), disfunção reprodutiva (Campbell *et al.*, 1992) e imunossupressão (Pickering & Pottinger, 1989).

O apaiari, *Astronotus ocellatus*, e a tilápia, *Tilapia rendalli*, são ciclídeos de origem diferente. O apaiari é originado da Bacia Amazônica (Da Silva, 1992) e a tilápia dos rios e lagos Africanos (Turner, 1996). O apaiari apresenta uma organização baseada em hierarquia de dominância e defesa de território (Beeching, 1997) e o tamanho define a dominância e o tempo necessário para o estabelecimento da hierarquia (Beeching, 1992). Em *T. rendalli* os animais apresentam comportamento semelhante, com defesa de território e hierarquia de dominância (McCarthy, 1999). Apesar de pertencerem à mesma família, são espécies originárias de habitats diferentes, e portanto podem apresentar diferenças nos seus repertórios comportamentais agonísticos e na resposta ao estresse social.

O apaiari tem grande importância na aquariofilia mundial, aquícultura, controle populacional da tilápia e moluscos (Da Silva, 1992). *T. rendalli* tem importância para consumo humano, aquarismo e controle da biomassa vegetal e por este motivo foi introduzida no Brasil em 1953 (Azevedo, 1955). Apesar disso, os estudos sobre organização social e estresse social destas espécies ainda são escassos.

Em estudo comparando os efeitos do estresse social em pares de truta arco-íris, *Onchorynchus mykiss*, e truta marrom, *Salmo trutta*, Sloman *et al.* (2000) observaram que, depois de 48 horas de confinamento, os peixes subordinados exibiram elevação do cortisol em resposta ao estresse. Em truta arco-íris, mais agressivas, a elevação do cortisol ocorreu depois de 4 horas de confinamento, demonstrando que a intensidade de



interação social e agressão tem um efeito sobre os níveis de cortisol e pode variar entre espécies de uma mesma família (Sloman *et al.*, 2000).

Assim, os objetivos deste trabalho foram comparar a dinâmica de interações agonísticas e os níveis de resposta ao estressor social (por meio do cortisol) em dominantes e submissos de *Astronotus ocellatus* e *Tilapia rendalli*.

Desenho Experimental



MATERIAL E MÉTODOS

Animais e Condições de Manutenção

Foram utilizados apaiaris, *Astronotus ocellatus*, provenientes do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) de Jaboticabal e tilápias, *Tilapia rendalli*, do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura (CEPTA-IBAMA) de Pirassununga. Os peixes permaneceram em tanques na mini-estação de piscicultura (IBILCE-UNESP) até atingirem o tamanho mínimo para a maturidade sexual (entre 10 e 16 cm de comprimento padrão) e para viabilizar a coleta de sangue.

As espécies foram, então, transferidas para o laboratório e acondicionadas separadamente em caixas de cimento amianto com capacidade para 500 L (5 indivíduos/L), durante um período mínimo de 30 dias de aclimação. A água (pH 7,5) foi oxigenada e filtrada através de filtro biológico, com temperatura controlada em 27° C, o fotoperíodo foi de 12 horas de luz. Os animais foram alimentados em excesso duas vezes ao dia com ração extrusada e balanceada. As caixas de água foram sifonadas 1 vez por semana para retirada de fezes e restos de alimentos, quando ¼ da água foi renovada.

Delineamento Experimental

O delineamento consistiu no pareamento de apaiaris e tilápias de tamanho semelhante para comparação da dinâmica da interação agonística e medida de cortisol para comparação dos níveis de estresse social.

Foram utilizados 32 indivíduos de cada espécie com peso e comprimento padrão médios de 81,09 g $\pm$ 22,47 e 13,25 cm $\pm$ 1,31 para a tilápia e 130,91 g $\pm$ 27,17 e 14,71 cm $\pm$ 1,01 para o apaiari.

Os aquários da fase experimental (50 x 30 x 40 cm) continham cascalho de pedriscos e foram equipados com termostato para controle da temperatura em 27°C, além de filtro biológico e aeração constante. As paredes laterais e posteriores dos aquários foram revestidas com plástico azul para evitar o contato visual entre animais de aquários vizinhos, apenas a porção frontal ficou livre para as filmagens. A cor azul foi escolhida por reduzir o estresse em outra espécie de tilápia (Volpato & Barreto, 2001). A qualidade da água (pH 7,64 $\pm$ 0,17, nitrito e amônia menores que 0,01 mg/L,



salinidade em 0 ppm, oxigênio dissolvido na água em torno de 6 mg/L) foi monitorado por kits específicos. O fotoperíodo foi mantido em 12 horas de luz (7:00 às 19:00 hs) e a ração oferecida em excesso duas vezes ao dia.

O sexo das espécies foi conhecido após os experimentos, quando os animais foram mortos, por excesso de anestesia (benzocaína 30 ml/5L de água). Por esse motivo e, para viabilizar a comparação, as duplas foram formadas sem distinção de sexo. Este foi conhecido apenas ao final do experimento, quando os animais foram mortos. A sexagem pode ser realizada por meio da inspeção da papila genital corada com azul de metileno, como foi descrito para a tilápia-do-Nilo por Afonso & Lebout (1993). Não há um método satisfatório para a sexagem em *A. ocellatus*, a não ser pela inspeção das gônadas (Fontenele, 1951).

INTERAÇÃO AGONÍSTICA

Os peixes foram isolados nos aquários durante um período de 9 dias. Em seguida, foram pareados e filmados utilizando-se o paradigma residente-intruso (Figler, 1986; Gonçalves, 1993) durante 1 hora. Foi utilizado um etograma de base de acordo com Baerends & Baerends Van-Room (1950) para o apaiari e um etograma da tilápia-do-Nilo de acordo com Falter (1983) e Gonçalves-de-Freitas (1999) para a *T. rendalli* para a descrição das unidades comportamentais agonísticas. Foram quantificadas as frequências comportamentais e latência para as interações agonísticas por meio do programa Etholog 2.25 (Ottoni, 1995). O comportamento foi avaliado dentro dos 60 minutos totais e, também, em 4 períodos de 15 minutos para comparar a dinâmica da interação agonística entre as duas espécies. Foi utilizado um índice como critério para a dominância (frequência de atos agressivos de 1 indivíduo/ frequência total de atos agressivos), de acordo com Bailey (2000). Foram testadas 16 réplicas para cada espécie.

ESTRESSE SOCIAL

O estresse social foi avaliado em 3 momentos: antes do isolamento, 48 horas antes do pareamento (7º. dia de isolamento) e logo após o pareamento. Em cada momento o peixe foi capturado e anestesiado por imersão em benzocaína para a realização das coletas de sangue. A benzocaína foi diluída em álcool etílico (6g de benzocaína em 500 ml de álcool etílico) e 20 ml dessa solução foram diluídos em 3 L de água, perfazendo



uma concentração de 80 mg de benzocaína/L. A tilápia foi anestesiada na proporção de solução de benzocaína de 10ml/5L e o apaiari, 7ml/5L, com um critério de eficiência de 2 minutos para a tilápia e 7 minutos para o apaiari de acordo com os ajustes dos animais ao anestésico. Inferimos a eficácia da anestesia pela perda postural do peixe, falta de reação motora a estímulo e manutenção da ventilação, critério este compatível com o estágio II de anestesia descrito por Iwama *et al.* (1989). O sangue foi retirado por punção cardíaca (0,3 ml a cada coleta), utilizando-se seringa de 1 ml heparinizada (liquemine-Roche). Em seguida, foi centrifugado para coleta do plasma (3000 rpm durante 10 min), o qual foi congelado a - 10°C para posterior análise. Cada coleta de sangue foi precedida por 24 horas de jejum, de acordo com os procedimentos adotados por Barreto (2002). O cortisol foi medido por meio do Kit de radioimunoensaio “Coat-A-Count Cortisol”, DPC (Diagnostic Products Corporation), que foi realizado pelo Laboratório de Morfologia e Bioquímica da UNESP de Jaboticabal. O tempo de manipulação, captura dos peixes, anestesia e coleta de sangue foi medido para detectar possível influência dessa manipulação nos níveis de estresse.

