

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ADRIANA APARECIDA CUEL BARONE

**Efeito do maracujá (*Passiflora incarnata* L. 1753) sobre o bem-estar da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L. 1759)**

ADRIANA APARECIDA CUEL BARONE

**Efeito do maracujá (*Passiflora incarnata* L. 1753) sobre o bem-estar da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L. 1759)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elyara M. Pereira da Silva

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

E265b	<p>Barone, Adriana Aparecida Cuel</p> <p>Efeito do maracujá (<i>Passiflora incarnata</i> L. 1753) sobre o bem-estar da tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> L. 1759) / Adriana Aparecida Cuel Barone – Pirassununga, 2006. 72 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo. Departamento de Ciências Básicas. Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal. Orientadora: Profa. Dra. Elyara M. Pereira da Silva.</p> <p>Unitermos: 1. Tilápia do Nilo 2. <i>Oreochromis niloticus</i> 3. Estresse animal, palatabilidade 4. <i>Passiflora incarnata</i> I. Título.</p>
-------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

*“Se, no teu centro um Paraíso não puderes encontrar, não existe  
chance alguma de algum dia, nele entrar”*

*Rubens Alves*

## *Dedico á*

*Meus sobrinhos Mateus, Felipe e Gabrieli, que me ensinaram o amor incondicional;*

*Minha mãe Therezinha Delphine Cuel, que me ensinou a importância da educação, do respeito e da humildade;*

*Meu pai Darci Aníbal Cuel, que foi embora cedo demais, mas, me ensinou a ter paciência e nunca desistir frente aos desafios;*

*Minha irmã Cecília Shirley Cuel Assis, que me ensinou sobre o futuro, sempre foi meu espelho;*

*Ao meu marido Hugo Eduardo Barone, que me ensinou o valor do amor, da compreensão e da cumplicidade.*

## *Agradecimento especial*

*Profa. Dra. Elyara Maria Pereira da Silva, que sempre participou da minha vida acadêmica e me ensinou muito mais que definições e conceitos. Obrigada, principalmente pela amizade.*

*“Competência, planejamento, determinação, espírito de amor e equipe, são as qualidades essenciais para ser dono do futuro. Mas também é preciso ter fé, sabedoria e acreditar.”*

*Roberto Schinyashiki*

## *Agradecimentos*

*À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, meus sinceros agradecimentos e reconhecimento da sua importância para o desenvolvimento científico do país.*

*À Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade pelo incentivo constante e pela orientação na preparação das dietas.*

*Ao Prof. Dr. João Alberto Negrão pela orientação e disponibilização dos equipamentos para as análises dos parâmetros fisiológicos.*

*À Profa. Dra. Mariza Pires de Melo conselheira e incentivadora constante.*

*Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, pela paciência e orientação durante as análises estatísticas.*

*À Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas, compartilhadora de conhecimentos.*

*À Profa. Dra. Cláudia Lima Verde Leal, pelo auxílio no Abstract.*

*À todos os demais professores do curso de pós-graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP, pelos ensinamentos compartilhados.*

*Aos membros da Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP, pela oportunidade.*

*Aos amigos Giovana Krempel F. Merighe e Ricardo F. Oliveira, pela amizade e todo auxílio imprescindível.*

*Ao Grupo Centroflora – Botucatu, pela gentileza na doação do extrato seco de maracujá (Passiflora incarnata).*

*Ao Rogério Ganéo pela gentileza na doação dos exemplares de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus).*

*À Sandra A. de Oliveira e Silvana Piccoli Pugine pela paciência e auxílio durante a realização das análises laboratoriais.*

*Ao José Apolinário Ferraz, pela presteza em todas os momentos.*

*À Camila Boschini pela ajuda na preparação das rações.*

*À Maria Conceição Roldão, Antonio Carlos Tadeu Alves Arruda e Sandra Regina de Lucca pela paciência e atenção dispensadas.*

*Ao Nilton Pedro dos Santos e Ana Mônica Quinta Barbosa Habitante pela ajuda na disponibilidade dos equipamentos necessários para armazenamento das amostras.*



*À Paula de Freitas Lopes Argenti, César Ramos da Costa, Rosângela Savi Meirelles e Nathalia Thays Frasse por toda atenção dispensada.*

*Ao Marcelo Roberto Dozena, Iara R. de Amorim, Bernadete Ap. Brunelli Mehler, Maria Osória A. Teixeira, Patricia Fernandes Vick Rosa, pelo auxílio sempre hábil e cortês.*

*Ao CEPIS-IBAMA e em especial aos pesquisadores Maria Angélica Rosa Ribeiro, Paulo S. Cicarelli e Osmar A. Cantelmo, pelos conhecimentos compartilhados.*

*À Fabiana Paron e Érica Cristina Marchiori pela distante, porém sincera amizade.*

*À todos que de alguma maneira contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho.*

## SUMÁRIO

	Página
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vi
<b>LISTA DOS QUADROS</b> .....	vii
<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1 Biologia da tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	3
2.2 Estresse e Bem-Estar em Peixes .....	4
<b>3 OBJETIVO</b> .....	14
3.1 Justificativa .....	14
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
4.1 Local de Realização do Experimento .....	15
4.2 Material Biológico e Aclimação.....	15
4.3 Procedimento Experimental.....	16
4.4 Análise Estatística .....	24
<b>5 RESULTADOS</b> .....	25
5.1 Qualidade da Água.....	25
5.2 Análise Comportamental .....	25
5.2.1 Atividade Locomotora .....	25
5.2.2 Confrontos Agonísticos .....	26
5.2.3 Índice de Agressividade .....	28
5.3 Coloração Corporal e dos Olhos .....	29
5.4 Análise dos Parâmetros Fisiológicos .....	31

5.4.1 Glicose .....	31
5.4.2 Cortisol .....	32
5.5 Ingestão de Alimento e Indicadores de Crescimento .....	33
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>45</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>
<b>9 ANEXOS.....</b>	<b>61</b>
Anexo A - Boletim de Análise do Produto – <i>Passiflora incarnata</i> .....	62
Anexo B - Boletim Microbiológico do Produto – <i>Passiflora incarnata</i> .....	64
Anexo C - Especificação do Produto – <i>Passiflora incarnata</i> .....	66

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Esquema ilustrativo dos efeitos primários, secundários e terciários de estressores ambientais em peixes teleósteos (Adaptado de URBINATI e CARNEIRO in CYRINO et al., 2004) ..	8
FIGURA 2 - Caixa utilizada para aclimação dos juvenis de tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> .....	15
FIGURA 3 - Unidades experimentais isoladas entre si com placas laterais de isopor .....	16
FIGURA 4 - Unidades experimentais, dotadas de filtros biológicos externos e aquecedores individuais .....	16
FIGURA 5 - Animais isolados nas unidades experimentais .....	17
FIGURA 6 - Secagem da ração em temperatura ambiente .....	19
FIGURA 7 - Valores médios do tempo gasto em atividade locomotora em juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá ( <i>Passiflora incarnata</i> ) .....	25
FIGURA 8 - Valores médios das freqüências de confrontos agonísticos laterais de juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá ( <i>Passiflora incarnata</i> ) .....	26

- FIGURA 9 - Valores médios das freqüências de confrontos agonísticos frontais de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 27
- FIGURA 10 - Freqüências médias do Índice de Agressividade (somatória das freqüências dos comportamentos agonísticos) de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 28
- FIGURA 11 - Comparação dos valores médios iniciais (1minuto) e finais (10 minutos) da porcentagem de escurecimento do corpo de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 29
- FIGURA 12 - Comparação dos valores médios iniciais (1minuto) e finais (10 minutos) da porcentagem de escurecimento dos olhos de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 30
- FIGURA 13 - Valores médios das concentrações plasmáticas de glicose em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 30 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 31

- FIGURA 14 - Valores médios das concentrações plasmáticas de cortisol em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 30 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*), durante 28 dias ..... 32
- FIGURA 15 - Valores médios das porcentagens de alimento ingerido por juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) ..... 33

**LISTA DE TABELAS**

	Página
TABELA 1 - Valores médios do comprimento padrão e peso de juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) no início do experimento.....	18
TABELA 2 - Valores médios iniciais e finais do peso de juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá ( <i>Passiflora incarnata</i> ) .....	34
TABELA 3 - Valores médios iniciais e finais do comprimento padrão de juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá ( <i>Passiflora incarnata</i> ) .....	34
TABELA 4 - Valores médios do ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) e fator de condição (K) de juvenis de tilápias do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá ( <i>Passiflora incarnata</i> ) ....	35

**LISTA DE QUADROS**

	Página
QUADRO 1 - Etograma elaborado para registro das freqüências dos padrões comportamentais em juvenis de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) submetidos a estresse social (reflexão da própria imagem em espelho) .....	20
QUADRO 2 - Ilustração dos procedimentos e equipamentos utilizados para anestesia, biometria, coleta das amostras de sangue e separação do plasma para determinação dos níveis de cortisol e glicose .....	22



## RESUMO

BARONE, A.A.C.; PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; TRINDADE, C.S.F.; OLIVEIRA, R.H.F.; NEGRÃO, J.A. **Efeito do maracujá (*Passiflora incarnata* L. 1753) sobre o bem-estar da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L. 1759)**. 2006. 72p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

Estudaram-se os efeitos da administração diária do extrato seco de maracujá, *Passiflora incarnata*, sobre o bem-estar, comportamento social e desempenho de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. Machos juvenis desta espécie ( $86,02 \pm 5,72\text{g}$ ) foram mantidos na condição de isolamento químico, térmico e visual em aquários de vidro (30L) durante sete dias para aclimatação, coletando-se a seguir, por punção da veia caudal, amostras de sangue para determinação dos níveis plasmáticos basais de glicose (método enzimático) e cortisol (método imunoenzimático). Após este período, todos os peixes receberam diariamente ração comercial (32% PB) contendo extrato seco de maracujá veiculado em alginato de sódio (5%) nas doses de 0, 50, 100 e 200 mg/kg, oferecida duas vezes ao dia (9:00h e 16:00h) na proporção de 2% da biomassa. Semanalmente os peixes foram submetidos à reflexão da própria imagem em espelho durante 30 minutos, registrando-se nos primeiros 10 minutos a coloração dos olhos e do corpo e seu comportamento agonístico (frequências de ameaças, confrontos frontais e laterais). Após 30 minutos foram capturados e anestesiados para realização da biometria (comprimento padrão e peso) para cálculo do ganho em peso, taxa de crescimento específico e fator de condição, coletando-se novamente amostras de sangue para determinação dos níveis plasmáticos de glicose (aos 7, 14, 21 e 28 dias) e de cortisol (aos 14 e 28 dias). Os dados comportamentais foram analisados por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p=0,05$ ) e teste de comparação múltipla de Dunn. Os demais parâmetros foram submetidos à ANOVA, utilizando-se para tais análises o procmixed do SAS ( $p=0,05$ ). Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros analisados para nenhum tratamento. Todos os peixes cresceram e, embora não tenham sido detectados efeitos dos diferentes tratamentos, os níveis de cortisol reduziram e os níveis de glicose aumentaram significativamente em relação aos níveis basais. Concluiu-se que os peixes foram mantidos em condições adequadas que preservaram seu bem-estar, que o agente estressor e o modo como este foi imposto não foi adequado para promover o estresse social, que o extrato de maracujá não contribuiu para o aumento do bem-estar da tilápia do Nilo e que, na forma como foi administrado, não afetou a palatabilidade da ração e nem o desempenho dos peixes. Sugere-se, porém, que o extrato de maracujá interfira na expressão dos comportamentos agonísticos da tilápia

**Palavras-Chave:** *Oreochromis niloticus*, bem-estar, estresse, palatabilidade, *Passiflora incarnata*

## ABSTRACT

BARONE, A.A.C.; PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; TRINDADE, C.S.F.; OLIVEIRA, R.H.F.; NEGRÃO, J.A. **Effect of passion fruit (*Passiflora incarnata* L. 1753) on the welfare of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1759)**. 2006. 72p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

The effects of daily administration of passion fruit (*Passiflora incarnata*) dry extract, on welfare, social behavior and performance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* were studied. Juvenile males of this species ( $86.02 \pm 5.72\text{g}$ ) were maintained under chemical, thermal and visual isolation in glass aquariums (30L) during seven days for acclimatization. Blood samples were collected by puncture of the caudal vein, and used for determination of basal plasma levels of glucose (enzymatic method) and cortisol (immunoenzymatic method). After this period, the fish received commercial ration (32% PB) containing dry extract of passion fruit in sodium alginate (5%) as carrier in doses of 0, 50, 100 and 200 mg/kg, offered twice a day (9:00h and 16:00h) in the proportion of 2% of the biomass. Weekly, the fish were submitted to the reflection of their own image in a mirror for 30 minutes, registering during the first 10 minutes the coloration of the eyes and of the body and agonistic behavior (frequencies of threats, front and lateral confrontations). After 30 minutes they were captured and anesthetized for biometric measures (standard length and weight) for calculation of weight gain, specific growth rate and condition factor, with blood samples collected again for determination of plasma levels of glucose (at 7, 14, 21 and 28 days) and cortisol (at 14 and 28 days). The data of behavior were analyzed by the Kruskal-Wallis non parametric ( $p=0.05$ ) test and Dunn's multiple comparison test. The other parameters were submitted to ANOVA, using procmixed of the SAS ( $p=0.05$ ). No significant differences were observed for the parameters analyzed for any treatment. All the fish grew and, although effects of the different treatments were not detected, cortisol levels reduced and glucose levels increased significantly in relation to basal levels. It is concluded that the fish were maintained under appropriate conditions that preserved their welfare, that the stressor agent and the way it was imposed did not promote social stress, that the passion fruit extract did not contribute to the increase in welfare of the Nile tilapia and that the form of administration did not affect the palatability of the ration nor fish growth. It is suggested, however, that the passion fruit extract interferes in the expression of agonistic behaviors in Nile tilapia.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, welfare, stress, palatability, *Passiflora incarnata*

# 1 INTRODUÇÃO

O estresse é definido como um estado do organismo que, após a atuação de agentes de qualquer natureza, responde com uma série de reações não específicas de adaptação (SELYE, 1936). Esta adaptação envolve um conjunto de respostas neuroendócrinas, fisiológicas e comportamentais que atuam visando manter a homeostase (VON BORREL, 1995). Segundo Winberg e Nilsson (1993) os neurotransmissores envolvidos nos mecanismos de ajustes fisiológicos e comportamentais decorrentes do estresse são similares entre mamíferos e peixes e foram conservados durante os últimos 400 milhões de anos na evolução dos vertebrados

Os efeitos do estresse têm sido verificados em vários grupos de animais, inclusive em peixes, sendo as respostas aos agentes estressores essencialmente adaptativas (PICKERING, 1981). Nos sistemas atuais de criação intensiva, impõem-se a estes animais condições adversas às encontradas no ambiente natural, manejos freqüentes e altas densidades de estocagem, fatores que prejudicam o bem-estar e afetam negativamente o desenvolvimento e a produção. Outros potentes agentes estressores para os peixes são as relações sociais intra e interespecíficas que, apesar de ocorrerem no ambiente natural, são intensificadas em sistemas de criação (PICKERING; CHRISTIE, 1981).

O comportamento agonístico, manifestado nas relações sociais, é característico entre peixes territorialistas como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e Volpato et al. (1987) relataram que animais hierarquicamente submissos desta espécie apresentam aumento na atividade metabólica, comparativamente aos dominantes, ou seja, reservas energéticas que poderiam ser utilizadas para promover o crescimento são desviadas para atender às demandas metabólicas impostas nas confrontações.

Embora a esquiva seja uma das possíveis respostas do animal ao agente estressor, esta é dificultada nas criações intensivas onde as pressões são crônicas e os ajustes não são efetivos, conduzindo à redução do bem-estar e queda da produção. Assim, a seleção de linhagens menos susceptíveis ao estresse tem sido empregada como uma das técnicas que visam o aumento da produção (PICKERING, 1981).

De acordo com Huntingford (1984), uma das potenciais aplicações das pesquisas etológicas é a identificação e quantificação dos sinais de sofrimento dos animais criados e explorados pelo homem, compreendendo seus mecanismos causais e métodos para, se não eliminar, reduzir seus efeitos. Assim, dentre várias técnicas utilizadas na tentativa de reduzir o estresse e promover o bem-estar, destaca-se o emprego de anestésicos, drogas hipnóticas e de sais que são adicionados à água com o intuito de aumentar a taxa de sobrevivência dos peixes. (CARMICHAEL, 1984).

O aprimoramento de técnicas de manejo que reduzam o estresse e minimizem seus efeitos sobre os peixes é de extrema importância, seja na produção intensiva ou nas condições de laboratório, nas quais não somente a magnitude do estresse como também o tempo de recuperação apropriado (aclimatação) antes do início de qualquer pesquisa deve ser considerado (PICKERING, 1981).

Embora produtos de origem vegetal, como o maracujá (*Passiflora incarnata*), sejam empregados com êxito na promoção do bem-estar em mamíferos como roedores (DHAWAN et al., 2001c) suínos (PEETERS et al., 2004) e mesmo o homem (BERGNER, 1995), mas nenhum trabalho faz referência ao emprego desse vegetal na promoção do bem-estar em peixes.

