

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 31/12/2014.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita filho”
Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP

**Escolha entre isolar-se ou interagir socialmente
reduz estresse na tilápia-do-nilo.**

Ana Paula Montedor

Jaboticabal, SP

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita filho”
Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP



**Escolha entre isolar-se ou interagir socialmente
reduz estresse na tilápia-do-nilo.**

Ana Paula Montedor

Prof^a. Dr^a. Eliane Gonçalves de Freitas

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Jaboticabal, SP

2014

Dedico este trabalho

A minha família pelo apoio e confiança em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Eliane Gonçalves de Freitas, por me receber em seu laboratório, pela paciência e pelos inúmeros ensinamentos, muito obrigado!

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo e à Profª Drª Elisabeth Criscuolo Urbinati pela participação e sugestões feitas na minha qualificação.

Aos membros da banca de defesa, por aceitarem o convite tão prontamente e pelas inúmeras contribuições feitas a este trabalho.

Aos meus pais, Maria e Francisco, sem os quais eu não teria chegado até aqui. Muito obrigado por investirem tanto em minha educação e pelo incansável apoio. Obrigada pelo exemplo de seres humanos que são para mim, Luciano e Andréia. Obrigado por tudo!

Ao meu irmãos, Luciano e Andréia, pelo apoio e pelos cuidados com a irmã mais novinha. Sempre me espelhei nos dois para chegar até aqui, obrigado!

Aos meus cunhados, mais que queridos, pelo companheirismo e por me tornarem titia!!!

Ao Marcel, pelo incansável apoio e muita ajuda em todo o mestrado. Aposto que mesmo sendo das exatas, aprendeu um pouquinho sobre peixes!rs. Obrigado por vir até Rio Preto, largando todas suas coisas, para vir cuidar de mim quando fiquei doente durante o experimento! Obrigado por me ouvir e me acalmar sempre que meus picos de cortisol estavam altíssimos!

À todos os colegas do laboratório que me acolheram tão prontamente desde que cheguei. Manu foi um prazer dividir o laboratório contigo, afinal era chato ficar por lá sozinha! Camila, Manu e Gi, obrigada pela amizade e por me fazer sentir que já estava a anos no laboratório, vocês fizeram tudo ficar mais simples. Camila por toda a ajuda, não tenho como agradecer, só dizer que aprendi muito com você. Muito obrigada!

À nossa Rose, pelo apoio em todos os momentos, por nos socorrer no laboratório sempre, por toda a ajuda em minhas coletas (mesmo estando com uma dor de estômago daquelas!).

Rose sem você naquele laboratório, não seríamos nada. Obrigada por ser essa pessoa tão maravilhosa que sempre nos ajuda, não importa o momento, até mesmo na limpeza dos tanques quando ninguém aguentava mais, você arrumava força e nos incentivava a continuar para acabar logo!rs....Rose, muitíssimo obrigada!

Ao Prof. Dr. Rodrigo E. Barreto por me receber prontamente em seu laboratório para as análises de cortisol.

A Moniquita, que além de me apresentar ao comportamento animal e me fazer ter certeza que era isso que eu queria para minha vida, também me recebeu em sua casa para que eu pudesse realizar minhas análises de cortisol. Eu realmente estava me sentindo em casa Moniquita, muito obrigada.

A todos, que de alguma maneira contribuíram na realização deste trabalho.

FINANCIAMENTO:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES (Bolsa
Mestrado)