Análise Estatística

O passo inicial na análise foi a retirada dos “outliers” das amostras, os quais foram substituídas pela média, de acordo com Volpato (2001). Em seguida foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk (Zar, 1999) para testar a normalidade dos dados. A partir disso, foram utilizados testes paramétricos ou não paramétricos os quais estão especificados conjuntamente com os resultados. Foi atribuída significância estatística para os valores de $p \leq 0,05$.



RESULTADOS

Foram retiradas 4 réplicas de tilápia por apresentarem comportamento reprodutivo durante o pareamento. Além disso, uma das réplicas de apaiari foi retirada por não apresentar comportamento agonístico. Então, apenas 12 réplicas de *Tilapia rendalli* e 15 réplicas de *Astronotus ocellatus* foram avaliadas. Durante o período de isolamento, os apaiaris apresentavam com frequência o comportamento de permanecer deitados no fundo, designado por “rest” por Baerends & Baerendes-Van Roon (1950). Enquanto as tilápias nadavam durante quase todo o período de isolamento.

Etograma do Comportamento Agonístico

As unidades comportamentais agonísticas das duas espécies foram divididas em comportamentos de Alta, Média e Baixa intensidade de agressão, baseado nos critérios utilizados por Fernö (1987) para *Astotilapia burtoni* e de Gomez-La Plaza (1993) para *Pterophylum scalare* (acará bandeira).

Alta Intensidade: Comportamentos de ataque (golpes) que envolvem contato físico direto a indireto (caracterizado por pressão mecânica devido ao deslocamento de água nos confrontos em paralelo e ondulação). De acordo com Gomez-La plaza (1993), são considerados golpes os comportamentos que provocam deslocamento do animal atingido(tabela 1).

Média Intensidade: Comportamentos que envolvem exibições de ameaça ou contato físico sem deslocamento do oponente (tabela 2).

Baixa Intensidade: Comportamentos agonísticos que não envolvem contato físico, nem exibições de ameaça. Incluem aproximações, afastamento, fuga e posturas de submissão (tabela 3).



Tabela 1 – Unidades comportamentais agonísticas de alta intensidade em tilápia e apaari.

Unidades		
Comportamentais	<i>Tilapia Rendalli</i>	<i>Astronotus ocellatus</i>
Agonísticas		
<i>Confronto em Paralelo com Ondulação</i>	Dois animais posicionam-se lado a lado, voltados para o mesmo sentido ou em sentidos opostos. Ondulam o corpo simultaneamente, geralmente sem ocorrência de contato físico direto entre eles.	Ausente
<i>Ondulação</i>	Um animal em posição horizontal ondula vigorosamente o corpo. Este padrão é semelhante ao confronto paralelo com ondulação, porém envolve apenas um animal do par ondulando.	Ausente
<i>Batida Caudal</i>	Ausente	O peixe bate a cauda de um lado para o outro, e a água é empurrada em direção perpendicular ao plano médio do oponente. A cauda pode golpear o oponente. Não há deslocamento do peixe que movimenta a cauda.
<i>Confronto Lateral</i>	Um animal se aproxima do outro, geralmente com a nadadeira dorsal eriçada, e emite golpes com a boca aberta ou mordidas na região lateral do oponente, podendo ocorrer nas nadadeiras caudal, anal e dorsal, no ventre e dorso.	Idem
<i>Empurrão</i>	Ausente	Os peixes se inclinam com a cabeça mais para baixo, o corpo ondula e a cauda é movida rapidamente. Em maior intensidade ocorre batida caudal e o eixo longitudinal fica quase na vertical. O ataque ocorre na lateral inferior do oponente deslocando-o para cima. Pode ser uma continuação do jogo de corpo ou pode ocorrer isoladamente.
<i>Confronto Bucal</i>	Dois peixes se aproximam frontalmente e, com a boca aberta, justapõem as mandíbulas e se “empurram”, ondulando vigorosamente a região caudal do corpo, ou um morde a mandíbula do outro sem ondulação caudal.	Os peixes mordem a mandíbula um do outro. Tendo agarrado firmemente um ao outro, eles “empurram” e “puxam”, movimentando fortemente as nadadeiras peitorais e caudal.



Tabela 2 - Unidades comportamentais agonísticas de média intensidade em tilápia e apaiari.

Unidades	<i>Tilapia Rendalli</i>	<i>Astronotus ocellatus</i>
Comportamentais		
Agonísticas		
<i>Exibição Frontal</i>	Ausente	Quando distante, os peixes eriçam as nadadeiras ímpares, abrem o opérculo e distendem a membrana branquiostegal. Próximo do oponente, o peixe abre a boca e distende a mandíbula mantendo o eriçamento, a abertura do opérculo e a distensão da membrana branquiostegal.
<i>Ameaça</i>	Exibição realizada por um animal que eriça as nadadeiras ímpares ao máximo quando próximo de um oponente. Esse comportamento pode ser acompanhado de abertura bucal e dos opérculos, podendo ocorrer investidas rápidas em direção ao oponente, mas sem golpes.	Semelhante a tilápia, mas ocorre com maior frequência ameaças como investidas rápidas em direção ao oponente.
<i>Ameaça Simultânea</i>	Caracteriza-se pelo nado em trajetória circular dos 2 animais em perseguição simultânea, geralmente com as nadadeiras eriçadas.	Os peixes se ameaçam girando simultaneamente em um eixo perpendicular aos seus corpos.
<i>Ameaça Perpendicular</i>	O peixe fica no centro do aquário enquanto o outro nada ao seu redor, em trajetória circular. O animal do centro mantém os olhos voltados para o oponente, acompanhando sua trajetória, porém mantendo-se no centro do círculo.	Ausente
<i>Tremulação da Cauda</i>	Ausente	Os peixes tremulam verticalmente a nadadeira caudal. Esta é direcionada aos olhos do oponente com exibição do ocelo. A ação é realizada com a cauda à frente da cabeça do oponente e com os seus corpos em sentidos opostos e paralelos entre si.
<i>Jogo de Corpo</i>	Ausente	Os peixes tomam o lugar um do outro, se jogando contra o oponente ou entrando embaixo deste. Pode ocorrer com os peixes nadando ("dança") ou tombados lateralmente no cascalho (geralmente com um ângulo aproximado de 20°. entre o flanco e o cascalho).



Continuação da Tabela 2.

Confronto	Paralelo	sem ondulação	Ausente	Os peixes se posicionam em paralelo e em sentidos opostos. Eriçam a nadadeira dorsal e, aumentando a intensidade do comportamento, eriçam a nadadeira caudal e anal. Por fim, distendem a membrana branquiostegal e a mandíbula, inclinando o eixo longitudinal do corpo com a cabeça para baixo.
Perseguição			Um animal nada em direção ao outro, acompanhando a sua trajetória. Podem culminar em ataques do perseguidor ou numa natação mais rápida do perseguido, permitindo seu distanciamento do oponente.	Semelhante, mas ocorre com menor frequência e velocidade.



Tabela 3 - Unidades comportamentais agonísticas de baixa intensidade em tilápia e apaiari.

