

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
COMITÊ CIENTÍFICO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUMINOSIDADE COMO MODULADOR DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM
JUVENIS DE *Aequidens pallidus* (Cichlidae)

Bolsista: Carolina Gomes Sarmiento, CNPq

MANAUS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
COMITÊ CIENTÍFICO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RELATÓRIO FINAL

PIB-B/0051/2014

LUMINOSIDADE COMO MODULADOR DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM
JUVENIS DE *Aequidens pallidus* (Cichlidae)

Bolsista: Carolina Gomes Sarmento, CNPq

Orientadora: Prof^a Dr^a Thaís Billalba Carvalho

MANAUS

2015

Sumário

1. RESUMO.....	4
2. INTRODUÇÃO.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 ACLIMATAÇÃO E MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS.....	7
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	8
3.3 ANÁLISE DE DADOS.....	10
3.4 NOTA ÉTICA	10
4. RESULTADOS	10
5. DISCUSSÃO.....	12
6. REFERÊNCIAS.....	13

1. Resumo

Alterações da luminosidade ambiental podem gerar situações potencialmente estressoras e, portanto, o controle desse fator abiótico é de grande importância para a manutenção do estado de saúde e bem estar em peixes. Assim, este estudo tem por objetivo testar o efeito da intensidade luminosa sobre parâmetros bioquímicos em juvenis de *Aequidens pallidus*. Para isso, os animais foram mantidos sob condição de isolamento por oito dias e submetidos a dois níveis de intensidade luminosa: menor: $228 \pm 38,6$ lx e maior: $1377,06 \pm 670,47$ lx ($n=12$ / cada). No início e ao fim do período de isolamento, os animais foram anestesiados por imersão em eugenol ($64 \mu\text{L/L}$) para a realização das medidas biométricas e coleta de sangue. Os níveis plasmáticos de glicose (mg.dL^{-1}), triglicerídeos (mg.dL^{-1}), colesterol (mg.dL^{-1}) e proteínas totais (g.dL^{-1}) foram obtidos por meio da utilização de kits enzimáticos-colorimétricos específicos. Durante a manipulação dos animais o tempo de anestesia foi registrado em $220 \pm 73,6$ s, a coleta de sangue em 163 ± 106 s e a recuperação do animal em 356 ± 126 s. Os animais utilizados tiveram em média $41,0 \pm 4,77$ g e $10,2 \pm 0,5$ cm. Os valores médios para os parâmetros bioquímicos foram semelhantes aos encontrados para outro ciclídeo. Além disso, foi observada uma redução nos valores da glicose, triglicerídeos e proteína total no final do período de isolamento no tratamento de menor luminosidade. No tratamento de maior intensidade luminosa, a glicose e o triglicerídeo também apresentaram redução. No entanto, não foi observada diferença entre os tratamentos experimentais, o que indica que a luminosidade não atua como um estressor. Assim, pretende-se colaborar com o conhecimento de respostas fisiológicas frente a alterações ambientais e a avaliação de condição de cultivo adequada para uma espécie de ciclídeo ornamental amazônico.

Palavras-chave: intensidade luminosa, estresse, bem estar, ciclídeo

2. Introdução

A luminosidade é uma condição ambiental essencial para a sobrevivência dos peixes, pois regula muitas atividades e padrões fisiológicos desses animais (Helfman 1993; Biswas *et al.* 2002; Reynalte-Tataje *et al.* 2002; Almazán-Rueda *et al.* 2005; Rick e Bakker 2008). A luz é o principal fator responsável pelo controle do ritmo biológico dos organismos (Volpato e Trajano 2006; Zhdanova e Reebbs 2006) e apresenta diferentes efeitos na taxa de crescimento e no desenvolvimento larval (Imsland *et al.* 2006; Mendonça *et al.* 2009). Esse fator ambiental também atua no controle da atividade alimentar (Biwas *et al.* 2006), na reprodução (Biwas *et al.* 2005), no comportamento agressivo (Almazán-Rueda *et al.* 2004) e na osmorregulação (Wendelaar-Bonga 1997; Gutierre 2011).

Alta taxa de luminosidade pode ser irritante e prejudicial para os peixes, tornando-se um potencial estressor (Boeuf e Le Bail 1999; Stefánsson *et al.* 2002). Mendonça *et al.* (2009) e Bizarro (2013) mostraram que diferentes fotoperíodos afetam variáveis indicadoras de estresse em *Oreochromis niloticus* e *Colossoma macropomum*. No entanto, existem poucos estudos avaliando a intensidade luminosa como um agente estressor (ex. Carvalho 2009).

Na aquicultura a manutenção de fatores ambientais é essencial, uma vez que pode expor os animais à baixa qualidade de água, variações de luminosidade e de temperatura (Baldiasserotto 2002; Livengood e Chapman 2007). As condições ambientais de estocagem e comercialização de espécies ornamentais também devem ser consideradas, pois os peixes são submetidos a uma série de situações que atuam como potenciais estressores (ex. Waichman *et al.* 2001), podendo gerar uma redução na produtividade com o aumento na ocorrência de doenças e mortalidade (Conte 2004). De fato, a manutenção inadequada da luminosidade em sistemas de criação pode gerar situações estressoras desencadeando alterações na fisiologia de peixes (Hawkins e Anthony 1981; Almazán-Rueda *et al.* 2005; Karakatsouli *et al.* 2008) e, portanto, o controle dessa condição é de grande importância para o estado de saúde e bem estar destes animais.