RESUMO

Animais sociais são sujeitos a constantes pressões decorrentes das interações agressivas para manter ou acessar a dominância social. Em ambientes de criação intensiva, os peixes sociais estão expostos a interações sociais constantes, pois os indivíduos são impossibilitados de escolher entre lutar ou não, e podem ter poucas oportunidades de fuga. O isolamento social, por outro lado, reduz as pressões das interações, mas é estressante para várias espécies. Como os peixes possuem preferências por certas condições (físicas e sociais), ter a possibilidade de se manter dentro de suas preferências é um requisito para o bem-estar desses animais. Assim, ter a possibilidade de escolha entre lutar ou isolar-se socialmente seria uma condição redutora do estresse social para essas espécies. Dessa forma, nosso objetivo foi testar se peixes sociais escolhem ambientes de maior ou menor pressão social e se essa escolha está associada ao estresse do indivíduo. Para isso, machos adultos de tilápia-do-nilo (ciclídeo social) foram submetidos a cinco tratamentos (N = 14 cada) caracterizados por diferentes níveis de pressões sociais. Cada tratamento foi formado por aquários divididos em dois compartimentos (contendo espelhos – co-específicos virtuais) nos quais o peixe podia escolher permanecer; 1. Isolamento social (0 espelho x 0 espelho); Pressão social constante (1 x 1; 3 x 1 espelhos); Pressão social não constante (1 x 0; 3 x 0 espelhos);. Os animais foram filmados (quatro sessões de 15 min) ao longo de um dia para registro do tempo de permanência em cada compartimento, frequência de troca de um compartimento para outro e interação com o espelho. Os níveis de cortisol plasmático foram medidos (ELISA) para inferir estresse. Observamos que os peixes permaneceram maior tempo em ambientes com maior número de espelhos (três espelhos), no qual também emitiram maior número de ataques e *displays*. Essa escolha pode estar associada à maior probabilidade de perda do território, menor monotonia ou a preferência por ambiente social mais rico. Níveis de cortisol foram menores nos tratamentos em que os peixes podiam escolher entre interagir ou isolar-se socialmente, indicando menor estresse. Concluimos que a tilápia-do-nilo prefere ambientes de maior pressão social e apresenta menor estresse quando existe a opção de escolha entre interagir ou isolar-se socialmente, independente do tamanho do grupo social. Portanto, o ideal é que exista a possibilidade de escolha para garantir o bem-estar de peixes sociais.

Palavras-chave: Cichlidae, estresse, cortisol, teste do espelho, território.

ABSTRACT

Social animals are generally under pressure from aggressive interactions exhibited to maintain or access to social dominance. In intensive farming aquaculture, social fish are exposed to constant social interactions because individuals are not allowed to choose between fighting or not, and may have few opportunities to flight. The social isolation, on the other hand, reduces the pressure of interactions, but it is also stressful for several species. Knowing that fish have preferences for specific conditions (both physical and social), remaining within their preferences is a primary requirement for the animal welfare. Thus, having opportunity to choice between keep fighting or socially isolation would be a condition of reducing social stress for these species. Therefore, our goal was to test whether social fish choose environments with higher or lower social pressure and whether such a choice is related to the animal stress. Adult Nile tilapia (a social cichlid fish) males were addressed to five treatments (N = 14 each) with different levels of social pressures. In each treatment, aquaria was divided in two compartments (by a plastic partition) within fish could choose to remain. Each part had mirrors as virtual conspecifics or had not mirrors, as follows: 1. Social isolation (0 x 0 mirrors); constant social pressure (1 x 1; 3 x 1 mirrors), not constant social pressure (1 x 0; 0 x 3 mirrors). Fish were video-recorded (four 15 min-session) along um day to record the time spent in each compartment, the frequency of crossing in between compartments, and frequency of aggressive interaction (attacks and displays) with fish mirror image. Plasma cortisol level was assayed (ELISA) to infer stress level. We observed that fish remained longer in places with three mirrors, wherein they also showed the largest number of attacks and displays. Such a choice can be associated to a greater likelihood of loss of territory, less monotony or preference for richer social environment. Moreover, cortisol levels were lower in treatments where fish could choose to interact or to isolate socially, indicating less stress. We conclude that the Nile tilapia prefer greater social pressure environments and has less stress when there is a possibility of choosing between interact or to isolate socially, independent of the size of the social group, thus improving fish welfare.

Keywords: Cichlidae, stress, cortisol, mirror test, territory.