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*) sobre o bem-estar, comportamento social e o desempenho de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), contribuindo para o conhecimento da biologia de uma espécie de interesse econômico e oferecendo subsídios para o aprimoramento de técnicas de manejo que reduzam os efeitos negativos do estresse e minimizem seus impactos sobre a produção de peixes.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Biologia da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Dentre as espécies empregadas na piscicultura destacam-se as tilápias, originárias da Bacia do Rio Nilo na África, onívoras, pertencentes à família Cichlidae, e as mais criadas no mundo, de acordo com Castagnolli e Cyrino (1986) e Kubitzka (2000). Além disso, apresentam rápido crescimento, custo de produção reduzido e rentabilidade elevada (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994).

Embora sejam conhecidas mais de 70 espécies de tilápias, a maioria originária da África, somente quatro conquistaram destaque na aquicultura mundial: a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), tilápia azul (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*) (KUBITZA, 2000).

O principal fator ambiental de influência fisiológica para as tilápias é a temperatura; mesmo sendo originárias de ambiente tropical, ajustam-se ao clima subtropical, não sendo porém recomendadas para sua criação temperaturas inferiores a 15°C ou superiores a 35°C. A faixa de conforto situa-se entre 27°C e 32°C, mas podem sobreviver em águas com temperaturas inferiores, entre 10°C e 12°C (BOWEN, 1982; POPMA; LOVSHIN, 1994; KUBITZA, 2000).

Segundo Kubitzka (2000), a tilápia do Nilo é uma espécie muito resistente a baixos índices de oxigênio dissolvido na água (concentrações inferiores a 0,5 mg/L), além de tolerar altos níveis de amônia e uma ampla faixa de pH (entre 5 e 11).

De acordo Lourenço et al. (1998), a espécie reduz a ingestão alimentar e conseqüentemente sua taxa de crescimento, quando o período de luminosidade é menor.

Embora planctófagas podem ingerir alimentos naturais variados, incluindo invertebrados aquáticos, larvas de peixes, detritos e matéria orgânica em decomposição, característica que possibilitou sua criação em cativeiro com emprego de rações artificiais e promoveu seu destaque como uma das espécies mais indicadas para a piscicultura tropical (NASCIMENTO, 1976; GALLI; TORLONI, 1982; MACHADO, 1982; YANCEY; MENEZES, 1982; SOUZA; TEIXEIRA FILHO, 1985; CASTAGNOLLI; CYRINO, 1986; POPMA; LOVSHIN, 1994; LOVSHIN; CYRINO, 1998).

Tilápias jovens permanecem em grupos durante as primeiras semanas de vida e, então, passam a manter territórios que defendem quando da invasão por um coespecífico<sup>1</sup> (HUNTINGFORD, 1986). Esta característica social a classifica como territorialista, ou seja, apresenta hierarquia de dominância e submissão estabelecida por meio de interações agonísticas entre os indivíduos maiores (geralmente dominantes) e os menores (submissos), fato que provoca um estresse social em todos os animais embora, com efeito, mais acentuado nos submissos (FERNANDES, 1997).

## 2.2 Estresse e Bem-Estar em Peixes

O estresse é definido como estado ou condição onde a homeostase de um organismo é alterada em decorrência de estímulos externos denominados “agentes estressores”. Os animais exibem um estresse adaptativo, ou seja, respondem constantemente às mudanças das condições ambientais externas de modo a ajustarem-se fisiologicamente e manter sua homeostase (HOAR, 1983). Porém, nos sistemas de criação intensiva, inclusive na piscicultura, impõem-se aos organismos condições adversas àquelas encontradas no ambiente natural tais como manejos freqüentes e altas densidades de estocagem, fatores que aumentam o estresse e podem afetar negativamente o desenvolvimento e a produção.

Nos peixes, interações sociais ocorrem tanto no ambiente natural quanto em cativeiro. No ambiente natural essas interações expressam características evolutivas de valor adaptativo relacionado à competição por alimento, proteção contra predadores e reprodução, mas, nas condições de cativeiro, onde os espaços são restritos, as oportunidades para fuga ou proteção são limitadas e os indivíduos são expostos constantemente ao estresse social (NOAKES; LEATHERLAND, 1977).

O comportamento agressivo e outras formas de competição interespecífica como dominância social e territorialidade não têm valor adaptativo para peixes criados em cativeiro e podem provocar a redução do crescimento e deficiência do sistema imune, problemas observados com maior intensidade em espécies territorialistas como o salmão (*Oncorhynchus kisutch*) e a truta (*Oncorhynchus sp.*), entre outros (REDDY; LEATHERLAND, 1998).

---

<sup>1</sup> Indivíduo da mesma espécie

O estresse social decorre de estímulos denominados sociais ou de agrupamento (BOHUS et al., 1987, 1991; ZAYAN, 1991). Os mecanismos causais desse fenômeno são especialmente complexos, visto que incluem tanto a agressão física quanto a “psicológica” (ameaça) desencadeadas pela presença do animal agressor (FERNANDES; VOLPATO, 1993).

O confinamento de pequenos grupos de peixes de uma mesma espécie resulta no estabelecimento de marcante hierarquia social que promove, de forma mais acentuada nos indivíduos submissos, redução da taxa de crescimento, escurecimento do corpo, aumento da atividade interrenal, perda de linfócitos dos tecidos hematopoiéticos, elevação dos níveis de cortisol plasmático e maior índice de mortalidade (YAMAGISHI, 1962; LI; BROCKSEN, 1977; NOAKES; LEATHERLAND, 1977; PETERS; SCHWARZER, 1985; LAIDLEY; LEATHERLAND, 1988).

A mudança na coloração do corpo de peixes é um indicador da posição hierárquica do indivíduo no grupo, sendo o escurecimento associado à posição de submissão e a palidez à de dominância, no ciclídeo *Astronotus ocellatus* (BEECHING, 1995). A vantagem adaptativa da mudança de coloração do corpo durante as interações sociais estaria relacionada à redução de confrontos corporais até estabelecimento da posição hierárquica do indivíduo (O’CONNOR et al., 1999).

A coloração dos olhos é outro sinalizador destacado na literatura (O’CONNOR et al., 1999; FALTER, 1987; O’CONNOR et al., 2000; SUTER; HUNTINGFORD, 2002). De fato, Volpato et al. (2003) observaram entre tilápias do Nilo submissas coloração escura dos olhos comparativamente às dominantes que apresentaram coloração pálida, após 10 minutos de pareamento.

As interações agonísticas<sup>2</sup> que envolvem o contato físico são as mais significativas e os submissos (animais menores) são os mais prejudicados (PETERS et al., 1980). Assim a intensidade e a frequência das agressões sofridas pelos submissos, associadas à sua história prévia, determinam a intensidade do estresse (FERNANDES; VOLPATO, 1993).

Domingues (1990) demonstrou que na tilápia do Nilo, espécie territorial e que apresenta hierarquia de dominância, o perfil de interação agonística determina a magnitude do gasto energético da interação. De fato, o estresse social de submissão

---

<sup>2</sup> Interações agressivas que podem variar deste a visão de um coespecífico e sinalizações, até ataques de um indivíduo ao outro (mordidas e lutas) (VOLPATO et al., 1987)

promove deslocamento da energia disponível para processos relativos ao alerta imposto pela freqüente iminência de ser atacado, comprometendo o crescimento desses animais (BROWN, 1946).

O desafio na aquicultura é identificar problemas em potencial e promover condições onde as relações sociais não sejam o fator que prejudique a aquisição de alimento, espaço e de outros recursos. Assim, uma das medidas utilizadas com sucesso é a despesca dos peixes maiores, geralmente dominantes, de modo a favorecer o crescimento dos menores, submissos (REDDY; LEATHERLAND, 1998). Porém tal procedimento, ao exacerbar o crescimento de alguns indivíduos remanescentes, pode intensificar a heterogeneidade de crescimento do grupo (WOHLFARTH, 1977).

Outro método que pode minimizar o comportamento agressivo dos peixes em cativeiro é a redução e adequação da densidade de estocagem que difere para cada espécie. Por exemplo, em culturas de salmonídeos, densidades excessivas ou muito reduzidas devem ser evitadas, enquanto que aquelas intermediárias tendem a reduzir o comportamento agonístico, promovendo melhor desempenho e sanidade (BROWN et al., 1992).

O comportamento agonístico é característico entre peixes territorialistas como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Volpato et al. (1987) relataram que animais hierarquicamente submissos desta espécie apresentam modificações fisiológicas condizentes com um aumento na atividade metabólica, comparativamente aos dominantes, ou seja, reservas energéticas que poderiam ser utilizadas para promover o crescimento são desviadas para atender às demandas metabólicas impostas nas confrontações. Além disso, antes mesmo que os confrontos sejam detectados já ocorre a manifestação fisiológica associada ao aumento da atividade metabólica dos submissos, fato sugestivo de que a visão de indivíduos da mesma espécie seria suficiente para promover alterações. De fato, dados obtidos por Wirtz e Davenport (1976) no peixe *Blennius pholis* sugerem que a própria presença de um coespecífico é caracterizada como um agente estressor.

Holtby et al. (1993) estudaram o comportamento agonístico provocado pela presença de espelho em juvenis de salmão (*Oncorhynchus kisutch*), verificando reações similares à presença real do coespecífico. Freitas (1988) observou que o padrão de coloração e a disposição da nadadeira dorsal de tilápias do Nilo submetidas à própria imagem refletida são alterados e que os peixes assumem,



claramente, uma postura de dominância semelhante àquela apresentada nos momentos de confrontações reais. O autor atribuiu a atração dos animais pelo espelho à possibilidade de interação agonística e não simplesmente pela visão de profundidade que ele promovia, ou seja, o reconhecimento individual não teria ocorrido.

Embora os peixes tenham a capacidade natural de responder fisiologicamente, adaptando-se às alterações provocadas pelo estresse moderado, um estresse crônico conduz à perda da capacidade de adaptação, imunossupressão e inclusive morte (BARTON; IWANA, 1991). Bonga (1997) definiu o estresse cumulativo como aquele decorrente da impossibilidade de adaptação ao estresse crônico dos peixes, fato que pode causar danos à toda população, prejudicando a produtividade.

O estudo da caracterização do estresse tem despertado interesse na medida em que são desenvolvidas as criações intensivas, nas quais os animais são submetidos a condições potencialmente estressoras como manejos, variações de temperatura e da qualidade da água e imposição de altas densidades populacionais, entre outros. Assim como observado nos demais grupos animais, o estresse em peixes aumenta a susceptibilidade às doenças, reduz o crescimento, compromete a fertilidade e provoca a morte (PICKERING, 1992)

O principal mecanismo de controle das respostas integradas ao estresse em peixes é o sistema neuroendócrino, assim como em mamíferos e outros animais terrestres (DONALDSON, 1981; MAZEAUD; MAZEAUD, 1981). De acordo com Winberg e Nilsson (1993) o comportamento agonístico e o estresse nos peixes, tal como nos mamíferos, estão relacionados à atividade de neurotransmissores como a dopamina, norepinefrina, epinefrina e serotonina, substâncias envolvidas na regulação do comportamento agonístico por meio de mecanismos filogeneticamente muito antigos, conservados durante a evolução. Nos animais submissos ocorre aumento da atividade serotoninérgica, acompanhada por comportamentos característicos como inibição da agressividade e redução da atividade locomotora espontânea e da alimentação, enquanto que nos dominantes tal efeito decorre de atividade dopaminérgica, havendo então estímulo do comportamento agressivo (WINBERG; NILSSON, 1993).

As respostas dos peixes aos agentes estressores podem ser classificadas em agudas (respostas primárias), crônicas (secundárias) e crônicas prolongadas

(terciárias). As agudas envolvem ativação do sistema neuro-endócrino resultando na liberação de catecolaminas e hormônios corticosteróides; as crônicas incluem respostas fisiológicas a esses hormônios como aumento do débito cardíaco, do consumo de oxigênio e mobilização de reservas energéticas; as crônicas prolongadas, relacionam-se à inibição do crescimento, da reprodução e das respostas imunes (PICKERING,1981; WEDEMEYER et al., 1990.)

O cortisol é um hormônio corticosteróide que aumenta após a exposição aguda ou crônica do peixe a um agente estressor (FIGURA 1), podendo desencadear atividade neoglicogênica e estímulo da mobilização de aminoácidos e de lipídios que serão utilizados como substratos energéticos, fato que afeta indiretamente o crescimento (LEACH; TAYLOR, 1982; DAVIS et al., 1985; SHERIDAN, 1986; VIJAYA; LEATHERLAND, 1989; VIJAYAN et al., 1994 a,b; REDDY et al., 1995).

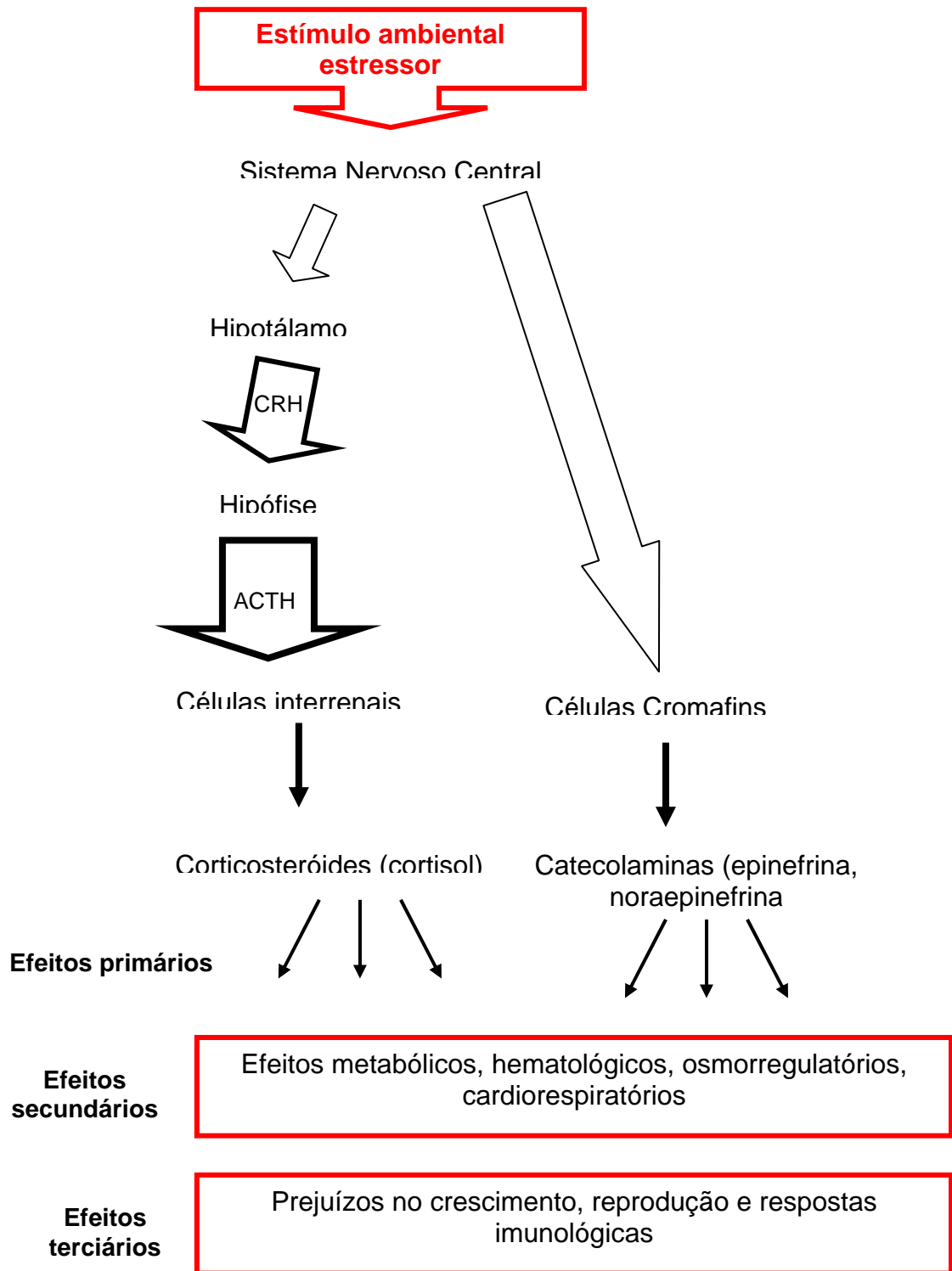


FIGURA 1 – Esquema ilustrativo dos efeitos primários, secundários e terciários de estressores ambientais em peixes teleosteos (Adaptado de URBINATI; CARNEIRO in CYRINO et al., 2004).

De acordo com Barton e Iwana (1991) as principais ações do cortisol sobre o metabolismo são a estimulação das enzimas chaves transaminases envolvidas na neoglicogênese hepática, o bloqueio da assimilação da glicose pela musculatura lisa e tecido adiposo, a diminuição da síntese protéica e o aumento da proteólise. Aires (1991) afirma que o excesso de cortisol diminui a absorção intestinal de cálcio, reduzindo a formação de colágeno e da matriz óssea e promovendo diminuição da massa muscular.