A exposição a um agente estressor gera uma série de alterações bioquímicas e fisiológicas que fornecem o aporte necessário para reestabelecimento homeostático do animal. Nessas situações a primeira opção do peixe é mudar de ambiente (Baldiasserotto 2002), no entanto, nem sempre estes animais podem tomar essa iniciativa. Quando não se tem para onde fugir (ex. ambientes limitados ou cativeiros)

a resposta é iniciada a partir da liberação das catecolaminas (ex. adrenalina e noradrenalina) imediatamente a exposição ao estresse devido à inervação simpática das células cromafínicas. A presença das catecolaminas promove a diminuição do balanço hidromineral, isso se deve ao aumento no fluxo sanguíneo nas brânquias que promove o aumento das trocas iônicas (Wendelaar-Bonga 1997). Além disso, gera um aumento nos níveis séricos de glicemia devido à liberação de corticóides em condição de estresse (Barcellos *et al.* 2000; Silva 2008).

Com contínuo estímulo ao hipotálamo ocasionado pelos estressores, a liberação do fator liberador de corticotrofina (CRH) é acarretada gerando a liberação do cortisol no tecido interrenal (Wendelaar-Bonga 1997). O cortisol é um hormônio glicocorticóide, conhecido como “hormônio do estresse” que atua junto com as catecolaminas em alterações fisiológicas do animal desempenhando papel fundamental na adaptação metabólica do peixe requerendo grande demanda energética em situações crônicas de estresse como, por exemplo, a exposição prolongada a alta intensidade de luminosidade (Barcellos *et al.* 2000).

Silva *et al.* (2012) também verificou que o colesterol é encontrado em níveis baixos sob estresse podendo indicar o consumo para obtenção de pregnenolona, que é precursora na síntese de cortisol. Além disso, altos níveis de glicose são mantidos após ação das catecolaminas e por atuação do hormônio do estresse (Barcellos *et al.* 2000). De fato, estudos mostraram que o cortisol diminui a resposta dos hepatócitos a insulina, aumentando assim o nível de glicose circulante (Vijayan *et al.* 1994). Segundo Wendelaar-Bonga (1997), o cortisol ainda promove alterações no balanço hidromineral, proteínas musculares, função imune e crescimento de peixes.

De fato, animais aquáticos são constantemente expostos a alterações ambientais (ex. hipóxia, temperatura, pH, luminosidade e concentração iônica) que podem afetar variáveis fisiológicas (Marcon 1996; Moraes 2002; Sloman *et al.* 2002; Sneddon *et al.* 2006; Carvalho *et al.* 2012; Silva *et al.* 2012; Obemeata *et al.* 2012; Bizarro 2013), promovendo ajustes bruscos que requerem grande demanda energética. Assim, Tavares-Dias *et al.* (2009) revela que essas variáveis podem ser utilizadas como indicadores biológicos no monitoramento da saúde dos peixes expostos a alterações físicas ambientais.

Parâmetros hematológicos em peixes (ex. hematócrito, concentração de hemoglobina e número de eritrócitos) indicam a capacidade de transporte de

oxigênio pelo sangue que supre o aumento da demanda energética, podendo sugerir uma situação estressora (Tavares-Dias e Moraes 2004). Variáveis bioquímicas plasmáticas (ex. glicose, colesterol, proteínas totais e triglicerídeos) representam respostas secundárias a estressores, pois desencadeiam uma série de ajustes metabólicos e, portanto, atuam como indicadores de gasto energético (Selye 1978; Wendelaar-Bonga 1997; Tavares-Dias *et al.* 2000). Diante do exposto, o conhecimento de variáveis hematológicas e bioquímicas permite o controle de fatores que afetam o estado fisiológico e o bem estar em peixes.

Uma espécie do gênero *Aequidens* foi escolhida, pois estudos mostraram que a intensidade luminosa afeta o comportamento agressivo (PIB-B/0020/2013) e, desse modo, sugere-se que pode afetar a fisiologia. Esse gênero possui espécies muito comuns no entorno da cidade de Manaus, principalmente em igarapés (Bührnheim 2002; Claro-Jr 2002; Sousa 2002). Além disso, apresenta espécies com captura permitida para fins ornamentais (Brasil 2012), sendo assim, muito apreciada na aquariofilia devido ao seu padrão de coloração que apresenta manchas e linhas características.