Unidades			
Comportamentais	<i>Tilapia Rendalli</i>	<i>Astronotus ocellatus</i>	
Agonísticas			
<i>Aproximação Frontal</i>	Aproximação de um dos peixes ao seu oponente nadando para frente.	Semelhante,	mas com menor velocidade.
<i>Aproximação Traseira</i>	Aproximação de um dos peixes ao seu oponente nadando para trás.	Semelhante,	mas com menor velocidade e maior frequência.
<i>Contato Inicial</i>	Ausente	Os peixes ficam bem próximos ou encostados, podendo estar nadando, flutuando ou apoiados no fundo.	
<i>Tremor</i>	O peixe treme rapidamente o corpo.	Semelhante, mas tem maior duração.	
<i>Giro 360 °.</i>	O peixe gira sobre seu próprio eixo ou num eixo referencial imaginário. Intercala-se com maior frequência entre Ameaças Simultâneas e Confronto Bucal.	Semelhante. Aparece intercalado com mais frequência entre o Confronto Lateral e Bucal.	
<i>Remoção de Substrato</i>	O peixe fica na posição vertical abocanhando o cascalho e soltando-o logo em seguida.	Idem	
<i>Ondulação de Escape</i>	O peixe ondula vigorosamente o corpo para fugir de golpes laterais do oponente.	Ausente	
<i>Fuga</i>	O peixe envolvido numa interação agonística se afasta do local de confronto após receber um ou mais ataques ou durante uma perseguição.	Idem	
<i>Perda Postural</i>	Ausente	Ocorre um pouco antes ou durante a posição de submissão. Os peixes perdem a postura e movimentam-se irregularmente sem utilizar as nadadeiras, parecendo uma folha na água.	
<i>Posição de Submissão</i>	O peixe se desloca para a superfície da água em um dos cantos do aquário, ficando imóvel em posição horizontal (mais comum). Podem ficar no fundo com a cabeça voltada para cima ou para baixo, com o eixo longitudinal do corpo inclinado em um ângulo que pode variar entre 30°. e 90°.	Geralmente o peixe fica com a cabeça voltada para baixo, com o eixo longitudinal do corpo na vertical. A nadadeira anal fica deitada sobre o corpo, a caudal fechada e dobrada em 90°, as peitorais mantêm a flutuação com movimentos alternados e a dorsal e pélvicas eretas ao máximo. Em alguns casos o peixe pode ficar no fundo com a cabeça para cima em ângulo aproximado de 20°. ou deitado no fundo do aquário.	



Continuação da tabela 3.

<i>Dominância ou Manutenção do Território</i>	Os peixes nadam geralmente no centro do aquário ou permanecem em pausa com as nadadeiras eriçadas. Intercala-se a este comportamento golpes de alta intensidade (confronto lateral) ou ameaças (média intensidade) ao oponente em posição de submissão.	Idem
---	---	------

Dinâmica de Interação Agonística

A frequência total de comportamentos agonísticos das duplas em cada período de 15 minutos foi comparada por 2-way-ANOVA para medidas repetidas e completadas com Tukey (para n desiguais) (Zar, 1999). Apenas no 1º. período houve diferença entre as espécies ($p=0,0001$), sendo a frequência de confrontos em tilápia maior que em apaiairi. Nos demais não houve diferença significativa (2º. $p=0,99$; 3º. $p=0,08$; 4º. $p=0,68$). A tilápia apresentou frequência de confrontos significativamente maior no 1º. período em comparação aos demais ($p<0,0002$). Os outros períodos não apresentaram diferença entre si ($p>0,89$). Em apaiairi houve diferença entre o 1º. (menor) e o 3º. ($p=0,008$) e 4º. ($p=0,004$) períodos (iguais entre si, $p=0,89$). O 2º. foi igual aos demais ($p>0,69$) (figura 1).

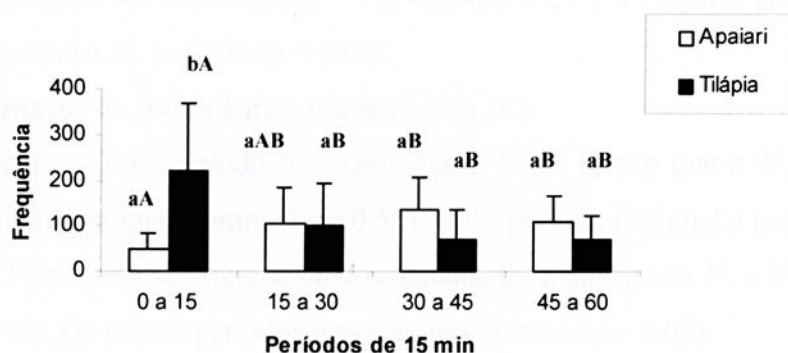


Figura 1 – Frequência média ($\pm$ dp) dos confrontos totais em cada período de 15 minutos. Letras minúsculas comparam as espécies em cada período e letras maiúsculas comparam os períodos em uma mesma espécie. Valores acompanhados de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si.

A frequência de unidades comportamentais de alta, média e baixa intensidade foram comparadas para cada espécie nos 4 períodos por ANOVA de Friedman, completada com Tukey para comparações múltiplas (Zar, 1999).

Houve diferença significativa em todos os casos (Apaíari: alta, $p=0,003$; média, $p=0,00001$; baixa, $p=0,005$. Tilápia: alta $p=0,0003$; média, $p=0,007$; baixa, $p=0,001$).

Confrontos de Alta Intensidade (figura 2 A)

Em apaíari, o 1º. e o 2º. períodos (iguais entre si, $p=0,96$) foram menores do que o 3º. e 4º. ($p < 0,04$) períodos (iguais entre si, $p=1,00$). Em tilápia, o 1º. período foi maior que os demais ($p < 0,008$), o 2º. e 3º. períodos foram iguais entre si ($p=0,058$), o 2º foi maior que o 4º. ($p=0,003$) e o 3º. e 4º. foram iguais entre si ($p=0,65$).

Confrontos de Média Intensidade (figura 2B)

Em apaíari, o 1º. período foi menor que o 2º.e 3º. ($p < 0,01$) períodos (iguais entre si, $p=0,89$) e que o 4º. ($p=0,02$) período (diferente do 2º. e 3º., $p < 0,01$). Em tilápia, o 1º. período foi maior que o 3º. ($p=0,03$) e o 2º. e 3º. (iguais entre si, $p=0,68$) foram maiores que o 4º. período ($p < 0,02$).

Confrontos de Baixa Intensidade (figura 2C)

Em apaíari, o 3º. período foi maior que o 1º. e menor que o 2º. período ($p < 0,02$), os quais foram iguais entre si ($p=0,52$). O 4º. período foi igual a todos ($p > 0,11$). Em tilápia o 3º. período se diferenciou dos demais, foi maior que o 1º. e 2º. e menor que o 4º. ($p < 0,013$). Os outros períodos foram iguais entre si ($p > 0,07$).

Os comportamentos também foram comparados entre as espécies em cada período pelo teste de Mann-Whitney (Zar, 1999).

Nos comportamentos agressivos de alta intensidade ocorreu diferença apenas no 1º. período, sendo a frequência de confrontos maior para a tilápia do que para o apaíari ($p=0,00008$). Nos demais períodos não houve diferença ($p > 0,24$) (figura 2A).

Não houve diferença significativa na frequência das unidades comportamentais de média intensidade entre as espécies nos 4 períodos ($p > 0,08$; figura 2B). Na frequência dos comportamentos agressivos de baixa intensidade houve diferença significativa entre as espécies apenas no 2º. período ($p=0,05$). Nos demais períodos não houve diferença significativa ($p > 0,10$) (figura 2C).



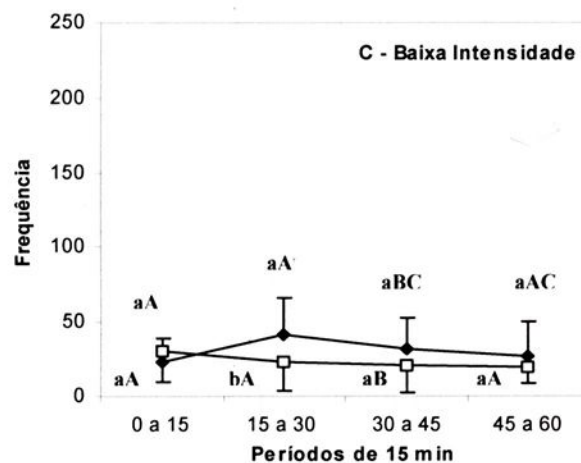
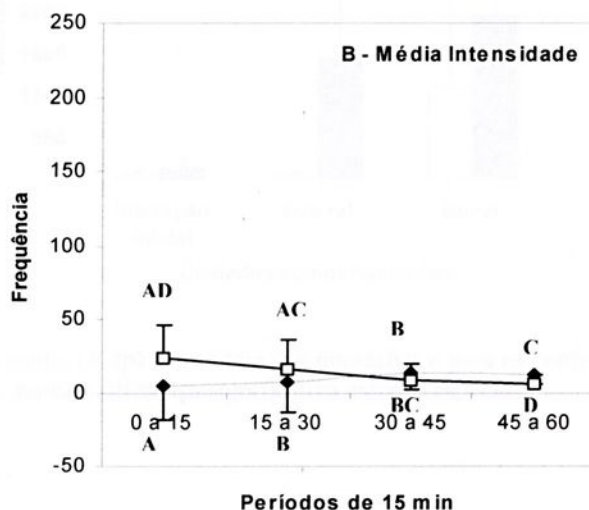
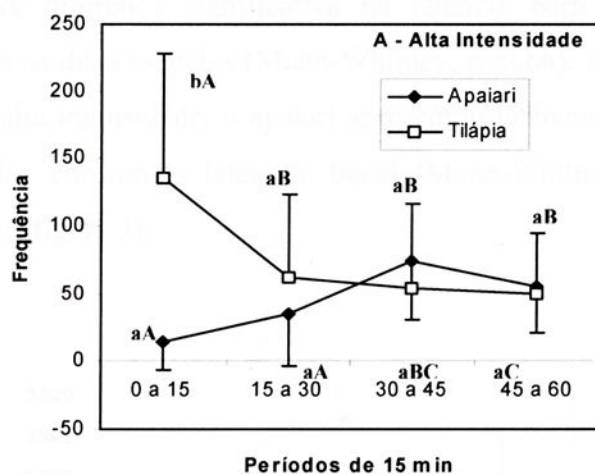