O estresse provoca aumento nas concentrações plasmáticas de cortisol e esta alteração está diretamente relacionada à redução da taxa de crescimento dos peixes (PICKERING, 1993). Barton e Iwana (1991) observaram que a administração de cortisol provocou redução na taxa de crescimento de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Nos peixes, o cortisol e as catecolaminas são produzidos, respectivamente, por células cromafins e interrenais que se localizam no tecido interrenal ou rim cefálico posicionado anteriormente ao rim e desempenham funções análogas às glândulas adrenais dos mamíferos (SMITH, 1982). O baço e alguns neurônios também são responsáveis pela liberação de pequena quantidade de catecolaminas (CHROUSOS; GOLD, 1992).

Nos vertebrados, as catecolaminas, mediadas por receptores adrenérgicos, são produzidas e liberadas em situações de emergência, distúrbios emocionais, atividades físicas e confrontos, promovendo a glicogenólise e neoglicogênese hepática, reações que promovem o aumento da concentração de glicose sanguínea (BERNE; LEVY, 1988). Assim, a determinação dos níveis de glicose sanguínea pode e é empregada para avaliação do estresse nos peixes (IWANA, 1997; WEDEMEYER et al., 1990).

Kubokawa et al. (1999) e Peters et al. (1980) registraram aumentos dos níveis plasmáticos de glicose em peixes submetidos a estresse agudo e crônico, respectivamente. Deve-se destacar que as concentrações de glicose sanguíneas podem ser afetadas pelos métodos empregados para análise, pela espécie de peixe estudada, pelas condições de criação e ainda pelo tipo e duração do estresse (EVANS, et al., 2003).

Além da glicose, os níveis das catecolaminas e de hormônios corticosteróides, a exemplo do cortisol, são utilizadas para monitoramento de respostas aos agentes estressores. Porém, os níveis de cortisol são os mais

freqüentemente empregados devido à possibilidade de utilização de kits comerciais práticos, seguros e de baixo custo, ao contrário do que se verifica para as catecolaminas (REDDY e LEATHERLAND, 1998).

Broom (1991) relata que a determinação dos níveis plasmáticos de cortisol é uma importante ferramenta para avaliação dos efeitos de um estresse agudo sobre os peixes e que glicocorticóides são os hormônios mais importantes envolvidos nos ajustes metabólicos em situações de desequilíbrio homeostático, agindo sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos. Porém, Stott (1981) sugere que tal avaliação seja feita durante ou imediatamente após a exposição ao agente estressor.

Sob agrupamento, peixes territorialistas apresentam aumento dos níveis plasmáticos de cortisol, do consumo de oxigênio bem como um aumento nas concentrações dos substratos metabólicos provenientes da degradação dos carboidratos, proteínas e lipídeos (BARTON; IWANA, 1991; FERNANDES; VOLPATO, 1993; ALVARENGA; VOLPATO, 1995; FERNANDES, 1997).

Vijayan et al. (1997) observaram que tilápias da espécie *Oreochromis mossambicus* estressadas durante duas ou 24 horas apresentaram maior concentração de cortisol e glicose no plasma, comparativamente a peixes não estressados. De acordo com estes autores, a produção imediata de glicose após o estresse pode advir da glicogenólise, enquanto que a sua manutenção por períodos de tempo mais longos decorre da gliconeogênese de substratos, incluindo o lactato e aminoácidos.

Tendo em vista os efeitos negativos do estresse sobre os peixes, fica evidente a importância de se promover seu bem-estar e várias técnicas são de fato utilizadas, como o emprego de anestésicos, drogas hipnóticas e sais que são adicionados à água com o intuito de minimizar o estresse e aumentar a taxa de sobrevivência. A função primária das drogas anestésicas ou hipnóticas é reduzir o metabolismo e assim diminuir o consumo de oxigênio e o acúmulo de resíduos tóxicos, enquanto que o sal exerceria função protetora contra desequilíbrio osmótico decorrente da exposição crônica a um determinado agente estressor (CARMICHAEL, 1984).

O emprego de produtos naturais como promotores de bem-estar também tem sido destacado na literatura, porém para outras espécies que não os peixes. Por exemplo, Peeters et al. (2004) testaram, em suínos, os efeitos da combinação de

extratos vegetais de *Valeriana officinalis* e *Passiflora incarnata* sobre o estresse de transporte, observando redução das variações de batimentos cardíacos que sugere atividade calmante e ansiolítica destes produtos.

Entre os produtos denominados naturais destaca-se o maracujá, planta do gênero *Passiflora* que compreende cerca de 500 espécies da família Passifloraceae (RENDLE, 1959; HICKEY; KING, 1988). As espécies deste gênero estão distribuídas nas regiões tropicais do Ocidente, sendo raras na Ásia, Austrália e África tropical (DHAWAN et al., 2004).

O maracujá é utilizado na América do Norte como chá sedativo e no combate à insônia e ansiedade em humanos (BERGNER, 1995). No Brasil onde é conhecido pelas atividades analgésicas, antiespasmódicas, antiasmáticas, anti-helmínticas e sedativas, seus efeitos calmantes foram confirmados pelo Ministério da Saúde (TAYLOR, 1996; NEGRAES, et al., 2003).

Os principais responsáveis pelos efeitos ansiolíticos/sedativos atribuídos ao maracujá são os flavonóides, alcalóides harmânicos e derivados pirônicos, cujas funções principais ainda não foram satisfatoriamente identificadas (SPERONI et al., 1996a; SOULIMANI et al., 1997; DHAWAN et al., 2001a). Os flavonóides parecem ser os principais componentes responsáveis pelos efeitos descritos (SPERONI et al., 1996b; DHAWAN et al., 2001a).

Por meio da qualidade e da quantidade de flavonóides presentes numa amostra é possível a identificação da espécie de *Passiflora*, sendo a vitexina e isovitexina componentes típicos e derivados do *Passiflora incarnata* (GRICE et al., 2001). A vitexina é um potente inibidor da tireóide peroxidase e da reação rápida das fibras musculares (HARBOURNE; BAXTER, 1993; OCCHIUTO et al., 1988). Outros flavonóides, denominados crisina e  $\gamma$ -pirona, também estão presentes no *P. incarnata* e apresentam funções depressivas sobre o sistema nervoso central (AOYAGI et al., 1974; ZANOLI et al., 2000).

Os alcalóides harmânicos são também apontados como os principais constituintes do *P. incarnata*, agindo como alucinógenos, inibidores da monoamina oxidase, estimulantes e anti-helmínticos (CERLETTI et al., 1963; LESSIN et al., 1967; RODRIGUEZ et al., 1982; REHWALD et al., 1995).

A espécie *P. incarnata* é muito utilizada em humanos para o tratamento de insônia, ansiedade e várias outras desordens do sistema nervoso central desde a antiguidade (DHAWAN et al., 2003a). Em muitos trabalhos, a atividade sedativa e

ansiolítica desta espécie é atribuída a receptores benzodiazepínicos e GABA (VIOLA et al., 1998; SIMMEN et al., 1999).

Apesar do grande número de pesquisas relacionadas às propriedades da espécie *P. incarnata* observa-se que a maioria enfoca seus efeitos sobre mamíferos como ratos e camundongos, não sendo encontradas referências aos peixes. Por exemplo, Speroni e Minghetti (1998) observaram efeitos neurofarmacológicos em ratos tratados com extrato fluído desta espécie. Em camundongos, Soulimani et al. (1997) demonstraram que o extrato aquoso administrado nas doses de 400 e 800 mg/Kg reduziu a atividade locomotora e induziu o sono enquanto que Dhawan et al. (2001b) registraram atividade ansiolítica significativa na dose de 125mg/kg.

Dhawan et al. (2003a) descreveram ações sedativas, anticonvulsivantes, analgésicas e antiinflamatórias do extrato das folhas em metanol administrado a camundongos, e Dhawan et al. (2004) afirmaram que a maior concentração dos constituintes bioquímicos ativos do maracujá encontra-se presente nas folhas. De fato Kumar (2001) já havia relatado a importância da separação das partes da planta (raiz, caule, folha e flores), antes da aplicação de extratos em qualquer estudo.

Além da atividade ansiolítica observada em camundongos (100mg/Kg) o extrato das folhas em metanol apresenta também atividade anti-tussígena, antiasmática e propriedades afrodisíacas nesta espécie (DHAWAN et al., 2001c; DHAWAN; SHARMA, 2002; DHAWAN et al., 2003b; DHAWAN et al., 2002).

### 3 OBJETIVO

Tendo em vista as similaridades existentes entre peixes e mamíferos em relação aos neurotransmissores envolvidos na regulação do comportamento agonístico e do estresse e que esses mecanismos são filogeneticamente muito antigos, conservados durante os últimos 400 milhões de anos na evolução dos vertebrados (WINBERG; NILSSON, 1993), o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata* L.) sobre o bem-estar, comportamento social e o desempenho de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

#### 3.1 Justificativa

O aprimoramento de técnicas de manejo que reduzam o estresse e minimizem seus efeitos sobre os peixes é de extrema importância, seja na produção intensiva ou nas condições de laboratório, nas quais não somente a magnitude do estresse como também o tempo de recuperação apropriado (aclimatação) antes do início de qualquer pesquisa deve ser considerado (PICKERING, 1981).

Produtos de origem vegetal, como o maracujá (*Passiflora incarnata*), são empregados com êxito, na promoção do bem-estar em mamíferos. Porém, embora os neurotransmissores envolvidos nos mecanismos de ajustes fisiológicos e comportamentais decorrentes do estresse sejam similares entre mamíferos e peixes (WINBERG; NILSSON, 1993), nenhum trabalho faz referência ao emprego desse vegetal na promoção do bem-estar em peixes. Assim, este projeto contribui para o conhecimento da biologia de uma espécie de interesse econômico e oferece subsídios para o aprimoramento de técnicas de manejo que reduzam os efeitos negativos do estresse e minimizem seus impactos sobre a produção de peixes.



## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local de realização do experimento**

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Comportamento de Peixes - LACOPE (avaliação do desempenho e de padrões comportamentais) e Laboratório de Fisiologia Animal (determinação de parâmetros bioquímicos sanguíneos) do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

### **4.2 Material Biológico e Aclimação**

Foram utilizados machos juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, obtidos e sexados (observação de caracteres sexuais secundários) na “Piscicultura Santa Cândida”, propriedade localizada no município de Santa Cruz da Conceição – SP. Os peixes foram aclimatados durante 30 dias às condições laboratoriais, em caixas de PVC com capacidade para 500L, dotadas de filtros biológicos acionados por bombas submersas 500L/hora, com temperatura e fotoperíodo controlados em 27°C e 12 horas de luz, respectivamente (FIGURA 2). A água utilizada, proveniente da rede interna de tratamento/abastecimento do Campus, foi filtrada para remoção de resíduos e cloro. A alimentação foi fornecida “*ad libitum*” utilizando-se ração comercial extrusada contendo 32% PB (Socil - Evalis Nutrição Animal Ind. Com. Ltda – Laguna Tilápia Crescimento), duas vezes ao dia (9:00h e 17:00h).



FIGURA 2 – Caixa utilizada para aclimação dos juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*.

#### a. Procedimento Experimental

Após o período de aclimação, os peixes foram anestesiados em 2-fenoxietanol (0,5 mL/L de água) durante dois minutos e triados para seleção de vinte e quatro animais com peso e comprimento médio de  $86,02 \text{ g} \pm 5,72 \text{ g}$  e  $13,28 \text{ cm} \pm 0,55 \text{ cm}$ , respectivamente, que foram transferidos individualmente para aquários de vidro com capacidade para 30L (Unidades Experimentais).

As unidades experimentais, individualmente dotadas de filtros biológicos externos e aquecedores de 30 Watts controlados por uma unidade central, foram revestidas com placas de isopor que proporcionaram o isolamento visual entre os peixes e a manutenção da temperatura (FIGURAS 3 e 4).



FIGURA 3 – Unidades experimentais, isoladas entre si com placas laterais de isopor.

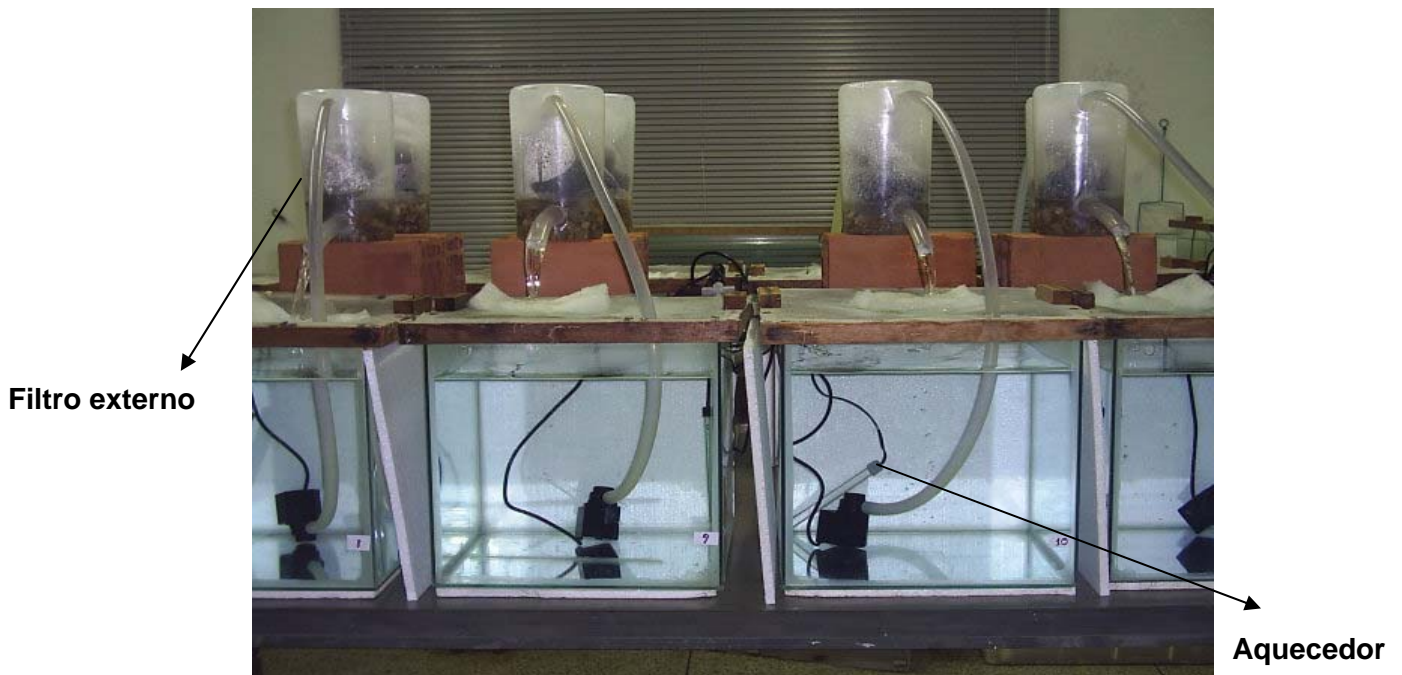


FIGURA 4 – Unidades experimentais dotadas de filtros biológicos externos e aquecedores individuais.

Os peixes permaneceram na condição de isolamento (FIGURA 5), sem receber os tratamentos, até apresentarem características morfológicas indicativas de bem-estar como coloração pálida do corpo e dos olhos (VOLPATO et al., 2003).

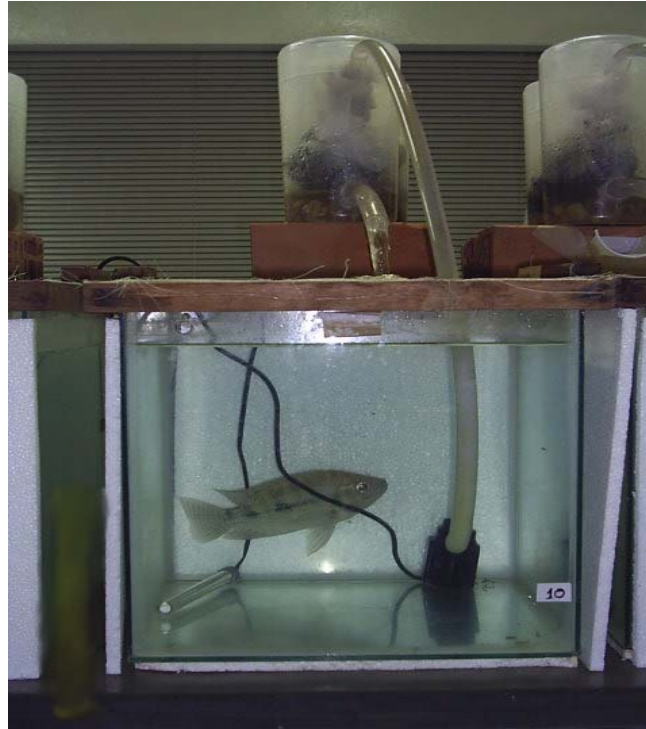


FIGURA 5 – Animais isolados nas unidades experimentais.

No momento em que tais características foram observadas, todos os peixes foram anestesiados com 2-phenoxyethanol (05 mL/L) durante dois minutos, para realização da biometria e coleta de amostras de sangue para determinação dos níveis basais de glicose e cortisol.

Foi fornecido durante 28 dias (9:00h e 16:00h) para quatro grupos de seis peixes cada, distribuídos aleatoriamente nas unidades experimentais (TABELA 1), o extrato comercial seco de folhas de maracujá (*Passiflora incarnata* Linné) contendo 3,5% de flavonóides totais (Lote 02080411129 - Grupo Centroflora – Botucatu/SP, anexo A) na proporção de 2% da biomassa.