1. INTRODUÇÃO

Em ambientes de criação intensiva, os peixes estão expostos a estressores constantes, como por exemplo, o confinamento (Barton e Iwama, 1991), as altas densidades de estocagem (Barton e Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997) e as interações sociais (Huntingford *et al.*, 2006). Animais sociais são sujeitos a constantes pressões decorrentes das interações agressivas para manter ou acessar a dominância social (Turner e Huntingford, 1986). A organização social hierárquica é vantajosa porque ordena o acesso a recursos ambientais, sendo que o animal dominante tem prioridade a tais recursos, como parcela maior de alimento e parceiros para acasalamento (Ridley, 1995; Huntingford *et al.*, 1987). No entanto, a interação social e a formação e manutenção de hierarquias pode ser estressante para os submissos por estarem constantemente ameaçados diante do dominante (Johnsson *et al.* 2006), mas também para os dominantes que precisam defender a dominância durante períodos de instabilidade social (Boscolo *et al.*, 2011). Em ambientes sociais estáveis, as interações agressivas são reduzidas após a definição da hierarquia, prevalecendo sinalizações (ou *displays*) de baixa intensidade de agressividade e baixo custo energético (eg. Haller e Wittemberger, 1988; Chellapa *et al.*, 1989; Johnsson *et al.*, 2000). Além disso, a posição social em peixes é mantida por meio de outras sinalizações, como diferenças na coloração da íris (Volpato *et al.* 2003), diferenças na coloração do corpo (Keenleyside *et al.*, 1962; O'Connor *et al.*, 1999) e sinalização química (Giaquinto e Volpato, 1997; Gonçalves-de-Freitas *et al.*, 2008). Além das sinalizações, há outras formas de reduzir as interações agressivas e seus efeitos negativos. Em ambientes naturais, a maioria das espécies animais usa alguma estratégia comportamental, como se esconder ou fugir, para reduzir o contato direto com outros indivíduos e, nesse caso, o estresse social pode ser considerado como intermitente (Fernandes-de-Castilho *et al.*, 2008). Entretanto, em condições de aquicultura, as interações agressivas são constantes, pois o ambiente não oferece a chance do animal se esconder ou fugir de co-específicos (Estevez *et al.*, 2007). Essa é uma situação anti-natural para essas espécies (Huntingford *et al.*, 2006) e a consequência imediata é o aumento dos níveis de estresse social (Fox *et al.*, 1997).

Se por um lado a pressão das interações sociais eleva o estresse nas espécies sociais, o isolamento social, por outro lado, não é a melhor opção para reduzir o estresse das interações agressivas, pois essa situação também tem efeitos negativos para várias espécies. O isolamento social pode elevar os níveis de cortisol em zebrafish (Pagnussat *et al.*, 2013) e aumentar a motivação agressiva em *Astronotus ocellatus* (Gonçalves-de-Freitas e Mariguela,

2006). Durante o desenvolvimento embrionário de trutas marrom e de *Betta splendens*, por exemplo, o isolamento social provoca aumento da exibição de comportamentos agressivos e redução da prontidão para o ataque (Halperin *et al.*, 1992; Ichihashi *et al.*, 2004; Sloman *et al.*, 2010). Em *Cichlasoma nigrofasciatum* o isolamento provoca aumento no estado de timidez, por meio da redução da prontidão para atacar intrusos (Gallagher *et al.*, 1972). Esse efeito da privação social ocorre muitas vezes em ambientes de experimentação e também em aquários de peixes ornamentais (Huntingford *et al.*, 2006). Assim, observamos que tanto o isolamento social quanto as interações sociais constantes são estressantes para os peixes e podem reduzir o bem estar desses animais.

A redução dos indicadores de estresse como o cortisol, tem sido utilizada como indicador de bem-estar, uma vez que o cortisol afeta funções metabólicas, neurais e altera o comportamento (Ellis *et al.*, 2011). No entanto, as definições de bem-estar são mais amplas do que “ausência de estresse”. Como em muitos casos não há um indicador exato de bem-estar, conhecer as preferências dos animais em relação a diversas condições no ambiente é uma forma mais eficaz de oferecer melhores condições de criação aos animais (Volpato *et al.*, 2007; Dawkins, 2008; Volpato *et al.*, 2009). Assim, testes de preferência têm sido recentemente empregados como forma de acessar o bem estar em peixes (eg. Mendonça *et al.*, 2010; Freitas e Volpato, 2013). Como os peixes possuem preferências por certas condições (físicas e sociais), ter condições de manter-se dentro de suas preferências parece ser um requisito para reduzir estados de estresse. Nesse sentido, o próprio indivíduo faz um balanço interno das pressões que atuam sobre ele e decide suas ações (Volpato *et al.*, 2007). No caso das interações sociais, isso significaria ter a liberdade para escolher entre interagir com coespecíficos ou isolar-se socialmente, reduzindo os níveis do estresse das duas condições. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi testar se peixes que podem escolher entre permanecer em diferentes níveis de pressão social ou isolar-se socialmente apresentam menor estresse do que aqueles que são forçados a apenas uma dessas situações.

A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), foi utilizada como modelo para testar a hipótese acima, uma vez que exhibe nível significativo de interações sociais agressivas e na qual o estresse social é bem conhecido (eg. Boscolo *et al.*, 2011). Além disso, é uma espécie bastante usada na piscicultura nacional e internacional e, por isso, todas as informações, sobre o bem-estar são importantes para propor técnicas mais adequadas de manejo (Huntingford *et al.*, 2006).

2. MATERIAL E MÉTODOS