Figura 2 – Frequência média ($\pm$ dp) dos confrontos de alta (A), média (B) e baixa (C) intensidade em cada período de 15 minutos, respectivamente. Letras minúsculas comparam as espécies em cada período e letras maiúsculas comparam os períodos em uma mesma espécie. Valores acompanhados de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si.

Não houve diferença significativa na latência para o início das interações agonísticas entre as duas espécies (Mann-Whitney, $p=0,66$). No entanto, considerando-se unidades de alta intensidade, o apaiari apresentou latência significativamente maior para o início dos confrontos lateral e bucal (Mann-Whitney, $p=0,00001$ e $p=0,02$, respectivamente) (figura 3).

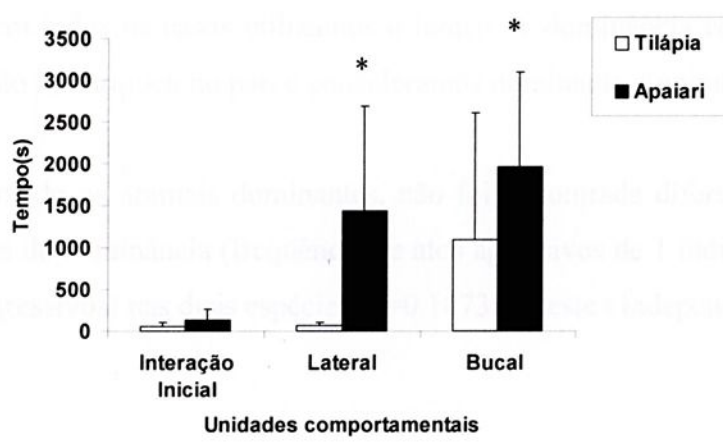


Figura 3 – Latência média ($\pm$ dp) para início das interações e para os confrontos lateral e bucal em tilápia e apaiari. Asteriscos indicam diferença significativa entre as espécies.

Hierarquia de Dominância

A hierarquia definiu-se em menos de 1 hora para 91,7 % das duplas de tilápia, quando as lutas cessavam e os animais adquiriam postura de dominância ou submissão (como descrito na tabela 3).

Em apaiari, apenas 26,7 % das duplas definiram hierarquia antes de 1 hora. A maioria delas ainda estavam lutando quando terminava o período de pareamento.

Assim, em todos os casos utilizamos o índice de dominância como critério para definir a posição hierárquica no par, e consideramos dominante o animal que apresentou maior índice.

Considerando os animais dominantes, não foi encontrada diferença significativa entre os índices de dominância (frequência de atos agressivos de 1 indivíduo/frequência total de atos agressivos) nas duas espécies ($p=0.187381$, teste t independente - figura 4).

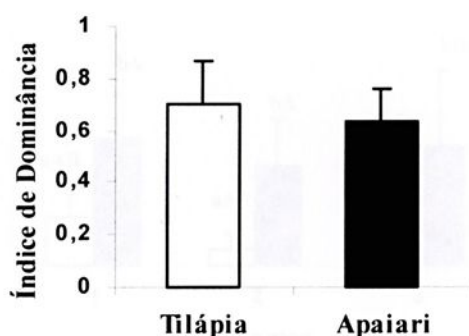


Figura 4 – Média ($\pm$ dp) do índice de dominância nas 2 espécies.

Estresse Social

Devido ao alto custo do material para medidas do cortisol, apenas 7 réplicas de cada espécie foram sorteadas para essa análise. As duplas de tilápias sorteadas foram de machos, e em apaiari apenas 1 das 7 duplas foram de fêmeas. Nenhuma dupla de macho e fêmea foi sorteada.

Inicialmente, o cortisol da dupla foi comparado entre os 3 momentos e entre as espécies por meio de 2-Way ANOVA, completada com o teste de Mínima Diferença Significativa (LSD test) para comparações múltiplas (Zar, 1999). Os apaiaris apresentaram níveis maiores de cortisol do que a tilápia nos 3 momentos, antes do isolamento ($p=0,001$), antes do pareamento ($p=0,0001$) e após o pareamento ($p=0,01$). Não houve diferença significativa entre os momentos para o apaiari ($p<0,13$), mas, para a tilápia, o cortisol após pareamento foi maior que antes do pareamento ($p=0,006$).

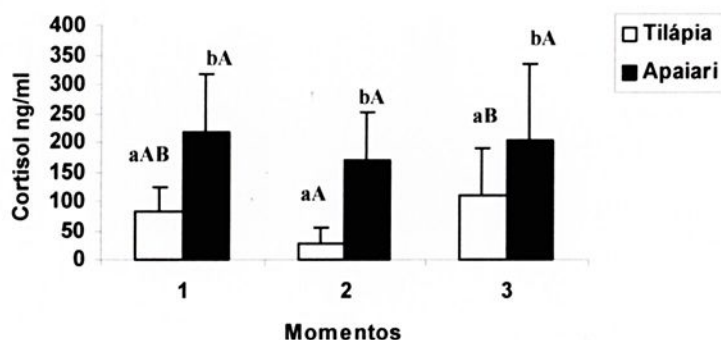


Figura 5 – Média ($\pm$ dp) dos níveis de cortisol plasmático em apaiari e tilápia nos 3 momentos de coleta. 1 = antes do isolamento; 2 = 48 h antes do pareamento; 3 = após o pareamento. Letras minúsculas comparam as espécies em cada momento e letras maiúsculas comparam os períodos em uma mesma espécie. Valores acompanhados de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si.



O cortisol plasmático foi comparado de acordo com a posição hierárquica no 3º. momento, após o pareamento. Em apaiaris, os submissos apresentaram maiores níveis de cortisol do que os dominantes (Teste t para amostras dependentes, $p=0,01$), mas, não foi encontrada diferença significativa entre dominante e submisso para a tilápia (Teste t para amostras independentes, $p=0,38$) (figura 6).

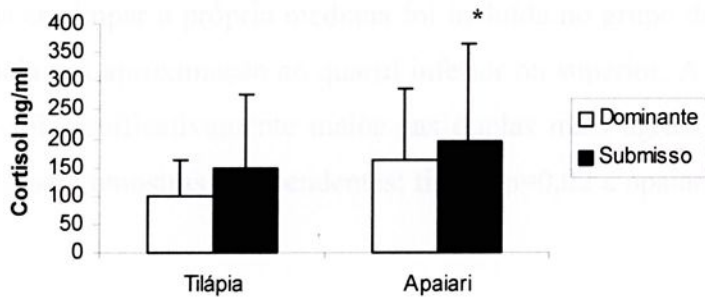


Figura 6 – Média ($\pm dp$) do nível de cortisol plasmático após o pareamento. Asterisco indica diferença entre dominante e submisso na mesma espécie.

Como não houve diferença nos níveis de cortisol plasmático entre dominante e submisso para a tilápia, dividimos as duplas pareadas (n=7) em mais e menos agressivas pela frequência total de confrontos emitidos ao longo dos 60 minutos de registro.