#### **Tratamentos estabelecidos:**

**Tratamento 1 – Controle (n = 6 peixes):** ração comercial extrusada (30% PB) aspergida com solução de alginato 5% diluído em água.

**Tratamentos 2, 3 e 4 (n = 6 peixes por tratamento):** ração comercial extrusada (30% PB) aspergida com solução de extrato seco de maracujá em alginato 5% nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg de peso vivo.

TABELA 1 – Valores médios do comprimento padrão e peso de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no início do experimento.

Tratamentos	Peso médio inicial (g)	Comprimento padrão médio inicial (cm)
1	85,69 <sup>a</sup>	13,10 <sup>a</sup>
2	84,95 <sup>a</sup>	13,42 <sup>a</sup>
3	87,50 <sup>a</sup>	13,41 <sup>a</sup>
4	85,93 <sup>a</sup>	13,20 <sup>a</sup>

\* Médias com letras sobreescritas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

O procedimento adotado para a preparação de cada 100 gramas das dietas experimentais é apresentado abaixo:

- Adicionou-se 0,5 g de alginato de sódio (Synth – Lote A1089.01 AS) a 50 mL de água destilada, agitando-se a solução (agitador magnético, velocidade 4) por aproximadamente 45 minutos e completando-se o volume com água destilada, até obtenção de 100 mL da solução.
- Pipetaram-se 20 mL dessa solução, adicionando-se as quantidades estabelecidas de extrato em pó de maracujá (*Passiflora incarnata*) para obtenção de cada tratamento (250, 500 e 1000 mg).
- As soluções (tratamentos) foram aspergidas sobre a ração.

Tomando-se como exemplo um peixe de 1000 gramas, recebendo alimento na proporção de 2% da biomassa, ou seja, vinte gramas de ração ao dia, seriam necessários 250, 500 e 1000 mg de extrato para a obtenção das doses de 50, 100 e 200 mg/Kg diárias.

Após o processamento, a ração contendo os tratamentos foi submetida à secagem em temperatura ambiente (FIGURA 6), estocada em frascos plásticos vedados e mantida sob refrigeração a 18°C. A quantidade de ração fornecida (2% da biomassa) foi reajustada semanalmente com base no ganho em peso dos peixes.



FIGURA 6 - Secagem da ração em temperatura ambiente

Para o cálculo de consumo, o número de grânulos não ingeridos foi anotado diariamente, uma hora após o oferecimento da ração.

Semanalmente cada peixe foi submetido durante 30 minutos à reflexão de sua própria imagem num espelho posicionado na parede lateral esquerda do aquário, registrando-se em vídeo seu comportamento nos primeiros dez minutos para elaboração de um etograma (QUADRO 1). Este etograma possibilitou o registro do tempo gasto em atividade locomotora e das freqüências de comportamentos agonísticos do tipo ameaça, confrontos frontais e laterais, cuja somatória foi transformada em “índice de agressividade”. Concomitantemente, registrou-se a coloração corporal e dos olhos dos animais utilizando-se a porcentagem de áreas escuras como ferramenta para avaliação do bem estar de cada peixe.

A reflexão da imagem teve como objetivo simular a presença de um intruso coespecífico para obtenção e quantificação das freqüências de comportamentos agonísticos.

Data: \_\_\_\_\_ Aquário: \_\_\_\_\_ Fita : \_\_\_\_\_

Padrão	Frequência	
Coloração corporal (% de faixas escuras presentes na região lateral)	Início	Final
Coloração dos olhos (% de segmentos escuros na íris virtualmente dividida - oito segmentos)	Início	Final
Tempo gasto em Atividade Locomotora (segundos)		
Comportamentos agonísticos	Ameaças (estremecimentos, eriçamentos da nadadeira dorsal e investidas contra o espelho, sem contato)	
	Confrontos Frontais (toques da boca contra o espelho)	
	Confrontos Laterais (toques laterais do corpo contra o espelho)	
Observações:		

QUADRO 1 - Etograma elaborado para registro das frequências dos padrões comportamentais em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a estresse social (reflexão da própria imagem em espelho).

Após os 30 minutos de exposição à reflexão da própria imagem no espelho cada peixe foi capturado, anestesiado com 2-phenoxyethanol (0,5 mL/L- dois minutos), pesado (Balança eletrônica – GEHAKA – BG1000) e medido (comprimento

padrão obtido por meio de paquímetro) para avaliar seu desempenho, por meio do ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) e fator de condição (K).

O ganho em peso expresso em gramas foi expresso pela diferença entre o peso final (Pf) e inicial (Pi) dos peixes:

$$\mathbf{GP = Pf - Pi}$$

A taxa de crescimento específico, expressa por % ganho de peso/dia, foi determinada por meio da seguinte fórmula:

$$\mathbf{TCE = [(Ln \text{ peso final} - Ln \text{ peso inicial})/tempo] \times 100, \text{ onde}}$$

Ln é o logarítmo neperiano

O fator de condição de Fulton (K), calculado de acordo com Le Cren (1951), foi determinado pela expressão:

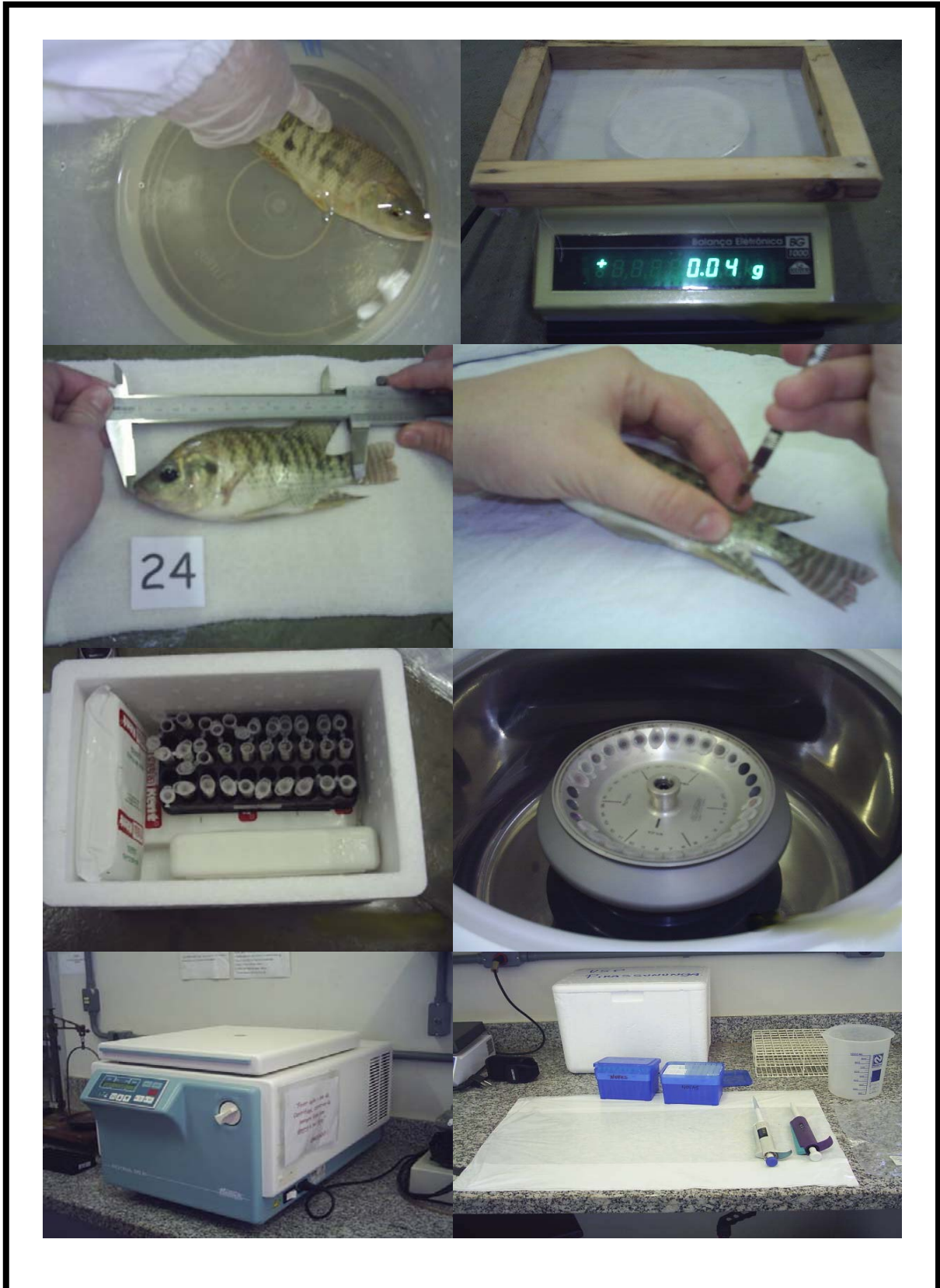
$$\mathbf{K = Wt/Lt^3 \times 100, \text{ onde}}$$

Wt = peso total dos peixes

Lt = comprimento total

Amostras de 0,5 mL sangue foram coletadas por punção caudal, com seringas descartáveis (Injex<sup>®</sup> – 1 mL Insulina – Lote 2279) heparinizadas (Liquemine<sup>®</sup>, Roche 1434802 BR 001). Todas foram transferidas para tubos Eppendorf (2 mL), mantidas sob refrigeração em caixa de isopor contendo gelo, até serem centrifugadas durante 15 minutos (3.000 rpm a 4°C) para separação do plasma que foi congelado (-30°) para posterior análise dos seguintes parâmetros fisiológicos: níveis de cortisol plasmático (0, 14 e 28 dias) e de glicose total (0,7,14,21 e 28 dias) (QUADRO 2).





QUADRO 2 – Ilustração dos procedimentos e equipamentos utilizados para anestesia, biometria, coleta das amostras de sangue e separação do plasma para determinação dos níveis de cortisol e glicose.

Para a dosagem de glicose total aplicou-se a metodologia enzimática (kits comerciais – *Laborlab* - Produtos para Laboratórios Ltda – Lote 431) e para determinação dos níveis plasmáticos do hormônio cortisol o método imunoenzimático (KIT DSL-10-2000 ACTIVE<sup>®</sup> Cortisol Enzima Imunoensaio (EIA) – Importado e distribuído por Gênese Produtos Farmacêuticos e Diagnósticos, Ltda, Lote: 10224-B). As lavagens das microplacas e as leituras foram realizadas por meio de lavadora de microplacas e leitor ELISA (Labsystem Multiskan MS), equipamentos localizados no Laboratório de Fisiologia Animal desta Unidade.

Durante o experimento, a temperatura foi anotada diariamente no período da manhã (9:00h) e a qualidade da água avaliada semanalmente utilizando o equipamento HORIBA - Water Quality Checker U -10, registrando-se o pH e a concentração de oxigênio dissolvido. Foram utilizados kits portáteis da *Hanna Instruments* analisando-se, por meio da metodologia colorimétrica, as concentrações de amônia (Microprocessador Ammonia Meter – HI 93700) e de Nitrito (Microprocessador Nitrite Meter – HI 93707).

Diariamente, logo após a alimentação do período da tarde (17:00h), realizou-se a limpeza dos aquários, removendo-se por aspiração restos de alimento e/ou de excretas e substituindo-se cerca de 10% do volume da água de cada unidade experimental.

Ao final do experimento, os peixes foram sacrificados por meio de choque térmico (imersão em gelo e água) seguido por imediata secção da medula espinhal próximo ao opérculo, para sexagem, visando confirmação da utilização de animais do sexo masculino.

#### **4.4 Análise Estatística**

Para a análise estatística dos dados comportamentais foi utilizado o método não paramétrico de Kruskal-Wallis (ZAR, 1984), adotando-se  $p = 0,05$  como nível de significância, comparando-se os tratamentos das freqüências dos eventos registrados, através do Teste de Comparações Múltiplas de Dunn.

Os demais parâmetros foram submetidos a ANOVA de um modelo com medidas repetidas, que incluiu os fatores tratamento, coleta e a interação tratamento x coleta. Utilizou-se nessas análises o proc mixed do SAS e adotou-se  $p = 0,05$ .

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Qualidade da Água**

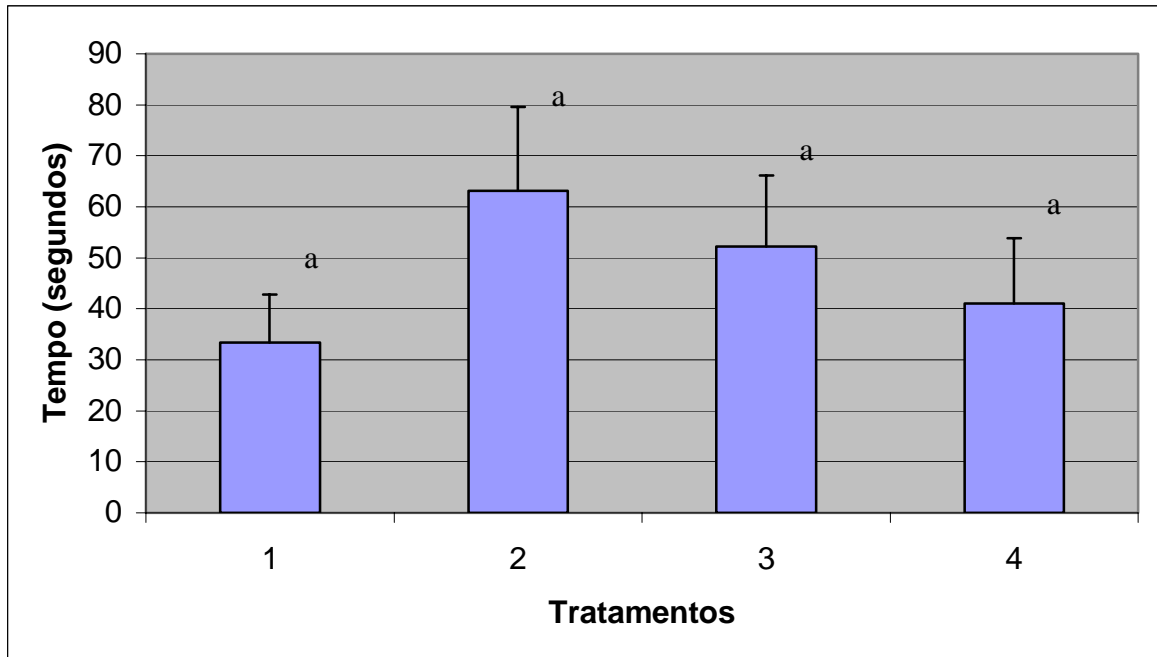
Os valores médios e desvios padrões registrados para a temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram, respectivamente,  $27,9^{\circ}\text{C} \pm 0,23$ ;  $5,66 \text{ mg/L} \pm 0,07$  e  $7,03 \pm 0,17$ . As concentrações de amônia e nitrito na água mantiveram-se em  $0,04 \pm 0,01 \text{ mg/L}$

Os resultados não variaram significativamente entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) durante todo experimento e os valores registrados permaneceram na faixa de conforto da espécie em estudo. Inclusive, não ocorreu mortalidade entre os peixes utilizados.

### **5.2 Análise Comportamental**

#### **5.2.1 - Atividade Locomotora**

Na FIGURA 7 são demonstradas as médias do tempo gasto em atividade locomotora pelos indivíduos submetidos à presença dos espelhos em função dos tratamentos propostos. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos para este parâmetro.



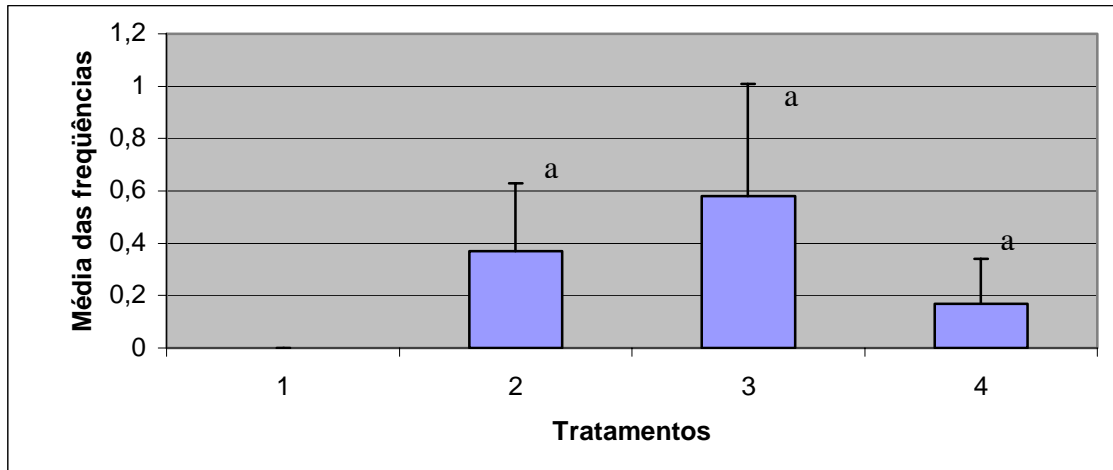
\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 7 – Valores médios do tempo gasto em atividade locomotora, em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

### 5.2.2 – Confrontos Agonísticos

As freqüências de confrontos agonísticos do tipo lateral (corpo a corpo), apresentadas na FIGURA 8 não diferiram significativamente entre os tratamentos. Deve-se, porém, destacar a ausência deste comportamento nos indivíduos do grupo controle e a tendência de maiores freqüências entre os peixes submetidos ao tratamento com 100 mg/Kg de extrato de maracujá.