Potencialmente, comparamos os níveis de cortisol nesses 2 grupos. Foram consideradas mais agressivas as duplas que apresentaram frequência total de confrontos acima da mediana e menos agressivas aquelas que ficaram abaixo das medianas. Como o nº. de réplicas era ímpar a própria mediana foi incluída no grupo de maior ou menor agressividade pela sua aproximação ao quartil inferior ou superior. A frequência média dos confrontos foi significativamente maior nas duplas mais agressivas para as duas espécies (Teste t para amostras independentes; tilápia p=0,02 e apaiari p=0,004 - figura 7).

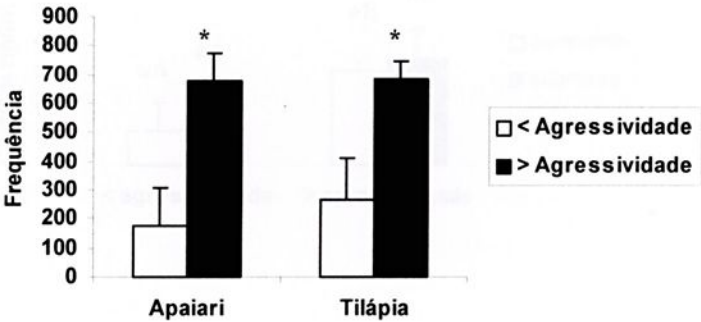


Figura 7 – Frequência média ($\pm dp$) nas duplas de maior (n=3) agressividade e de menor (n=4) agressividade em tilápia e apaiari, durante os 60 minutos de confronto. Asterisco indica diferença significativa dentro da mesma espécie.

O cortisol plasmático de dominantes e submissos nos grupos de maior e menor agressividade foi analisado, em cada espécie, por 2-way ANOVA, completada com o teste de Mínima Diferença Significativa (LSD test) (Zar, 1999).

O cortisol dos submissos foi maior que do dominante apenas para o apaiari nas duplas mais agressivas ($p=0,0004$), e semelhante nas duplas menos agressivas ($p=0,62$) (figura 8A). Para a tilápia não houve diferença em ambos os grupos ($<agressividade$, $p=0,51$; $>agressividade$, $p=0,27$ –figura 8B). Em apaiari o cortisol de dominantes mais agressivos foi maior do que os menos agressivos ($p=0,02$), e o mesmo ocorreu para os submissos ($p=0,09$) (figura 8A). Para a tilápia, apenas o cortisol dos submissos mais agressivos apresentou-se maior ($p=0,007$). Para os dominantes não houve diferença ($p=0,09$).

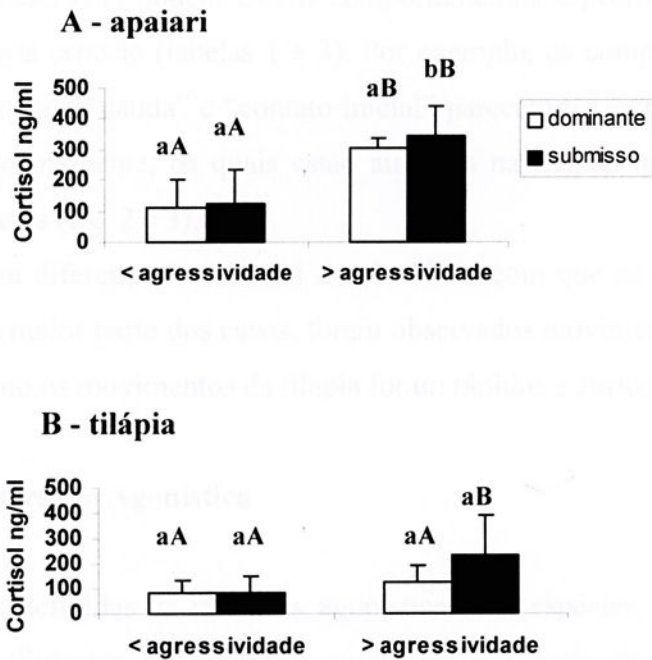


Figura 8 – Média ($\pm$ dp) do cortisol plasmático em tilápias e apaiaris dominantes e submissos de menor e maior agressividade. Letras maiúsculas comparam os grupos de maior e menor agressividade, enquanto as minúsculas comparam dominantes e submissos. Valores acompanhados de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si.

DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou diferenças no comportamento agonístico e no estresse social entre as espécies de ciclídeos *Tilapia rendalli* e *Astronotus ocellatus*. Tais diferenças podem ser associadas ao ambiente de origem dessas espécies, como será discutido.

O etograma considerado para o presente estudo baseou-se em outros já descritos por Baerends & Baerends-Van Roon (1950) para vários ciclídeos, incluindo o apaiari, e para a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), descritos por Alvarenga & Volpato (1995). No entanto, o etograma deste estudo foi mais detalhado do que os demais e, descrito pela primeira vez para a *Tilapia rendalli*.

A comparação dessas unidades comportamentais evidencia que, apesar de existir um padrão básico aparente para os ciclídeos (*ex.* Baerends & Baerends-Van Roon, 1950; Fryer & Iles, 1971) podem existir comportamentos específicos e de significado diferente para cada espécie (tabelas 1 a 3). Por exemplo, os comportamentos “jogo de corpo”, “tremulação da cauda” e “contato inicial” parecem ter significado de avaliação das condições do oponente, os quais estão ausentes na tilápia, que inicia a luta com ataques mais diretos (fig. 2 e 3).

Uma outra diferença notada, foi a velocidade com que as unidades agonísticas são exibidas. Na maior parte dos casos, foram observados movimentos mais lentos para o apaiari, enquanto os movimentos da tilápia foram rápidos e curtos.

Dinâmica de Interação Agonística

Uma vez definidas as unidades agonísticas das espécies, foi possível fazer a comparação da dinâmica da interação agonística por meio da frequência total de confrontos e, também, pela frequência de confrontos de alta, média e baixa intensidade de agressividade, de acordo com os critérios de Fernö (1987) e de Gómez-Laplaza (1993).

A *T. rendalli* apresentou uma frequência total de unidades comportamentais muito maior que o apaiari nos 15 min iniciais da luta (figura 1), enquanto no apaiari, a frequência aumentou significativamente apenas após 30 min. Isso reflete a maior rapidez para o estabelecimento hierárquico na tilápia do que para o apaiari, o qual apresentou apenas 26,7 % de estabelecimento de hierarquia dentro dos 60 min de



observação. Ao contrário, 91,7% da tilápia definiu a hierarquia antes do término das observações. Nesse sentido, o comportamento da *Tilapia rendalli* é semelhante ao relatado para a tilápia-do-Nilo, a qual estabelece hierarquia rapidamente e tende a reduzir os confrontos após o estabelecimento (Gonçalves & Nishida, 1994). Para o apaiari é mais difícil fazer esse tipo de comparação, pois, não foram encontrados artigos comparando o tempo de estabelecimento hierárquico em ciclídeos brasileiros. Além disso, a luta perdurava os 60 min dificultando avaliação da duração do confronto.

A *T. rendalli* apresentou confrontos de alta intensidade significativamente maior do que os de média e baixa intensidade no início do pareamento (fig.2). No geral, os comportamentos de média e baixa intensidade também foram maiores nesse período, porém, a redução dos confrontos de alta intensidade foi maior ao longo do tempo. Já o apaiari, apresentou aumento dos confrontos de alta intensidade apenas após 30 min de pareamento.

A princípio, esperava-se que os confrontos de alta intensidade ocorressem sempre no início das lutas, e que com o passar do tempo, ocorresse predomínio dos itens de média e baixa intensidade, como exibições e posturas de submissão ou dominância, o que reduz o gasto energético na manutenção da hierarquia de dominância em peixes (Haller & Wittenberger, 1988). Isso parece ocorrer para a *T. rendalli*, cujos comportamentos de alta intensidade reduziram ao longo dos 60 min observados, mas não para o apaiari, cujos comportamentos de alta intensidade aumentaram nesse período. No entanto, é possível que isso seja observado em períodos prolongados de agrupamento, como observado para tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, cujos confrontos diretos são reduzidos após 3 dias de pareamento, predominando as ameaças e a postura de submissão (Gonçalves & Nishida, 1994).

O comportamento do apaiari é mais ritualizado no início das lutas e é composto por itens avaliativos, como aproximação, contato inicial e jogo de corpo, que são itens de menor intensidade de agressão e que são utilizados para avaliar o oponente. De acordo com Ridley (1995), lutas ritualizadas apresentam sinais que podem evoluir para a luta direta ou a contenção da luta e fuga. Com isso, animais evitam injúrias e morte. Em *Cichlasoma biocelatum* ocorre as lutas escalonadas, pois passam por três estágios: 1º. *displays* (exibições eriçando as nadadeiras para aumentar a superfície do corpo), 2º. batidas caudais (ataque indireto) e 3º. ataque com a boca sem prejuízos ao oponente. A sequência de cada estágio acontece apenas se ambos os peixes estiverem pronto para o



próximo estágio. Desse modo, um dos peixes tem a oportunidade de fugir e não continuar na sequência da luta (Lorenz *apud* Ridley, 1995). Portanto, é possível que, na natureza, os confrontos ritualizados iniciais de apaiari sejam suficientes para afastar intrusos do território, sem necessidade de confrontos mais agressivos. Assim, o gasto energético seria menor do que engajar em lutas diretas imediatamente.

Poderíamos inferir menor motivação agressiva ao apaiari por sua luta ser ritualizada e maior motivação agressiva para tilápia por esta iniciar o confronto com ataques de alta intensidade. No entanto, devemos levar em consideração que é muito complicado compararmos a motivação em duas espécies diferentes, pois, evoluíram de forma diferente e, de acordo com Pitcher (1993) existem fatores extrínsecos e intrínsecos que modulam o início da resposta agressiva e sua duração. Além disso, a latência para o início das interações foi a mesma para as duas espécies, mostrando que as interações agonísticas, embora com diferenças qualitativas (comportamentos avaliativos ou ataques de alta intensidade), se iniciam no mesmo momento (fig. 3).

Embora a definição hierárquica da tilápia tenha sido observada mais rapidamente, o índice de dominância foi semelhante entre as espécies, evidenciando uma relação semelhante entre ataques emitidos e recebidos (fig.4). Esse índice tem sido considerado um bom indicador de dominância para várias espécies de ciclídeos (Gomez-Laplaza, 1993; Oliveira & Almada, 1996). Além disso, esse índice também pode ser considerado como um bom indicador de motivação agressiva (Oliveira & Almada, 1996), evidenciando, mais uma vez, que não se pode considerar a tilápia como espécie mais agressiva em relação ao apaiari.

As diferenças na dinâmica da interação em tilápia e apaiari podem estar associada ao ambiente no qual eles vivem. Os lagos africanos, como o Malawi, por exemplo, apresenta uma grande diversidade de ciclídeos e um grande número de espécimes. Como todas as espécies defendem território, a competição por espaço para desova é grande nesses locais. Por isso, não há tempo para confrontos avaliativos. A luta deve ser rápida e os ataques devem ser imediatos. Além disso, no lago Malawi *T. rendalli* é o único ciclídeo que não apresenta cuidado parental na boca. Os ovos e depois os jovens são guardados por ambos os pais sobre uma rocha ou em uma cratera, o que aumenta a necessidade de rápidas investidas de ataques na proteção da prole por ambos os sexos (Turner, 1996). Ao contrário, a competição por espaço pode ser reduzida nos rios Amazônicos, onde a diversidade de ciclídeos é menor do que na África. Nesse caso, as interferências no território podem ser menos frequentes, permitindo avaliações e lutas



mais ritualizadas, antes que os ataques diretos se iniciem. De acordo com Becker & Crews (1993) comportamentos agressivos são comportamentos específicos de ameaça e luta resultados da competição e defesa de recursos limitados. Assim, os resultados deste estudo indicam que o ambiente estaria selecionando o comportamento de acordo com a habilidade competitiva das espécies de ciclídeos.

Estresse Social

Comparando as duplas entre as espécies, o cortisol em apaiari foi mais alto em todos os momentos, antes do isolamento, depois do isolamento e após o pareamento (fig.5), demonstrando maior responsividade do apaiari ao estresse do que a tilápia. Os altos níveis de cortisol antes e depois do isolamento para o apaiari mostra sua alta responsividade ao estresse de manipulação em relação a tilápia. Antes do pareamento, como na maioria dos experimentos, a transferência do peixe para o isolamento é potencialmente traumático e pode ter efeitos de longo e curto período de estresse (Gómez-Laplaza & Morgan, 2000) dependendo da responsividade da espécie (Pickering *et. al.*, 1982). Além disso, aparentemente o apaiari se mostrou mais estressado durante a fase de isolamento, passando maior parte do tempo deitado sobre o cascalho (“rest”, de acordo com Baerends & Baerends Van-Roon, 1950). Outro indicativo foi a inibição de apetite, pois, o apaiari não se alimentava nos primeiros dias de isolamento, enquanto a tilápia se alimentava de toda ração colocada em excesso e se movimentava a maior parte do tempo. De acordo com Beitinger (1990) e Donaldson (1981) interrupção da ingestão alimentar é freqüentemente um sensível indicador de um peixe estressado e a supressão de apetite geralmente está associada à elevação do cortisol.

A alta responsividade do apaiari aos estressores de manipulação aumenta os riscos ao manejo desta espécie em cultivo. Isto pode ocorrer, pois, a imunodeficiência decorrente da resposta ao estresse confirmada por Kebus *et al.* (1992) e Iwama (1993), comprova correlação negativa à elevação do cortisol plasmático com a diminuição do número de linfócitos circulantes. Um exemplo de estresse agudo como no presente estudo, causando imunossupressão é demonstrado por Maule *et al.* (1989), onde 25% da função dos linfócitos foi suprimida em salmão (*O. tshawytscha*), quatro horas após estresse (imersão dos peixes por 30 segundos). Além disso, animais mais responsivos ao estresse de manipulação estão vulneráveis à potencialização do estresse em contato



com outros estressores, como por exemplo, os estressores ambientais. De acordo com Wendelaar Bonga (1997), o acúmulo de efeitos sucessivos em situações de estresse pode manifestar-se em nível populacional ocasionando severa mortalidade. O estresse cumulativo potencializa a ação de distúrbios não problemáticos, mas ao se acumularem podem levar a um efeito deletério no indivíduo, e mesmo na população. Barton e Iwama (1991) comentam que o peixe tem a capacidade natural de responder fisiologicamente aos estressores. Entretanto quando os mecanismos de resposta são forçados além de seus limites normais, a resposta pode ser deletéria a saúde dos peixes. Além disso, com a manutenção da resposta ao estressor, o cortisol permanece alto por longo período, o que pode ocasionar uma série de efeitos terciários como queda de desempenho produtivo e reprodutivo (Pickering et al. 1987, Carragher et al. 1989, Pickerig e Pottinger, 1989).

Analisando os resultados da figura 5, notamos que não houve diferença entre os 3 momentos para o apaiari, mas, que a tilápia mostra uma diferença entre o cortisol após o isolamento e depois do pareamento. Isso sugere uma alta responsividade para a tilápia ao estressor social. Para o apaiari essa possibilidade pode estar mascarada pela resposta ao estresse de manipulação (o cortisol do apaiari já estava alto antes do pareamento). Isso é visto de forma análoga em *Oreochromis niloticus* em confinamento, que apresentavam concentrações plasmáticas de cortisol tão altas nos animais submetidos a estresse quanto nos controle, sendo essa igualdade atribuída ao estresse social que vinham sofrendo (Barcellos et al., 1997).

Apesar do cortisol ter sido semelhante nos 3 momentos em apaiari, a sua responsividade ao estresse social pode ser inferida da diferença dos níveis desse hormônio apresentada por dominantes e submissos (fig. 6). Esses resultados concordam com a maioria dos casos de vertebrados, onde os submissos apresentam cortisol mais elevado que os dominantes (Sapolsky, 1993), incluindo várias espécies de peixes (Wendelaar Bonga, 1997). No entanto, os níveis de cortisol foram semelhantes entre dominantes e submissos para a tilápia (fig.6). Esse resultado não foi o esperado, pois, a tilápia definiu a hierarquia mais rapidamente que o apaiari e, como demonstra Fox et al. (1997) com *Haplochromis burtoni*, quanto maior o tempo de estabilidade na hierarquia, maior a diferença de liberação de cortisol entre dominantes e submissos.