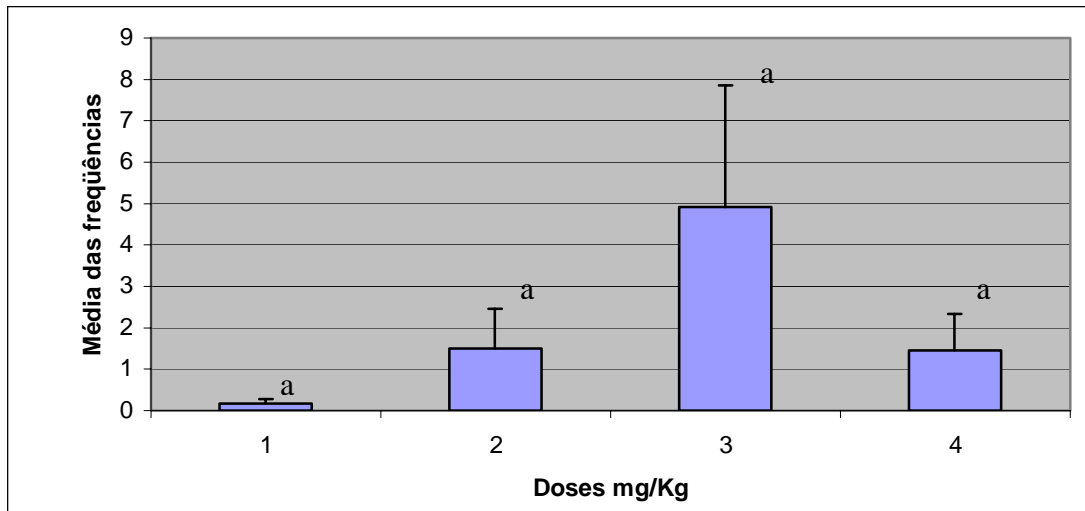


\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 8 – Valores médios das freqüências de confrontos agonísticos laterais de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho por 10 minutos) e submetidos a administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

As freqüências de confrontos agonísticos frontais, apresentadas na FIGURA 9 também não diferiram entre os tratamentos. Porém observou-se, também, a tendência de maiores freqüências entre indivíduos submetidos ao tratamento com 100 mg/Kg de extrato de maracujá, além de baixas freqüências de confrontos agonísticos frontais entre os indivíduos do grupo controle.



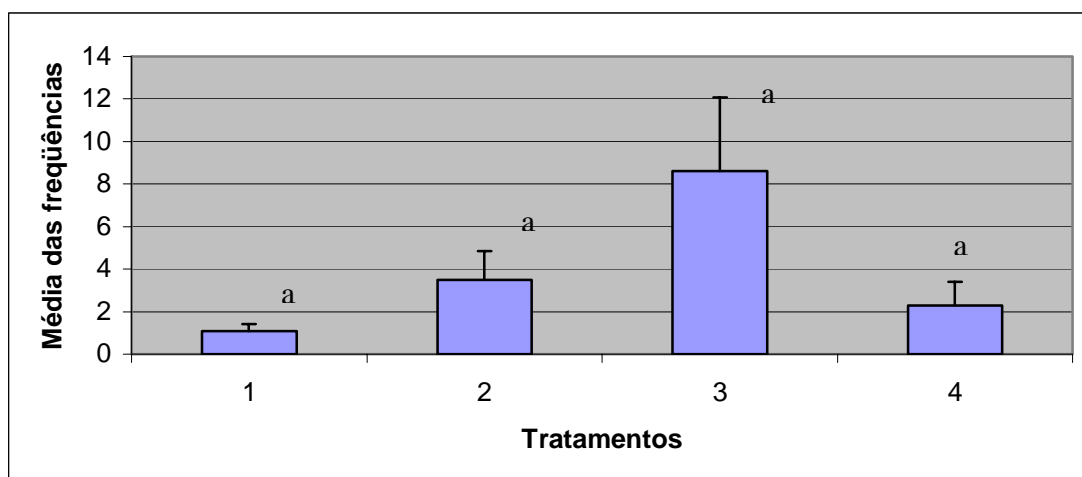
\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 9 – Valores médios das freqüências de confrontos agonísticos frontais de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

### 5.2.3 – Índice de Agressividade

Este índice foi obtido pela somatória das freqüências de todos os comportamentos agonísticos registrados. As médias das freqüências registradas para cada tratamento são apresentadas na FIGURA 10.



\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

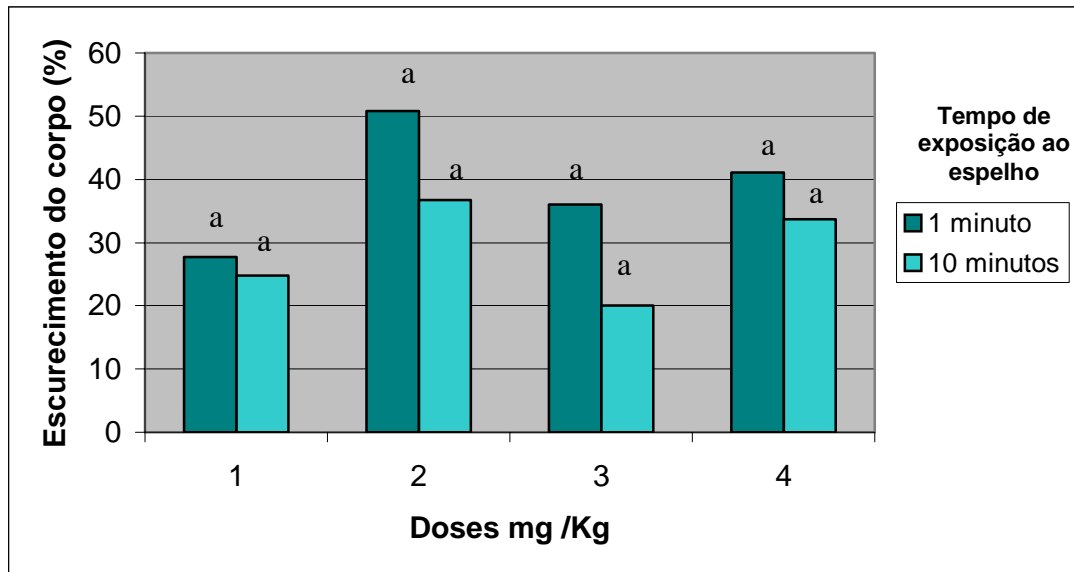
\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 10 – Freqüências médias do Índice de Agressividade (somatória das freqüências dos comportamentos agonísticos) de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Embora as diferenças encontradas não tenham diferido significativamente entre os tratamentos, pode-se observar claramente que os animais submetidos ao tratamento com 100 mg/Kg de maracujá exibiram maior tendência a manifestarem comportamentos agonísticos, devendo-se destacar, também, o baixo índice de agressividade registrado para os indivíduos do grupo controle.

### 5.3 Coloração Corporal e dos Olhos

Os dados referentes à porcentagem de escurecimento corporal dos peixes no início (um minuto) e após 10 minutos de exposição à própria imagem refletida num espelho são apresentados na FIGURA 11. Embora todos os peixes tenham apresentado redução da porcentagem de escurecimento entre os dois momentos, principalmente nos indivíduos que ingeriram 50 e 100 mg/Kg de extrato de maracujá, não foram observadas diferenças significativas deste parâmetro entre os tratamentos.



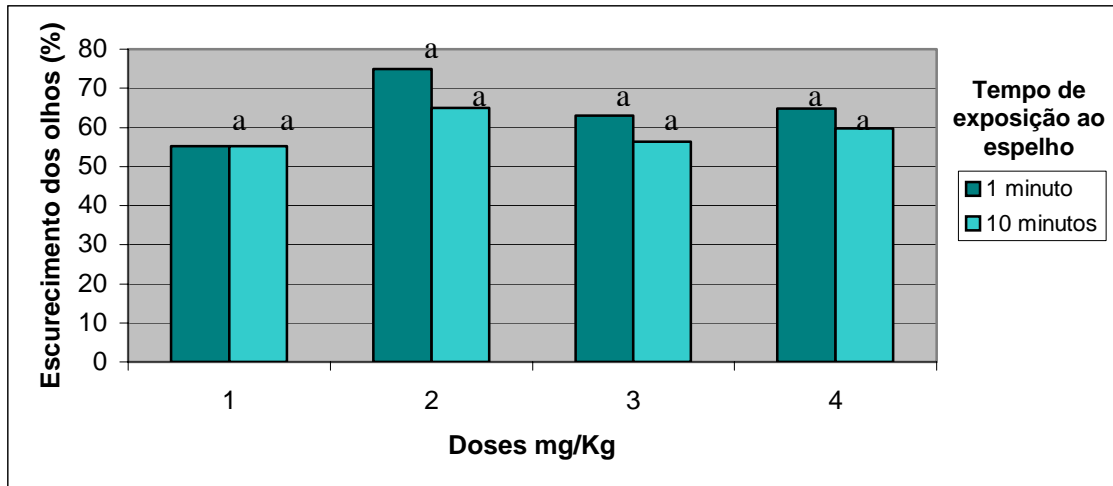
\* Médias com letras sobscritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 11 – Comparação dos valores médios iniciais (1 minuto) e finais (10 minutos) da porcentagem de escurecimento do corpo de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Os dados da porcentagem de escurecimento dos olhos dos peixes no início (um minuto) e após 10 minutos de exposição à própria imagem refletida em espelho são apresentados na FIGURA 12. A redução da porcentagem de escurecimento dos olhos entre os dois momentos observados, embora sutil, só foi observada entre os indivíduos tratados com extrato de maracujá.





\* Médias com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

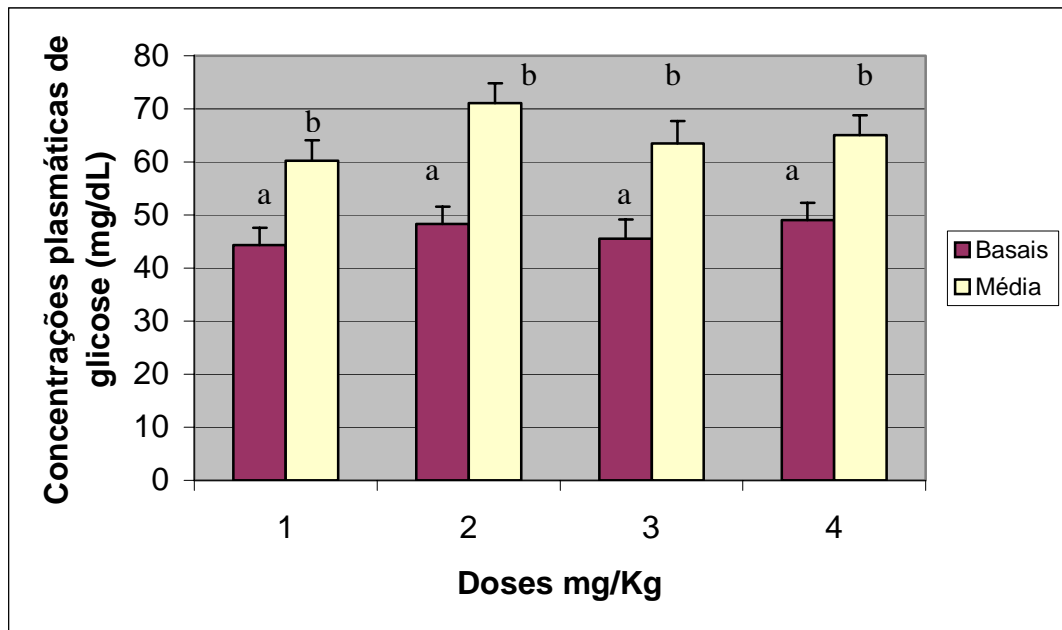
\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 12 – Comparação dos valores médios iniciais (1 minuto) e finais (10 minutos) da porcentagem de escurecimento dos olhos de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 10 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

## 5.4 Análise dos Parâmetros Fisiológicos

### 5.4.1 – Glicose

As concentrações iniciais de glicose (valores basais) não diferiram entre os peixes, mas o nível deste substrato aumentou significativamente no decorrer das observações, em todos os tratamentos, comparativamente com os valores basais. Porém não foram observados efeitos das diferentes doses de maracujá sobre este parâmetro (FIGURA 13).



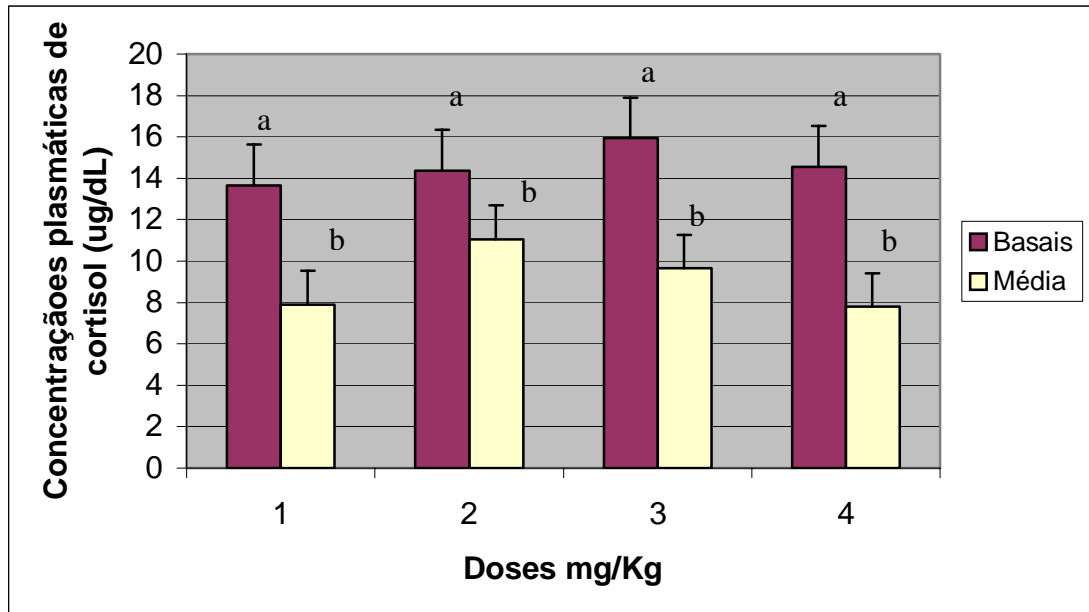
\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 13 - Valores médios das concentrações plasmáticas de glicose em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 30 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

#### 5.4.2 – Cortisol

Na FIGURA 14, são apresentadas as médias das concentrações plasmáticas de cortisol dos peixes. Os valores iniciais (basais) não diferiram entre os peixes, embora os níveis de cortisol de todos os peixes, comparativamente aos basais, reduziram significativamente e gradativamente ao longo do experimento, não foram observados efeitos dos tratamentos sobre este parâmetro.



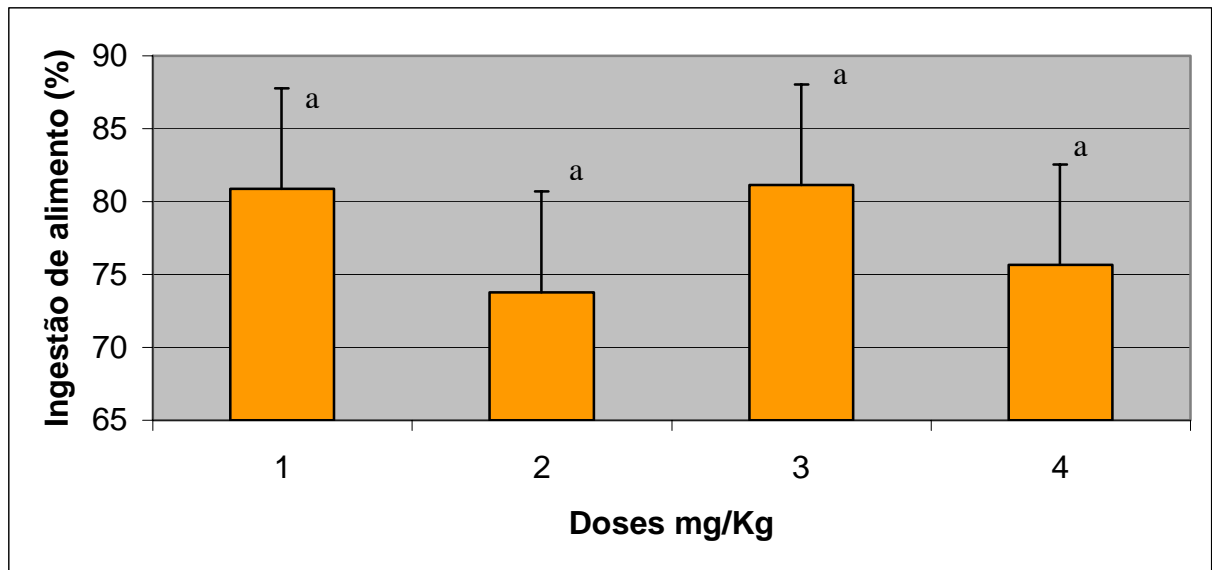
\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 14 - Valores médios das concentrações plasmáticas de cortisol em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a um agente estressor (própria imagem refletida em espelho durante 30 minutos) e submetidos à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*), durante 28 dias.

### 5.5 Ingestão de Alimento e Indicadores de Crescimento

As porcentagens de ingestão alimentar dos peixes não diferiram entre os tratamentos e são apresentadas na FIGURA 15.



\* Médias e erros padrões com letras sobrescritas distintas indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

FIGURA 15 - Valores médios da porcentagem de alimento ingerido por juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Os dados das biometrias iniciais e finais são apresentados nas TABELAS 2 e 3.

TABELA 2 – Valores médios iniciais e finais do peso de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Tratamentos	Peso (g)	
	Inicial	Final
1	85,69 <sup>aA</sup>	97.14 <sup>aB</sup>
2	84,95 <sup>aA</sup>	95.99 <sup>aB</sup>
3	87,50 <sup>aA</sup>	102.08 <sup>aB</sup>
4	85,93 <sup>aA</sup>	96.15 <sup>aB</sup>

\* Médias com letras minúsculas, sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\* Médias com letras maiúsculas, sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

TABELA 3 – Valores médios iniciais e finais do comprimento padrão de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos durante 28 dias à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Tratamentos	Comprimento padrão (cm)	
	Inicial	Final
1	13,10 <sup>aA</sup>	14.52 <sup>AB</sup>
2	13,42 <sup>aA</sup>	14.58 <sup>aB</sup>
3	13,41 <sup>aA</sup>	14.76 <sup>aB</sup>
4	13,20 <sup>aA</sup>	14.52 <sup>aB</sup>

\* Médias com letras minúsculas, sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\* Médias com letras maiúsculas, sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ )

\*\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

Observa-se que os pesos e comprimentos iniciais dos peixes não diferiram entre os tratamentos. Todos os animais cresceram no decorrer do experimento,

embora não tenham sido detectados efeitos significativos dos tratamentos sobre seu desempenho.

O ganho em peso médio a taxa de crescimento específico e o fator de condição dos animais durante os 28 dias de tratamento e seus respectivos desvios padrões, são apresentados na TABELA 4.

Tabela 4 – Valores médios e desvios padrões do ganho em peso (GP), taxa de crescimento específico (TCE) e fator de condição (K) de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos, durante 28 dias, à administração diária de extrato de maracujá (*Passiflora incarnata*).

Tratamentos	Ganho em peso (g)	TCE (%ganho peso/dia)	K
1	11,05 <sup>a</sup> ± 1.28	0.41 <sup>a</sup> ± 0.10	3.31 <sup>a</sup> ± 0.05
2	7,45 <sup>a</sup> ± 1.28	0.42 <sup>a</sup> ± 0.10	3.29 <sup>a</sup> ± 0.05
3	14,53 <sup>a</sup> ± 1.40	0.51 <sup>a</sup> ± 0.11	3.38 <sup>a</sup> ± 0.06
4	9,23 <sup>a</sup> ± 1.28	0.38 <sup>a</sup> ± 0.10	3.30 <sup>a</sup> ± 0.05

\* Médias com letras sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05)

\*\*Tratamentos: 1 – 0 mg/Kg 2 – 50 mg/Kg 3 – 100 mg/Kg 4 – 200 mg/Kg

Também não foram observados efeitos dos tratamentos sobre nenhum parâmetro de desempenho avaliado.

## 6 DISCUSSÃO

Esta discussão tem início com a abordagem de uma importante questão para a aquicultura: a manutenção de condições adequadas dos peixes visando proporcionar seu bem-estar. A maioria das informações encontradas na literatura e referentes aos efeitos do estresse sobre os peixes é obtida por meio de pesquisas relacionadas com salmonídeos (BARTON; IWANA, 1991; SUMPTER, 1997).

Situações estressantes ocorrem durante todo ciclo produtivo da piscicultura, inclusive durante a captura e o confinamento (GRUTTER; PANKHURST, 2000; ROTLLAND et al., 2001; RUANE et al., 2001).

Dentre os agentes potencialmente estressores para os peixes destaca-se a temperatura da água, um importante fator ambiental que influencia fisiologicamente esses animais. As tilápias são provenientes de ambiente tropical e, embora demonstrem adaptação ao clima subtropical, não devem ser mantidas em temperaturas inferiores a 15°C ou superiores a 35°C. No presente experimento a temperatura foi mantida em 27,9°C  $\pm$  0,23 e não diferiu entre os tratamentos, ou seja, foi mantida dentro da faixa de conforto entre 27 e 32°C, segundo Bowen, (1982), Popma e Lovshin (1994) e Kubitzka (2000).

Outros parâmetros que afetam o metabolismo dos peixes são o pH e as concentrações de amônia, de nitrito e de oxigênio dissolvido. Embora as tilápias tolerem uma ampla faixa de pH que situa-se entre 5 e 11, o ideal é a neutralidade ou ligeira alcalinidade, ou seja, pH entre 7 e 8 (KUBITZA, 2000). O pH manteve-se em 7,03  $\pm$  0,17, dentro da faixa de conforto, também não diferindo entre os tratamentos.

Embora a espécie tolere baixas concentrações de oxigênio (< 1,0 mg/L) e em casos de sua falta seja capaz de utilizar o oxigênio presente nas microcamadas da superfície da água (STICKNEY, 2000), são recomendados níveis superiores a 3 mg/L para que não haja efeitos negativos sobre seu metabolismo e, conseqüentemente, seu crescimento (KUBITZA, 2000). Longos períodos de baixo oxigênio dissolvido podem resultar em estresse, sendo o nível aceitável situado entre 4 e 5 mg/L (EVANS et al., 2003). Neste trabalho foram registrados valores médios de 5,66  $\pm$  0,07 que não diferiram entre os tratamentos e situaram-se na faixa estabelecida como de conforto.

A tilápia do Nilo sobre influência negativa de fotoperíodos curtos, quando é observada uma redução da ingestão alimentar e queda da taxa de crescimento (LOURENÇO et al., 1998). Porém, no experimento este fator foi controlado, mantendo-se artificialmente todos os peixes sob regime de 12 horas de luz.

Outro fator que afeta o metabolismo dos peixes é o sexo (KUBITZA, 1999). Em algumas espécies como a tilápia do Nilo observa-se crescimento diferencial entre machos e fêmeas. Os machos são maiores, em decorrência dos altos níveis de andrógenos que acentuam processos anabólicos enquanto que as fêmeas apresentam menor taxa de crescimento decorrente do maior gasto de energia metabólica para atender a demanda de atividades relacionadas à reprodução (TOGUYENI et al., 1996). Por estas razões, dá-se preferência à manutenção apenas de machos nas criações, visando maior produtividade (PORTO-FORESTI; FORESTI, 2004). De fato Pezzato (1984) afirma que machos de tilápias do Nilo apresentam sempre maior peso corporal tendo, portanto, melhor rendimento que as fêmeas.

Os peixes utilizados neste trabalho eram machos, fato inclusive confirmado após término do experimento, quando todos foram sacrificados para observação das gônadas. Assim, esta variável também não interferiu nos dados obtidos.

A aparente ausência de efeitos do extrato de *Passiflora incarnata* sobre os peixes poderia ser atribuída a diversos outros fatores que serão discutidos a seguir.

Primeiramente, a eficiência do veículo (alginato de sódio) utilizado para administração do maracujá aos peixes. Este produto é comumente empregado na alimentação, inclusive de peixes, como aglutinante ou no preparo de micropartículas de ração para alimentação de larvas, conforme citam os autores Sánchez-Vázquez, et al. (1998); Kovalenko, et al. (2002) e Yúferas, et al. (2005). Além disso, a forma de utilização do produto, aspersão, foi baseada em comunicação pessoal do pesquisador do CEPTA-IBAMA, Paulo Cicarreli. Pode-se inferir que estas variáveis não interferiram nos resultados.

Outra possibilidade seria a ocorrência de ingestão diferencial entre os indivíduos de modo a prejudicar a administração dos tratamentos. Porém tais taxas não diferiram podendo-se portanto inferir que os peixes tenham recebido doses proporcionais do extrato de maracujá. Apesar do exposto, permanece ainda, a possibilidade de que o tempo de exposição dos peixes ao extrato de maracujá (28 dias) tenha sido insuficiente para que o mesmo exerça efeitos sobre os indivíduos.



A eficiência do agente estressor empregado também deve ser questionada. Embora a apresentação de um intruso real no ambiente (coespecífico) fosse uma opção óbvia para promoção do estresse social, tal procedimento não foi adotado, tendo em vista as altas frequências de confrontos observadas na espécie (VOLPATO et al., 1989) que poderiam provocar ferimentos ou mesmo a morte dos indivíduos.

De acordo com Brown (1946), antes mesmo que confrontos sejam detectados ocorrem manifestações fisiológicas associadas ao aumento da atividade metabólica dos submissos, fato sugestivo de que a visão de outros indivíduos seja suficiente para promover alterações. Wirtz e Davenport (1976), em estudo realizado com a espécie *Blennius pholis*, sugeriram que a própria presença do coespecífico é capaz de promover o estresse. De fato, Freitas (1988) verificou em tilápias do Nilo variações nos padrões de coloração e na disposição da nadadeira dorsal quando submetidas à própria imagem refletida em espelho, destacando que os peixes assumiram, claramente, uma postura de dominância semelhante àquela apresentada nos momentos de confrontações reais. Posteriormente Holtby et al. (1993) também realizaram estudos do comportamento agonístico provocado pela presença de espelho em juvenis de salmão (*Oncorhynchus kisutch*), verificando que estes peixes também reagiram de maneira similar.

Portanto, com base na literatura, no presente estudo optou-se pela utilização de espelhos que, teoricamente, simulariam a presença de um coespecífico.

O tempo de exposição ao espelho utilizado (30 minutos) foi superior ao citado por Merighe et al. (2005) que observaram em juvenis da mesma espécie aumentos significativos da agressividade e dos níveis plasmáticos de cortisol quando os indivíduos foram submetidos a esta condição durante apenas 10 minutos, em ambiente de coloração azul, sugerindo que tal cor deveria ser evitada por exacerbar a agressividade. Embora Fanta (1995) tenha também afirmado que a cor azul do ambiente não seria adequada para manutenção da tilápia, por exacerbar a agressividade, Volpato e Barreto (2001) discutem que o comportamento agressivo é inerente a esta espécie de Ciclídeo cujos hábitos são territoriais e, assim, o aumento da agressividade descrito em trabalhos anteriores deveria ser interpretado como um indicativo de bem-estar dos peixes. Embora os resultados de todos os parâmetros comportamentais analisados no presente trabalho não tenham diferido significativamente entre os tratamentos, não podemos deixar de questionar um

possível efeito benéfico do extrato de maracujá sobre o bem-estar da tilápia ao observamos a tendência de manifestações de comportamentos agonísticos em maiores freqüências entre os indivíduos tratados com o extrato, principalmente na dose de 100 mg/Kg.

Em trabalho realizado recentemente Pereira-Da-Silva et al. (2005)<sup>3</sup> observaram que a cor azul do ambiente, embora não previna a perda de peso decorrente de um estresse crônico (contenção), modula os efeitos bioquímicos do estresse, sugerindo seu efeito positivo sobre o bem-estar da espécie.

Embora não tenha sido constatada diferença significativa entre a agressividade dos peixes nos diferentes tratamentos, observou-se que somente os animais submetidos a doses diárias de 100 mg/kg do extrato de maracujá apresentaram comportamentos agonísticos mais freqüentes, em detrimento de seus baixos níveis de cortisol plasmático.

Independente do tipo de agente estressor, a literatura destaca que as respostas ao estresse são adaptativas e, apesar de parecerem prejudiciais, envolvem mecanismos pelos quais os indivíduos tornam-se capazes de manter sua homeostase. Tais mecanismos caracterizam-se por mudanças metabólicas de anabolismo para catabolismo que permitem a utilização de reservas energéticas usualmente não disponíveis (PICKERING, 1981).

O cortisol é um hormônio corticosteróide que aumenta após a exposição aguda ou crônica do peixe a um agente estressor, podendo desencadear atividade neoglicogênica e estímulo da mobilização de aminoácidos e de lipídios que serão utilizados como substratos energéticos, fato que afeta indiretamente o crescimento (LEACH; TAYLOR, 1982; DAVIS et al., 1985; SHERIDAN, 1986; VIJAYAN; LEATHERLAND, 1989; VIJAYAN et al., 1994 a,b; REDDY et al., 1995). Assim os níveis deste hormônio são utilizados para indicar o grau de bem estar dos peixes (PICKERING, 1981).

No presente experimento, observou-se uma queda contínua do nível de cortisol de todos os peixes e tratamentos. Embora os níveis plasmáticos de cortisol variem e sejam afetados por diversos fatores como estações do ano e a hora do dia

---

<sup>3</sup> PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; MELO, M.P.; VOLPATO, G.L.; PERES, L.D., PUGINE, S.M.P.; OLIVEIRA, R.H.F. **Environmental blue lighth reduces biochemical stress in the Nile tilapia.** 2005.

(HADDY; PANKHURST, 1999), a temperatura da água e o fotoperíodo foram controlados neste experimento, realizando-se inclusive as coletas num mesmo período do dia.

Reddy e Leatherland (1998) afirmam que os níveis de cortisol plasmático aumentam rapidamente (poucos minutos) após a exposição a um estresse agudo e retornam aos níveis basais em menos de uma hora, enquanto que a exposição a um estresse crônico promove elevações dos níveis plasmáticos de cortisol que permanecem elevados por longo período. Neste trabalho, as coletas foram realizadas após 30 minutos de exposição ao espelho. Podemos discutir, então, duas possibilidades: primeiro, que o estresse utilizado tenha sido agudo e que a coleta foi realizada após retorno aos níveis basais do cortisol ou, segundo, que o agente estressor não tenha sido eficiente.

Os níveis basais médios de cortisol variaram de um mínimo  $13,66 \pm 1,97$  ao máximo de  $15,93 \pm 1,97$   $\mu\text{g/dL}$ , valores que estão de acordo com dados da literatura, seja para tilápia ou outras espécies de peixe (VOLPATO; BARRETO, 2001). Níveis entre 5 e 50 ng/mL foram descritos como normais para a tilápia do Nilo por Auperin et al. (1997) e de 5 a 15 ng/mL por Barcellos et al. (1999).

De acordo com Pickering (1981, 1992 e 1993) e Wedemeyer (1996) o estresse de confinamento afeta o crescimento dos peixes, fato confirmado por Massou et al. (2004) em tilápias do Nilo. Assim, a redução da taxa de crescimento pode ser utilizada como indicador do estresse crônico nos peixes. O estresse social promove a redução do crescimento dos animais submissos (VOLPATO; FERNANDES, 1994) e o status social em peixes territoriais é identificado pela análise do comportamento agonístico, onde o dominante sempre ataca e o submisso procura se esquivar (DAWKINS, 1976). Volpato et al. (2003), afirma que o estabelecimento das relações de dominância é uma fonte estressor para todos os animais, tanto dominantes, como submissos. Peters et al. (1980) e Domingues (1990) demonstraram que, embora os animais submissos sofram um maior número de ataques do dominante, o status de dominante não é um bom indicador dos níveis de estresse.

Após a administração do extrato de maracujá, verificou-se uma redução gradativa dos níveis de cortisol (valores finais mínimos de  $3,78 \pm 1,97$  e máximos de  $8,07 \pm 1,97$ ) e ganho significativo do peso nos peixes submetidos a todos os tratamentos.

Tendo em vista todas as considerações anteriores, pode-se inferir que o estresse utilizado neste trabalho, caracterizado como “estresse social”, não foi efetivo, o que pode ser confirmado pela redução contínua das taxas de cortisol e aumento das taxas de crescimento em todos os peixes, conforme descrito anteriormente. Pickering (1993) cita que o estresse promove redução da taxa de ingestão e conseqüentemente do crescimento, mas neste trabalho os peixes mantiveram taxas similares de ingestão entre os tratamentos e todos cresceram. Isso também corrobora com a idéia de que os animais não foram suficientemente estressados por meio da reflexão da sua imagem em espelho.

O aumento dos níveis de glicose sanguínea é um indicador seguro e sua dosagem é rotineiramente empregada para avaliação das respostas secundárias dos peixes ao estresse (WEDEMEYER et al., 1990; ANDERSEN et al., 1991; THOMAS; ROBERTSON, 1991; CHEN et al., 1995; CECH et al., 1996; REUBUSH; HEATH, 1996; ROTLLANT; TORT, 1997; ORTUÑO et al., 2001,2002).

A hiperglicemia resulta de alterações da glicogenólise hepática, caracterizada pela conversão de reservas de glicogênio em glicose (MILES et al., 1974; MACLEAY, 1977; MAZEAUD; MAZEAUD, 1981) e o aumento da demanda energética ocorre e é mais severo nos peixes estressados, podendo prejudicar sua resistência a patógenos (WEDEMEYER 1976; SCHRECK, 1981). Diferentes valores das concentrações de glicose sanguínea podem variar de acordo com as metodologias de análise, da espécie de peixe considerada, das condições de criação e ainda do tipo e duração do estresse (EVANS, et al., 2003).