De acordo com Sloman et al. (2001), a resposta do cortisol de subordinados podem variar entre as espécies. Por exemplo, em trutas marrom os submissos respondem menos ao estresse social do que em truta arco-íris. Outra forma para explicar



o ocorrido é pelas curvas de liberação de cortisol, que são variáveis em tempo e magnitude (Barton *et al.* 1980; Sumpter *et al.*, 1985). Por exemplo, em várias espécies de salmonídeos (Barton *et al.*, 1985; Pickering e Pottinger, 1989; Mesa, 1994), na tilápia-do-Nilo (Barcellos *et al.*, 1999) e no bagre (heptapteridae) *Rhamdia quelen* (Barcellos *et al.*, 2000) o pico de liberação do cortisol ocorre uma hora após o contato com um estressor, e requer 24 horas para o restabelecimento das condições plasmáticas iniciais. Por isso, utilizamos uma hora de agrupamento neste estudo. Apesar disso, não se pode descartar a possibilidade de que, tanto a tilápia como o apaiari, não apresentem esses picos. É possível que, para o *A. ocellatus*, a liberação de cortisol aumente após 60 min de estresse social, pois, apenas 26,66% das duplas definiram a hierarquia nesse período. Por outro lado, em *T. rendalli* o pico de cortisol pode ser anterior a esse período, bem como o tempo de recuperação do estresse, pois, a dominância se estabeleceu muito rapidamente.

Para avaliarmos mais detalhadamente a associação entre estresse social e níveis de cortisol, separamos a população de tilápia e apaiari em duas subpopulações compostas por duplas mais e menos agressivas (figura 7). Esse procedimento pode ser utilizado na busca de variações decorrentes de diferenças individuais entre as espécies (ex. Jordão, 2003; Soares, 2003). O cortisol foi maior na subpopulação de duplas mais agressivas em dominantes e submissos para o apaiari, enquanto na tilápia apenas os submissos apresentaram diferença. Isso mostra uma associação entre níveis de cortisol e níveis de agressividade (figura 8), sugerindo que o cortisol seja um indicador de agressividade em ciclídeos. No entanto, para a tilápia continuou não existindo diferença entre dominantes e submissos, mesmo nas duplas mais agressivas indicando, apesar das considerações anteriores, que o estresse social afeta igualmente os animais de ambas as posições hierárquicas.

A responsividade ao estresse para apaiari e para tilápia pode estar relacionada as adaptações a seus diferentes ambientes, da mesma forma que o seu comportamento agonístico discutido anteriormente. Em um ambiente mais competitivo, com disputas territoriais mais freqüentes como nos lagos africanos, é interessante que a responsividade ao estresse seja menor, pois o tempo de recuperação também será reduzido, evitando que o animal entre em estresse terciários. De acordo com Pickering *et al.* (1982), um tempo considerável é necessário para o retorno à normalidade, porém, os níveis de estresse depende da natureza e severidade do distúrbio, bem como da espécie. Em outro ciclídeo africano, *Oreochromis mossambicus*, por exemplo, foram



encontradas quedas a níveis pré-estresse em até menos de uma hora após a ocorrência do estressor de manejo (Foo e Lam, 1993), o que pode ser um restabelecimento basal considerado rápido. Por outro lado, o cortisol do apairi apresentado neste estudo indica uma adaptação a ambientes com menor competição, onde os encontros são menos frequentes permitindo um maior tempo para recuperação do estresse.

Em conclusão, a intensidade da competição ambiental modula as interações agonísticas e o estresse social em ciclídeos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AFONSO, LOB. & LEBOUT, EL. Métodos para sexagem visual de alevinos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). **Anais do IV encontro Rio-Grandense de técnicos em aquicultura**. Porto Alegre, RS., 100-103, 1993.
- AZEVEDO, P. Aclimação da Tilápia no Brasil. **Chácaras e Quintais** 2:191-192, 1955.
- BAERENDS, GP. & BAERENDS-VAN ROOM, J. An introduction to the study of the ethology of Cichlid fishes. **Behavioral Supplement**, 1, 1-242, 1950.
- BAYLEY, J.; ALANÄRÄ, A.; BRÄNNÄS, E. Methods for assessing social status in Arctic charr. **Journal of Fish Biology**, 57, 258-261, 2000.
- BARCELLOS, LJG.; SOUZA, SMG.; LUCERO, LF. Estudos preliminares sobre o cortisol sérico em resposta ao estresse em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 24:239-245, 1997.
- BARCELLOS, LJG.; NICOLAIEWSKY, S.; SOUZA, SMG DE; LULHIER, F. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) previously exposed to chronic stress. **Aquaculture Research**, Stirling, 30(6):437-445, 1999.
- BARCELLOS, LJG.; WOEHL, VM.; WASSERMANN, GF.; QUEVEDO, RM.; ITTZÉS, I.; KRIEGER, MH. Plasmatic levels of cortisol and glucose in the response to capture and tank transference in *Rhandia quelen* (Quoy e Gaimard, Pisces, Teleostei), a South American catfish. **Aquaculture Research**. Stirling, 2000.
- BARRETO, RE. Estressor social facilita estresse na tilápia-do-Nilo? **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 38 p. 2002.
- BARTON, AB.; PETER, RE.; PAULENCU, CR. Plasma cortisol levels of fingerlings rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest, and subjected to handling, confinement, transport and stocking. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa; 37:805-811, 1980.
- BARTON, AB.; WEINER, GS.; SCHRECK, CB. Effect of prior acid exposure on physiological responses of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to acute handling stress. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, 42:710-719, 1985.
- BARTON, BA, SCHRECK, CB & BARTON, LD. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological condition, and stress responses in juvenile rainbow trout. **Diseases of Aquatic Organisms** 2, 173-185, 1987.



- BARTON BA. & IWAMA GK. Physiological Changes in Fish from Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effect of Corticosteroids. **Annual Reviews of Fish Diseases**, 10, 3-26, 1991.
- BECKER, JB; BREEDLOVE, SM; CREWS, D. **Behavioral Endocrinology**. Massachussets Institute of Technology, 574 p. 1993.
- BEECHING, SC. Visual Assessment of Relative Body Size in a Cichlid fish, the Oscar, *Astronotus ocellatus*. **Ethology**, 90, 177-186, 1992.
- BEECHING, SC. Functional Groups in the Social Behaviour of a Cichlid Fish, the oscar, *Astronotus ocellatus*. **Behavioural Processes**, 39, 85-93, 1997.
- BEINTINGER, TL. Behavioral Reactions for the Assesment of Stress in Fishes. **Journal Great Lakes Research**, 16(4):495-528, 1990.
- CAMPBELL, PM.; POTTINGER, TG. & SUMPTER, JP. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. **Biology of Reproduction** 47, 1140-150, 1992.
- CARRAGHER, JF.; SUMPTER, JP.; POTTINGER, TG.; PICKERING, AD. The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* and *Salmo gairdneri* Richardson. **General and Comparative Endocrinology**, Duluth, 76:310-320, 1989.
- CRAIG, JV. **Domestic Animal Behaviour**. Prentice-Hall, 364 p.,1981.
- DA SILVA, MM. **Criação do Oscar**. São Bernardo do Campo: Pró-Aquarismo Assessoria Técnica Ltda., 12 p., 1992.
- DONALDSON, EM. **The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress**. In Stress and Fish, Q. H. Pickering, p. 110-147. London and New York: Academic Press, 1981.
- FALTER, U. Os comportamentos agonísticos de *Sarotherodon niloticus* (Pisces, Cichlidae) e o significado evolutivo da incubação bucal. **Academia Real da Bélgica** 22(7), 565-594,1983.
- FERNANDES, MO. & VOLPATO, GL. Heterogeneous growth in the Nile tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. **Physiology and Behavior**, 54, 319-323, 1993.
- FERNÖ, A. Agressive behaviour between territorial cichlids (*Astotilapia burtoni*) in relation to rank and territorial stability. **Behaviour**, 103:241-258, 1987.
- FIGLER, MH.; HOWARD, LC. & KITNER-TRIOLO, MH. The effects of duration of territorial residence on aggression in convict cichlids. **Bulletin of the Psychonomic Society**, 24(6), 465-466, 1986.