Evans et al. (2003) registrou para a tilápia do Nilo valores basais de glicose entre 32,2 e 35,8 mg/dL e concentrações de 78,8; 106,4 e 149,6 mg/dL após a imposição de estresse por baixos níveis de oxigênio dissolvido respectivamente, após 1, 2 e 4 horas. Num estudo com tilápia de Moçambique (*O. mossambicus*), foram observados níveis basais entre 40,0 e 50,0 mg/dL e concentrações entre 185,0 e 200,0 e entre 180,0 e 210,0 mg/dL nos peixes submetidos a estresse de confinamento durante 2 e 24 horas, respectivamente (VIJAYAN et al., 1997). Juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), apresentaram concentrações basais de 40 mg/dL e de 160,0 e 200 mg/dL de glicose sanguínea após estresse de transporte durante 24 horas (GOMES et al., 2003).

A elevação dos níveis plasmáticos de cortisol também pode ser responsável pela manutenção da hiperglicemia nos peixes (LEACH; TAYLOR, 1980). Friend

(1991) descreve que a taxa de secreção de glicocorticóides assim como sua permanência na corrente sanguínea dependem da intensidade e duração do agente estressor. Esta informação, somada à observação de redução significativa dos níveis de cortisol dos peixes em todos os tratamentos neste trabalho corrobora mais uma vez com a idéia de que o tempo de exposição ao espelho (30 minutos) pode não ter sido suficiente para promover o estresse social e o conseqüente aumento nos níveis plasmáticos de glicose.

Os níveis de glicose neste experimento não diferiram entre os tratamentos, devendo-se ainda destacar que os valores registrados, apesar de significativamente superiores aos basais, em nenhum momento atingiram valores superiores aos limites indicadores de estresse encontrados na literatura conforme descrito anteriormente. No presente experimento os valores basais mínimos e máximos de glicose foram  $44,29 \pm 3,26$  e  $49,05 \pm 3,26$ , respectivamente e no final valor mínimo de  $59,51 \pm 3,27$  e máximo de  $66,92 \pm 3,29$ .

Após a alimentação, observa-se que as taxas sanguíneas de glicose aumentam e que nos humanos o retorno aos níveis basais ocorre num período entre uma e duas horas, ao contrário dos peixes que, por apresentarem inabilidade para metabolizar carboidratos, permanecem nessa condição até sete horas após a alimentação este período pode chegar a sete horas (PALMER; RYMAN, 1972; DE SILVA; ANDERSON, 1995).

As taxas de glicose superiores aos níveis basais registradas neste experimento não podem ser atribuídas à alimentação, uma vez que no momento das coletas os peixes encontravam-se em jejum mantido por 15 horas.

Clark (1934) e Mac Gregor (1957) afirmam que o estado fisiológico de um peixe é condicionado pela interação de fatores bióticos e abióticos cujas variações podem ser estimadas por meio do fator de condição (K). O fator K é um indicador do estado de “bem-estar” do peixe no ambiente em que está vivendo, podendo indicar alterações na densidade populacional e nas condições alimentares (BRAGA, 1986). De acordo com Wootton (1990) esse fator é freqüentemente usado para quantificar o “bem-estar” ou a “gordura de um peixe”, com base na hipótese de que indivíduos mais pesados, de um dado comprimento, estão em melhor condição que os demais. Para Vazzoler (1996) o fator K é um indicador quantitativo do grau de hígidez ou de bem-estar do peixe, refletindo as condições alimentares recentes e/ou gasto de

reservas em atividades cíclicas, possibilitando relações com condições ambientais e aspectos comportamentais da espécie.

Segundo Weatherley (1972) o fator de condição é uma importante ferramenta para compararem-se duas ou mais populações vivendo em condições diferenciadas de alimentação, densidade, clima, além da determinação da duração do período de maturação gonadal ou acompanhamento do grau de atividade alimentar de uma espécie. Para Bruton e Allanson (1974), quando a disponibilidade de alimento é baixa, o fator de condição geralmente é baixo.

Coda (1996), em cultivo intensivo de tilápia do Nilo, obteve para o fator de condição valores que variaram de 2,0 a 2,19 e Mainardes-Pinto (1985), de 1,98 a 2,33. Trabalhando com *Tilapia mossambica*, no lago Sibaya, África, esses autores verificaram que os valores mais altos coincidiram com os meses mais quentes, quando os peixes, geralmente, tinham maior disponibilidade de alimento. Dória e Leonhardt (1993) observaram diminuição dos valores do fator de condição nos meses mais frios do ano, para o cultivo de *Cyprinus carpio*, *Prochilodus scrofa*, *Piaractus mesopotamicus* e *Colossoma macropomum* em sistema de policultivo.

No presente trabalho o fator de condição variou entre 3,29 e 3,38, não diferindo entre os tratamentos. Os dados sugerem que os peixes encontravam-se num grau elevado de bem-estar.

## 7 CONCLUSÕES

- Os peixes foram mantidos em condições adequadas que preservaram seu bem-estar.
- O agente estressor e o modo como este foi imposto não foi adequado para promover o estresse social nos peixes.
- O extrato de maracujá não contribuiu para o aumento do bem-estar dos peixes.
- O extrato de maracujá na forma como foi administrado não afetou a palatabilidade da ração.
- O desempenho dos peixes não foi prejudicado pela inclusão do extrato no alimento.
- O extrato de maracujá interfere na expressão dos comportamentos agonísticos da espécie.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, M.M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 795p

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

ANDERSEN, D.E.; REID, S.D.; MOON, T.W.; PERRY, S.F. Metabolic effects associated with chronically elevated cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**. v. 48, p. 181-1817, 1991.

AOYAGI, N.; KIMURA,R.; MURATA,T. *P. incarnata* dry extract.I. Isolation of maltol and pharmacological action of maltol and ethyl maltol. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v.22, p.1008 – 1013, 1974.

AUPERIN, B.; BAROILLER, J.F.; RICORDEL, M.J.; FOSTIER, A.; PRUNET, P. Effect of confinement stress on circulation levels of growth hormones and two prolactins in freshwater-adapted tilapia (*Oreochromis niloticus*). **General and Comparative Endocrinology**. v. 108, p. 35-44, 1997.

BARCELLOS, L.J.G.; NOCOLAIEWSKY, S.; SOUZA, S.M.G.; LULHIER, F. The effect of stocking density and social interactions on acute stress response in Nile itilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Aquaculture Research**. v. 30, p. 887-892, 1999.

BARTON, B.A.; IWANA, G.K.Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**. v. 10, p.03-26, 1991.

BEECHING, S.C. Colour pattern and inhibition of aggression in the cichlid fish *Astronotus ocellatus*. **Journal of Fish Biology**. v. 47, p. 50-58, 1995.

BERGNER, P. Passionflower. **Medical Herbalism**. v. 7, p.13 –14, 1995.

BERNE, R. M.; LEVY, M.N. **Physiology**. 2ed. St Louis: Mosby, 1988. p. 978-982.



BOHUS, B.; KOOLHAAS, J.M.; NYAKAS, C.; STEFFENS, A.B.; FOKKEMA, D.S.; SCHEURINK, A.J.W. Physiology of stress: a behavioural view. P. 57-70. In: Wiepkema, P.R. & Van Adrichem, P.W.M. (Ed). **Biology of stress in farm animals: an integrative approach**. Martinus Nijhoff Publisher. Boston. 1987.

BOHUS, B.; KOOLHAAS, J.M.; DE RUITER, A.J.H.; HEIJENE, C.J. Stress and differential alterations in immune system functions: conclusions from social stress studies in animals. **Netherlands J. Med.** v. 39, p. 306-315, 1991.

BONGA, S.E.W. The stress response in fish. **Physiological Review.** v.77, p.591-625, 1997.

BOWEN, S.H. **Feeding, digestion and growth-quantitative considerations.** p. 141-56. 1982.

BRAGA, F. M. S. Estudo entre fator de condição e relação peso/comprimento para alguns peixes marinhos. **Rev. Brasil. Biol.** v. 46, p. 339-46, 1986.

BROOM, D. M. Animal-welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science.** v. 69 (10), p. 4167-4175, 1991.

BROWN, M.E. The growth of brown trout (*Salmo trutta* L.) In: Factors influencing the growth of trout fry. **J. Exp. Biol.** v. 22, p. 118-129, 1946.

BROWN, G. E. BROWN, J.A.; SRIVASTAVA, R.K. The effect of stocking density on the behaviour of Artic charr (*Salvelinus alpinus*). **Journal of Fish Biology.** v. 41, p.955-963. 1992.

BRUTON, M. N. & ALLANSON, B. R. The growth of *Tilapia mossambica* Peters (Pisces, Cichlidae) in Lake Sibaya, South Africa. **J. Fish. Biol.** v. 6, p. 701-15, 1974.

CASTAGNOLLI, N., CYRINO, J.E.P. **Piscicultura nos trópicos.** São Paulo: Manole, 1986. p.152.

CARMICHAEL, G.J. Long distance truck transport of intensively reared largemouth bass. **Progressive Fish Culturist.** v. 46, p. 111-115, 1984.

CECH, J.J.; BORTHOLOW, S.D.; YOUNG, P.S.; HOPKINS, T.E. Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological response to recovery environment. **Transaction of the American Fisheries Society**. v.125, p. 308-320, 1996.

CERLETTI, A.; SCHLAGER, E.; SPITZER, F.; TAESCHLER, M. Psychopharmake 4. Mitteilung. Psychodysleptica. **Schweiz. Apoth. Ztg.** v. 101, p. 212 – 244, 1963.

CHEN, G.R.; SUN, L.T.; LEE, Y.H.; CHANG, C.F. Characteristics of blood in common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to low temperatures. **Journal of Applied Aquaculture**. v.5, p. 21-31, 1995.

CHROUSOSO, G.P.; GOLD, P.W. The concept the stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioural homeostasi. **Jornal of American Medical Association**. v. 267, p. 1244-1252, 1992.

CLARK, F. N. Maturity of the California sardine (*Sardine caerulea*) determined by ova diameter measurements. **Fish Bull.** v.42, p. 1-49, 1934.

CODA, S. **Cultivo intensivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertida sexualmente em duas densidades de estocagem**. Londrina, 1996. 67 p. Dissertação (Bacharelado em Ciências Biológicas) Universidade Estadual de Londrina – Paraná, 1996.

DAVIS, K.B.; TORRANCE, P.; PARKER, N.C.; SUTTLE, M.A. Growth, body composition, e hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish, *Ictalurus punctatus* R. **Journal of Fish Biology**. v.27, p. 177-184, 1985.

DAWKINS R. Hierarchical organization: a candidate principle for ethology. In: BATESON, P.P.G.; HINDE, R.A. **Growing Points in Ethology**. London: Cambridge University Press, 1976.

DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish Nutrition in Aquaculture**. London: Chapman & Hall, 1995. 319p.

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMA A. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. **J. Ethnopharmacol.** v. 78, p. 165 – 170, 2001(a).

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMA A. Comparative biological activity study on *P. incarnata* and *P. edulis*. **Fitoterapia**. v. 72, p. 698 – 702, 2001(b).

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMA A. Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *P. incarnata*. **Fitoterapia**. v. 72, p. 922 – 926, 2001(c).

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMA A. Aphrodisiac activity of methanol extract of leaves of *P. incarnata* in mice. **Phytotherapy Research**. v. 17, p. 401 – 403, 2002.

DHAWAN K.; SHARMA A. Antitussive activity of the methanol extract of leaves of *P. incarnata*. **Fitoterapia**. v. 73, p. 399 – 401. 2002.

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMAR A. Evaluation of central nervous system effects of *Passiflora incarnata* in experimental animals. **Pharmaceutical Biology**. v. 41 (2), p. 87-91, 2003 (a).

DHAWAN K.; KUMAR S.; SHARMAR A. Anti-asthmatic activity evolution of methanol extract of leaves of *P. incarnata*. **Phytotherapy Research**. v.17, p. 821 – 822, 2003 (b).

DHAWAN K.; DHAWAN,S.; SHARMAR A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology** v.94 (1), p.1 – 23, 2004.

DOMINGUES, C.M.P.M. **Efeito do tipo de confronto no metabolismo de alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.)**. 1990. 40p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista – Botucatu, 1990.

DONALDSON, E.M. The pituitary-interrenal axis as na indicator of stress in fish. **Stress in fish**, Academic Press, p. 11-47, 1981.

EVANS, J. J.; SHOEMAKER, C. A.; KLESIOUS, P.H. Effects of sublethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. **Jornal of Aquatic Aniaml Health**. v. 15, p. 202-208, 2003.

FALTER , U. Description des patrons de coloration chez *Oreochromis niloticus* (L.) (Teleostei: Cichlidae). **Annales de la Société Royale de Zoologie Belge**. V.117, p. 201-219, 1987.

FANTA, E. Influence of background color on the behavior of the fish *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Arq. de Biol. E Tecn.** v. 38 (4), p. 1237-1251, 1995.

FERNANDES, M.O. **Estresse social, metabolismo e crescimento em peixes.** 1997. 82p. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 1997.

FERNANDES, M.O.; VOLPATO, G.L. Estresse social e crescimento heterogêneo em peixes. **In: Anais de Etologia** 11:129-141. Bauru – SP, 1993.

FREITAS, E.F.L. **Efeito da visão da imagem refletida em espelho sobre o consumo de oxigênio de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** 1988, 39p, Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista – Botucatu, 1988.

FRIEND, T.H. Symposium: Response os animals to stress: Behavioral aspects of stress. **Journal of Dairy Science.** v. 74, p. 292-303, 1991.

GALLI, L.F.; TORLONI, C.E.C. **Criação de peixes.** Porto Alegre: Centaurus, 1982. p.119.

GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH,R; CHIPPARI-GOMES, A.R. LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect od fish density during transpotation on stress and mortality of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal World Aquaculture Society.** v. 34, p. 76-84, 2003.

GRICE, I.D.; FERREIRA, L.A.; GRIFFITHS,L.R. Identification and simultaneous analysis of harmane, harmine, harmol, isovitexin and vitexin in *Passiflora incarnata* extracts with a novel HPLC method. **J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.** v. 24 (16), p. 2513 – 2523, 2001.

GRUTTER A. S.; PANKURST, N.W. The effects of capture, halding confinement and ectoparasite on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish *Hemigymnus melapterus*. **Journal of Fish Biology.** v. 57, p. 391-401, 2000.

HADDY, J.A.; PANKHURST, N.W. Stress-induced changes in concentrations of plasma sex steroids in black bream. **Journal of Fish Biology.** v. 55, p. 1304-1316, 1999.

HARBOURNE, J.; BAXTER, H. **Phytochemical Dictionary**, Taylor & Francis: London, 1993.

HICKEY, M.; KING, C. **100 Families of Flowering Plants**. Cambridge University Press, Cambridge, 130 – 133, 1988.

HOAR, W.S. **General and Comparative Physiology**. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 849p. 1983.

HOLTBY, L.B.; SWAIN, D.P.; ALLAN, G.M. Mirror-elicited agonistic behaviour and body morphology as predictors of dominance status in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Canadian Journal Fisheries Aquatic Science**. v. 50, p. 676-684, 1993.

HUNTINGFORD, F. A. **The study of animal behaviour**. London: Chapman & Hall, 1984. p. 350-356.

HUNTINGFORD, F. A. Development of behaviour in fishes. In: PITCHER, T.J., ed. **The behaviour of teleost fishes**. London: Croom Helm, 1986. p. 47-68.

IWANA, G.K. Stress in fish. **Annals of the New York Academy of Science**. v. 851, p. 304-310, 1997.

KOVALENKO, E.E.; D'ABRAMO, R.L.; OHS, C.L.; BUDDINGTON, R.K. A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**. v. 210, p. 385-395, 2002.

KUBOKAWA, K.; WAANABE, T.; YOSHIOKA, M.; IWATA, M. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. **Aquaculture**, v. 172, p. 335-349, 1999.

KUBITZA, F.; LOVSHIN, L.L.; ONO, E.A.; SAMPAIO, A.V. **Planejamento na produção de peixe**. 3ed. Jundiaí: F. Kubitza, 1999, 77p.

KUBITZA, F. **Tilápia e tecnologia e planejamento na produção comercial**. 1 ed. Jundiaí, SP, 2000. 285p.

KUMAR, R. **Anti-anxiety Screening Studies on the Roots of two Controversial Passion Flower Species**. Thesis submitted in partial fulfilment for the degree of Master of Pharmacy in Pharmacognosy of the Panjab University, Chandigarh, India, 2001.

LAIDLEY, C.W.; LEATHERLAND, J.F. Cohort sampling, anaesthesia and stocking density effects on plasma cortisol, thyroid hormone, metabolite and ion levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* R. **Journal of Fish Biology**. v. 33, p. 73-88, 1988.

LEACH, G.J.; TAYLOR, M.H. The role of cortisol in stress-induced metabolic changes in *Fundulus heteroclitus*. **General and Comparative Endocrinology**. v. 42, p. 219-227, 1980.

LEACH, G.J.; TAYLOR, M.H. The effects of cortisol treatment on carbohydrate and protein metabolism in *Fundulus heteroclitus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 48, p. 76-83, 1982.

LEBOUTE, E.M.; SOUZA, S. M. G.; AFONSO, L. O. B.; ZIMMERMANN, S. Estudos preliminares sobre o cultivo de tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, masculinizada em tanques-rede. In: ENCONTRO RIOGRANDENSE DE TÉCNICOS EM AQUICULTURA, 4, Porto Alegre, RS, 1993. Anais - Porto Alegre, RS, 1993. p.151-5.

LE CREN, E.D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch (*Perca fluviatilis*). **J. Anim. Ecol.** v. 20 (14), p. 201-209, 1951.

LESSIN, A.W.; LONG, R.F.; PARKERS, M.W. Central stimulant properties of some substituted indolyalkylamines and beta-carbolines and their activities as inhibitors of monoamine oxidase and uptake of 5-hydroxytryptamine. **J. Pharmacol. Chemother.** v. 29, p.70 – 79, 1967.

LI, H.W.; BROCKSEN, R.W. Approaches to the analysis of energetic costs of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Fish Biology**. v. 11, p.329-334, 1977.

LOURENÇO, J.N.P., VICENTINE-PAULINO, M.L.M., DELICIO, H.C.O. Efeito do fotoperíodo e da estação do ano sobre a ingestão de alimento em um peixe tropical, *Oreochromis niloticus*. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE AQUICULTURA, 10; FEIRA DE TECNOLOGIA E PRODUTOS PARA AQUICULTURA, 2, Recife, 1998. Anais – Recife: PNFC, 1998. v.2, p. 571-581.

LOVSHIN, L.L., CYRINO, J.E.P. Status of comercial fresh water fish culture in Brazil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., Piracicaba, 1998. Anais. Piracicaba: CBNA, 1998. p. 1-20.

MACHADO, C.E.M. **Criação prática de peixes**. 8 ed. São Paulo: Nobel, 1982. p. 112.

MAC GREGOR, J. S. Fecundity of the pacific sardine (*Sardinops caerulea*). **Fishery Bull.** v.57, p. 527 – 99, 1957.

MAINARDES-PINTO, C. S. R. 1985 **Estudo comparativo do crescimento em cultivos monossexo de *Oreochromis (Osteichthyes, Cichlidae)***. 1985 São Paulo, 1985. 69 p, Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1985

MAZEUD, M.M.; MAZEUD, F. Adrenergic response to stress in fish. In: PICKERING, A.D. **Stress in fish**. London: London Academic, 1981. p.49-75.

MCLEAY, D.J. Development of a blood glucose sugar bioassay for rapidly measuring stressful levels of pulp mill effluent to salmonid fish. **Journal of the Fisheries Research Board of Canadá.** v.34, p. 477-485, 1977.

MERIGHE, G. K. F. ; SILVA, E. M. P. ; NEGRÃO, J. A. ; RIBEIRO, S. . Efeito da cor do ambiente sobre o estresse social em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rer. Bras. de Zoot.** v. 33, p. 828-837, 2005.

MILES, H.M.; LOEHNER, S.M.; MICHAUD, D.T.; SALIVAR, S.L. Physiological response of hatchery reared muskellunge (*Exos masquinongy*) to handling. **Transaction of the American Fisheries Society.** v. 103, p. 336-342, 1974.

MASSOU, A.M.; LE BAIL, P.Y.; PANFILI, J.; LAE, R.; BAROILLER, J.F.; MIKOLASEK, O. FONTENELLE, G. AUPERIN, B. Effects of confinement stress of variable duration on the growth and microincrement deposition in the otoliths of *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Journal of Fish Biology.** v. 65, p.1253-1269, 2004.

NASCIMENTO, E.F. **A tilapicultura e suas possibilidades no nordeste do Brasil**. Fortaleza, CE 1976. 36F. Tese Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1976.

NEGRAES, P.; FRANCO, L.; KRÖKER E.A.P.; SANTOS, F.M. **Guia de Plantas Mediciniais e Aromáticas (2003)**. Disponível em [http://boxer.ciagri.usp.br/pm/ver\\_1pl.asp](http://boxer.ciagri.usp.br/pm/ver_1pl.asp). Acesso em 25/09/20003.

NOAKES, D.L.G.; LEATHERLAND, J.F. social dominance and interregional cell activity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Pisces: Salmonidae). **Environmental Biology of Fishes**. v.2, p.131-136, 1977.

OCCHIUTO, F.; BUSA, G.; DE-PASQUALE, A. Study on the action mechanism of some flavones through registration of intracardiac potentials in anesthetized dogs. **Pharmacol. Res. Commun.** v. 20 (12), p. 1073 – 1074, 1988.

O'CONNOR, K.L.; METCALF, N.B.; TAYLOR, A.C. Does darkening signal submission in territorial contest between juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*? **Animal Behaviour**. v. 58, p. 1269-1276, 1999.

O'CONNOR, K.L.; METCALF, N.B.; TAYLOR, A.C. Familiarity influences body darkening in territorial disputes between juvenile salmon. **Animal Behaviour**. v. 59, p. 1095-1101, 2000.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Effect of short-term crowding stress on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response. **Fish and Shellfish Immunology**. v. 11, p. 187-197. 2001.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Lack of effect of combining different stressors on innate immune responses of seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 84, p.17-27, 2002.

PALMER, T.N.; RYMAN, B.E. Studies on oral glucose intolerance in fish. **Journal of Fish Biology**. v. 4, p. 311-319, 1972.

PEETERS, E.; DRIESSEN, B.; STEEGMANS, R.; HENOT, D.; GEERS, R. Effect of supplemental tryptophan, vitamin E, and a herbal product on responses by pigs to vibration. **Journal Animal Science**. v. 82, p. 2410-2420, 2004.

PETERS, G.; SCHWARZER, R. Changes in hemopoietic tissue of rainbow trout under influence of stress. **Diseases of Aquatic Organisms**. v.4, p. 83-89, 1985.

PETERS, G.; DELVENTHAL, H.; KLINGER, H. Physiological and morphological effects of social stress in the eel (*Anguilla anguilla* L.). **Arch Fischwiss**. v.30, p. 157-180, 1980.



PEZZATO, L.E. **Efeito de níveis de proteína sobre o crescimento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à reversão sexual**. 1984. 90p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

PICKERING, A.D. Introduction: The concept of biological stress. In: Pickering, A.D. **Stress and Fish**. Academic Press, London, p.1-9, 1981.

PICKERING, A.D. Rainbow trout husbandry: Management of the stress response. **Aquaculture**, v. 100, p. 125-139, 1992.

PICKERING, A.D. Growth and stress in fish production. **Aquaculture**. v. 111, p. 51-63, 1993.

PICKERING, A. D.;CHRISTIE, P. Changes in the concentrations of plasma cortisol and thiroxyne during sexual maturation of the hatchery-reared Brown trout, *Salmo Trutta L.* **General and Comparative Endocrinology**, v.44, p. 487-496, 1981.

POPMA, T.J., LOVSHIN, L.L. **Worldwide Prospects for Commercial Production of Tilápia**. 40p. 1994.

PORTO-FORESTI, F.; FORESTI, F. Genética e biotecnologia em piscicultura:usos na produção, manejo e conservação dos estoques de peixes. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**.São Paulo: TecArt, 2004. Cap.6, p.171-193.

PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de piscicultura tropical**. 1ed. Brasília: IBAMA/Imprensa Nacional, 1994. 195p.

REDDY, P.K.; LEATHERLAND, J.F. Stress Physiology. In: Leatherland, J.F.; Woo, P.T.K. **Fish diseases and disorders, v.2. Non-infections disorders**. New York: CABI Publishing, p279- 301, 1998.

REDDY, P.K.; VIJAYAN, M.M.; LEATHERLAND, J.F.; MOON, T.W. Does RU486 modify hormonal responses to handling stressor and cortisol treatment in fed and fasted rainbow trout? **Journal of Fish Biology**. v. 46, p. 341-359, 1995.

REHWALD, A.; STICHER, O.; MEIER, B. Trace Analysis of Harman Alkaloids in *Passiflora incarnata* by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography **Phytochem. Anal.** v. 6, p. 96 – 100, 1995.

RENDLE, A.B. **Classification of Flowering Plants**. Cambridge University press, Cambridge, 211 – 213, 1959.

REUBUSH, K.J.; HEATH, A.G. Metabolic response to acute handling by fingerling inland and anadromous striped bass. **Journal of Fish Biology**. v. 49, p. 830-841, 1996.

RODRIGUEZ, E.; CAVIN, J.C.; WEST, J.E. The possible role of amazonian psychoactive plants in the chemotherapy of parasitic worms — a hypothesis **J. Ethnopharmacol.** v. 5, p. 303 – 309, 1982.

ROTLLAND J.; TORT, T. Cortisol and glucose response after acute stress by handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. **Journal of Fish Biology**. v. 51, p. 21-28, 1997.

ROTLLAND J.; BALM, P.H.M.; PÉREZ-SANCHES, J.; WENDELAAR BONGA, S.E.; TORT, T. Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. , Teleostei) after handling and confinement stress. **General Comparative Endocrinology**. v. 121, p. 333-342, 2001.

RUANE, N.M.; HUISMAN, E.A.; KOMEN, J. Plasma cortisol and metabolite level profiles in two isogenic strains of common carp during confinement. **Journal of Fish Biology**. v. 59, p. 1-12, 2001.

SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; YAMAMOTO, T.; AKIYAMA, T.; MADRID, J.A.; TABATA, M. Selection of macronutrients by Goldfish operating self-feeders. **Physiology & Behaviour**. v. 65 (2), p. 211-218, 1998.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse noxious agents. **Nature**, p.138, 1936.

SIMMEN, U; BURKARD, W.; BERGER, K.; SCHAFFNER, W.; LUNDSTROM, K. Extracts and constituents of *Hypericum perforatum* inhibit the binding of various ligands to recombinant receptors expressed with the Semliki Forest virus system. **Journal of Receptor and Signal Transduction Research**. v. 19, p.59 – 74, 1999.

SCHRECK, C.B. Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. In: PICKERING, A.D. **Stress and fish**. London: Academic Press. 1981, p. 295-321.

SHERIDAN, M. Effects of thyroxine, cortisol, growth hormone and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. **General and Comparative Endocrinology**. v. 64, p. 220-238, 1986.

SMITH, L.S. **Introduction of fish physiology**. Los Angeles:T.H.F., 1982. P. 353.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.;BOUSTA, D.; MISLIN, R.; MORTIER, F. Behavioral effects of *P. incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 57, p. 11 – 20, 1997.

SOUZA, E.C.P.M., TEIXEIRA FILHO, A. R. **Piscicultura fundamental**. São Paulo: Nobel, 1985. 88p.

SPERONI, E.; MINGHETTI, A. Neuropharmacological activity of extract from *P. incarnata*. **Planta Medica**. v. 54, p.488 – 491, 1988.

SPERONI, E.; BILLI, R.; MERCATI, V.; BONCOMPAGNI, E.; TOJA, E. Sedative effects of crude extract of *Passiflora incarnata* after oral administration. **Phytother Res**. v. 10, p. 92 – 94, 1996 (a).

SPERONI, E.; BILLI, R.; PERELLINO, N.C.; MINGHETTI, A. Role of chrysin in the sedative effects of *P. incarnata* L. **Phytotherapy Research**. v. 10, p. 98 – 100, 1996(b).

STICKNEY, R.R. **Dissolved oxygen**. New York: Encyclopedia of aquaculture, 2000, p. 229-232.

STOTT, G. H. What is animal stress and how is it measured? **Journal of Animal Science**. v. 52 (1), 1981.

SUMPTER, J.P. The endocrinology of stress. In: IWANA, G.K. et al. **Fish Stress and Health in Aquaculture, Society for Experimental Biology Seminar Series 62**, Cambridge: Cambridge University Press, 1997, p 95-118.

SUTER, H.C.; HUNTINGFORD, F.A. Eye color in juvenile Atlantic salmon: effects of social status, aggression and foraging success. **Journal of Fish Biology**. v. 61, p. 606-614, 2002.

TAYLOR, L. **Maracuja, Herbal Secrets of the Rainforest**. Prime Publishing Inc., Austin, TX, 1996.

THOMAS, P.; ROBERTSON, L. Plasma cortisol and glucose stress response of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in handling and shallow water stressors and anesthesia with MS 222, quinaldine sulfate, and metomidate. **Aquaculture**. v. 96, p. 68-86, 1991.

TOGUYENI, A.; BAROILLER, J.F.; FOSTIER, A.; BAIL, P.Y.L.; KUHN, E.R.; MOL, K.A.; FAUCONNEAU, B. Consequences of food restriction on short-term growth variation and on plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. **General and Comparative Endocrinology**. v. 103, p. 167-175, 1996.

URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. Cap.6, p.171-193.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169 p.

VON BOREL, E. Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 44, p. 219 – 227, 1995.

VIJAYAN, M.M.; LEATHERLAND, J.F. Effect of stocking density on the growth and stress response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. **Aquaculture**. v. 75, p. 159-170, 1989.

VIJAYAN, M.M.; PEREIRA, M.C.; MOON, T.W. Hormonal stimulation of hepatocyte metabolism in rainbow trout following an acute handling stress. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 108C, p. 321-329, 1994 (a).

VIJAYAN, M.M.; REDDY, P.K.; LEATHERLAND, J.F.; MOON, T.W. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout. A study using the steroid analog RU486. **General and Comparative Endocrinology**. v. 96, p. 75-84, 1994 (b).

VIJAYAN, M.M.; PEREIRA, C.; GRAU, E.G.; IWANA, G.K. Metabolic response associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. **Comparative Biochemistry and Physiology C – Pharmacology, Toxicology & Endocrinology**. v. 116C, p. 89-95, 1997.

VIOLA, H.; MARDER, M.; WOLFMAN, C.; WASOWSKI, C.; MEDINA, J.H.; JORGE, H.; PALADINI, A.C. Central nervous system effects of natural and synthetic flavonoids. **Anales de la Asociacion Quimica Argentina**. v. 86, p.229 – 236, 1998.

VOLPATO, G.L.; BARRETO, R.E. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. **Braz. J. of Med. And Biol. Res.** v. 34, p. 1041-1045, 2001.

VOLPATO, G.L.; FRIOLI, P.M.A.; CARRIERI, M.P.; FERNADES, M.O.; SARTORI, D.R.S.; BELICIO, H.C. Comportamento de dominância e crescimento em peixes. In: COSTA, M.J.R.P.; NASCIMENTO JÚNIOR, A.F., eds. **Anais de Etologia**, Jaboticabal, 1987. v.5, p.169-194.

VOLPATO, G.J.; FRIOLI, P.M., CARRIERI, M.P. Heterogeneous growth in fishes: some data in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and a general view about the casual mechanisms. **Biol. Fisiol. Anim.**, v. 13, p. 7-22, 1989.

VOLPATO, G.L.; LUCHIARI, A.C.; DUARTE, C. R. A.; BARRETO, R.E; RAMANZINI, G.C. Eye color as an indicator of social rank in the fish Nile tilapia. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 36 (12), p. 1659-1663, 2003.

WEATHERLEY, A. H. **Growth and ecology of fish populations**. Academic Press Inc., 1972. 293 p.

WEDEMEYER, G.A. Physiological response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to handling and crowding stress in intensive fish culture. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**. v. 33, p. 2699-2702, 1976.

WEDEMEYER, G.A. **Physiology of fish in intensive culture system**. Nova York: Chapman & Hall, 1996, 232p.

WEDEMEYER, G.A.; BARTON, B.A.; MCLEAY, D.J. Stress and acclimation. In: Schreck, C.B. and Moyle, P.B. (eds) **Methods for Fish Biology**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, p.451-489, 1990.

WINBERG S.; NILSSON G.E. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behavior and stress reactions, with particular reference to fish. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology**. v. 106(3), p. 597-614, 1993.

WIRTZ, P.; DAVENPORT, J. Increase oxygen consumption in blennies (*Blennius pholis* L.) exposed to their mirror images. **Journal of Fish Biology**. v. 9 (1), p. 67-74, 1976.

WOHLFARTH, G.W. Shoot carp. **Bamidgeh**. v. 29 (2), p. 35-40, 1977.

WOOTTON, R. J. **Ecology of teleosts fishes**. London: Chapman and Hall, 1990. 404 p.

YAMAGISHI H. Growth relation in some small experimental populations of rainbow trout fry, *Salmo gairdneri* R. with special reference to social relations among individuals. **Japanese Journal of Ecology**. v. 12, p. 43-53, 1962.

YAUNCEY, D.R., MENEZES, J.R.R. **Manual de criação de peixes**. Campinas: Fundação Cargil, 1982. 109p.

YÚFERA, M. FERNADEZ-DIAZ, C.; PASCUAL, E. Food microparticles for larval prepared by internal gelation. **Aquaculture**. v. 248, p. 253-262, 2005.

ZANOLI, P.; AVALLONE, R.;BARALDI, M. Behavioral characterization of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia**. v. 71, p. 117 – 123, 2000.

ZAR, J.H. **Bioestatistical analysis**. 2.ed. Englewood: Englewood Cliffs Prentice-Hall, 1984. 718p.

ZAYAN, R. The specificity of social stress. **Behav. Proc.**, v. 25, p. 81-93, 1991.

# **ANEXOS**