- FONTENELLE, O. Contribuição para o Conhecimento da Biologia do Apaiari, "*Astronotus ocellatus*" (Spix) (Pisces, Cichlidae), em Cativeiro. Aparelho de Reprodução. Hábitos de Desova e Prolificidade. **Ver. Brasil. Biol.**, v. 1(4), 467-484, 1951.
- FOO, JTW. e LAM, TJ. Serum cortisol response to handling stress and the effect of cortisol implantation on testosterone level in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Aquaculture**, Amsterdã, 115:145-158, 1993.
- FOX, HE; WHITE, SA.; KAO, MHF; FERNALD RD. Stress and Dominance in a Social Fish. **The Journal of Neuroscience**, 17(16):6463-6469, 1997.
- FRASER, AF. & BROOM, DM. **Farm Animal Behaviour and Welfare**. Baillière Tindall, 3ª. edição, 437 p., 1990.
- FRYER, G. & ILES, TD. **The Cichlid Fishes of the Great Lakes of Africa**. Edinburgh: Oliver and Boyd. 641p. 1972.
- FRYER, JN & LODERIS, K. Control of corticotropin secretion in teleost fishes. **American Zoologist** 26, 1017-1026, 1986.
- GINGERICH WH & DROTTAR, KR. Plasma Cathecolamine Concentrations in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anaesthesia and surgery. **General and Comparative Endocrinology** 73, 390-397, 1989.
- GÓMEZ-LA PLAZA, LM. & MORGAN E. Social Isolation, Agression, and Dominance in Attacks in Juvenile Angelfish, *Pterophyllum scalare*. **Aggressive Behaviour**, 19, p. 213-222, 1993.
- GÓMEZ-LA PLAZA LM., MORGAN E. Laboratory studies of the effects of short-term isolation on aggressive behaviour in fish. **Marine Freshwater Behaviour Physiology**, 33:63-102, 2000.
- GONÇALVES, E. Estratégias territoriais e reprodutivas da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 147 p. 1993.
- GONÇALVES, E. & NISHIDA, SM. Estratégias reprodutivas e hierarquia de dominância em peixes. **Anais de Etologia**, 12:31-52, 1994.
- GONÇALVES-DE-FREITAS, E. & NISHIDA, S.M. Sneaking behavior of the Nile tilapia. **Boletim Técnico. CEPTA**, 12:71-79, 1998.
- GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Investimento Reprodutivo e Crescimento em Machos de Tilápia-do-Nilo. **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 44p., 1999.
- GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Confrontos Assimétricos e Hierarquia de Dominância em Ciclídeos. **Anais do XX encontro anual de etologia**, Rio Grande do Norte, RN, 137-141, 2002.



- HALLER, J & WITTENBERGER, C. Biochemical Energetics of Hyerarchy Formation in Betta Splendens. **Physiology Behavior**, 43: 447-450, 1988.
- IWAMA, GK. **Intensive fish production: Course Manual UBC Access Guided Independent Study**. Vancouver: The University of British Columbia, 130 p., 1993.
- JORDÃO, LC. Informação Química e Tomada de Decisão em Peixes. **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 55 p. 2003.
- KEBUS, MJ.; COLLINS, MT; BROWNFIELD, MS; AMUNDSON, CH.; KAYES, TB; MALISON, JA. Effects of rearing density on stress response and growth of rainbow trout. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bathesda, 4:1-6, 1992.
- KOOPS MA. & GRANT, WA. Weight asymmetry and sequential assessment in convict cichlid contests. **Canadian Journal of Zoology**. 71,475-479, 1993.
- LOWE-McCONNELL, R. Fish Faunas of the Africain Great Lakes: Origins, Diversity, and Vulnerability. **Conservation Biology**, v.7, n.3, 634-642, 1993.
- LOWE-McCONNELL, R. Fish communities in the African Great Lakes. **Environmental Biology of Fishes**, 45, 219-235, 1996.
- MALABARBA, LR.; REIS, RE.; VARI, RP.; LUCENA, ZMS; LUCENA, CAS. **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 603 p., 1998.
- MAULE, AG.; TRIPP, RA.; KAATTARI, SL.; SCHRECK, CB. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Journal of Endocrinology**, Cambridge, 120:135-142, 1989.
- McCARTHY, ID.; GAIR, DJ. e HOULIHAN DF. Feeding rank and dominance in *Tilapia rendalli* under defensible and indefensible patterns of food distribution. **Jornal of Fish Biology**, 55, 854-867, 1999.
- MESA, MG. Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon. **Transactions of American Fisheries Society**, Bathesda, 123 (5):786-793, 1994.
- OLIVEIRA RF. & ALMADA VC. Dominance hierarchies and Social Structure in Captive Groups of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* (Teleostei, Cichlidae). **Ethology, Ecology & Evolution** 8:39-55, 1996.
- OTTONI, E. B. - EthoLog 2.2 - a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, 32(3), 446-449, 1995.
- PICKERING, AD., POTTINGER, TG. and CHRISTIE, P. Recovery of the brow trout, *Salmo trutta*, L., from acute handling stress: a time-course study. **Journal Fish Biology**, 20:229-244, 1982.



- PICKERING, AD.; POTTINGER, TG.; CARRAGHER, JF.; STUMPER, JP. The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta*. **General and Comparative Endocrinology**, Duluth, 68:249-259, 1987.
- PICKERING, AD. & POTTINGER, TG. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. **Fish Physiology and Biochemistry** 7, 253-258, 1989.
- PITCHER, TJ. **Behaviour of Teleost Fishes**. Chapman & Hall, 2º. edição, 715 p., 1993.
- RIDLEY, M. **Animal Behaviour**. Blackwell Scientific Publications, 2º. edição, 288 p., 1995.
- SAPOLSKY, RM. **Neuroendocrinology of the Stress-Response**. In **Behavioral Endocrinology**, BECKER, JB; BREEDLOVE, SM; CREWS, D. Massachussets Institute of Technology, 574 p. 1993.
- SLOMAN, KA; GILMOUR, KM; TAYLOR, AC; METCALFE, NB.
Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural conditions. **Fish Physiological Biochemistry**, 28, 11-20, 2000.
- SLOMAN, KA; METCALFE, NB.; TAYLOR, AC & GILMOUR, KM. Plasma cortisol concentrations before and after social stress in rainbow trout and brown trout. **Physiological and Biochemical Biology**, 74, 383-389, 2001.
- SOARES, AA. Indicadores Fisiológicos e Comportamentais de Agressão, Estresse, Crescimento e Desenvolvimento Gonadal em Juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP. 25 p. 2003.
- SUMPTER, JP.; PICKERING, AD; POTTINGER, TG. Stress-Induced elevation of plasma α -MSH and endorphin in brown trout, *Salmo trutta* L. **General and Comparative Endocrinology**, Duluth, 59:257-265, 1985.
- TURNER, G. **Offshore cichlids of Lake malawi**. Cichlids Press, Lavenau, Germany, 240p., 1996.
- VOLPATO GL. **Ciência: da Filosofia à Publicação**. 3º. Edição. Jaboticabal: Funep, 216 p., 2001.
- VOLPATO, GL. & BARRETO, RE. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 34: 1041-1045, 2001.
- WALTER, B. & TRILLMICH, F. Female aggression e male peace-keeping in a cichlidae fish harem : conflict between and within the sexes in *Lamprologus ocellatus*. **Behavioral Ecology & Sociobiology**, 34, 105-122, 1994.



WENDELAAR BONGA, SJORED E. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews**, 77, nº.3, 1997.

ZAR, JH. **Biostatistical Analysis**. Prentice-Hall, 663 p. 1999.

ZAYAN, R. The Specificity of Social Stress. **Behavioural Processes**, 25, 81-93, 1990.