Compreender a fisiologia das espécies, suas respostas frente a diferentes alterações ambientais e as técnicas de criação, permitem o aprimoramento de melhores condições de cultivo (Silveira *et al.* 2009). Segundo Galhardo e Oliveira (2006), estudos que relacionem fatores ambientais ao bem estar dos peixes são necessários, pois esse conhecimento vem para moldar normas de boas práticas, linhas de orientação e legislação. Apesar da grande importância comercial, estudos relacionando o efeito de fatores abióticos sobre indicadores de estresse em espécies ornamentais são pouco conhecidos. Diante disso, o presente estudo busca colaborar com o conhecimento de respostas fisiológicas frente a alterações ambientais e a determinação de condição de cultivo adequada para a espécie, tendo como objetivo testar se a intensidade luminosa atua como um agente estressor em juvenis de *Aequidens pallidus*.

3. Material e Métodos

Aclimação e Manutenção dos Animais

Os exemplares de *Aequidens pallidus* (**Figura 1**) foram coletados em corpos d' água da propriedade Três Irmãos localizada na Rodovia AM 070, município de Iranduba-AM. Após isso, os espécimes foram aclimatados e mantidos no Laboratório

Experimental de Fisiologia e Comportamento de Animais Aquáticos (UFAM) em caixa de polietileno de 310 L (1 animal/5L). Durante esse período, a temperatura foi mantida em média de 28 °C, a intensidade luminosa em $182 \pm 10,3$ lx e o fotoperíodo em 12L:12D (07:00 h às 19:00 h). Filtros biológicos permitiram a manutenção de níveis adequados de qualidade de água e os animais foram alimentados com uma ração comercial (32% de proteína) oferecida duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).



Figura 1. Exemplar de *Aequidens pallidus*.

Delineamento Experimental

Foram avaliados os níveis plasmáticos de glicemia, colesterol, triglicerídeos e proteínas totais em juvenis de *Aequidens pallidus*. Os espécimes foram mantidos sob condição de isolamento por oito dias e submetidos a dois níveis de intensidade luminosa: menor: $228 \pm 38,6$ lx e maior: $1377,06 \pm 670,47$ lx ($n=12$ / cada; **Figura 2**).



Figura 2. Tratamento experimental de menor (A) e maior (B) intensidade luminosa.

A média da intensidade luminosa em cada condição experimental foi obtida a partir de 15 pontos amostrados no aquário. A maior intensidade de luz foi emitida por duas lâmpadas fluorescentes de 7 W fixadas a 7,5 cm da superfície da água do aquário. A menor intensidade foi obtida a partir da iluminação convencional do

laboratório. A intensidade luminosa foi mensurada com o auxílio de um luxímetro digital portátil para averiguação da constância de luz emitida pelas lâmpadas.

Os aquários (50 X 40 X 16 cm ~ 32L) foram revestidos externamente por plástico azul opaco em três laterais para evitar contato visual com animais de aquários vizinhos no laboratório. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse em outra espécie de ciclídeo, *Oreochromis niloticus* (Volpato e Barreto 2001).

A qualidade da água foi mantida por meio de filtro biológico, aeração constante e controle de pH, amônia e nitrito. A temperatura da água foi controlada para 27 °C e a alimentação dos animais consistiu de ração para peixes tropicais na proporção de 2% da biomassa oferecida 2 horas antes do término do período de luz.

Os animais foram selecionados de maneira aleatória e submetidos à condição experimental. Antes e após o período de isolamento, os peixes foram anestesiados por imersão em eugenol (64 µL/L) para a realização das medidas biométricas e coleta de sangue. A coleta de sangue foi precedida por 12 horas de jejum. O peixe foi considerado anestesiado quando ocorreu perda postural, falta de reação motora a estímulo e manutenção da ventilação, critérios compatíveis com o estágio II de anestesia, como descrito por Iwama *et al.* (1989) (**Figura 3**) para a truta arco-íris. O sangue foi coletado por punção do vaso caudal (0,3 a 0,5ml por coleta), com a utilização de seringas descartáveis de 1 ml contendo anticoagulante (heparina). Em seguida, o material foi centrifugado para coleta do plasma (3000 rpm / 15 min), o qual foi congelado a -20 °C para análises bioquímicas. Os períodos de anestesia, coleta de sangue e recuperação do animal foram registrados, a fim de detectar possíveis influências dessas manipulações nas variáveis fisiológicas analisadas. Os níveis plasmáticos de glicose (mg.dL⁻¹), colesterol (mg.dL⁻¹), triglicerídeos (mg.dL⁻¹), e proteínas totais (g.dL⁻¹) foram obtidos por meio da utilização de kits enzimáticos-colorimétricos específicos.



Figura 3. Animal anestesiado por imersão em eugenol.

Análise de Dados

Foi analisada a existência de valores discrepantes, sendo os dados testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variância pelo teste F max (Zar 1999). Os parâmetros bioquímicos (proteína total, glicose, colesterol e triglicerídeos) entre os diferentes níveis de intensidade luminosa foram comparados por teste t independente (teste paramétrico) ou por Mann-Whitney (teste não paramétrico). Foi considerado $p \leq 0,05$ para significância estatística. Todas as análises são baseadas em Zar (1999) e Siegel e Castellan (2006).

Nota Ética

Este estudo está de acordo com os Princípios Éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e registrado sob protocolo de nº 012/2013 na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFAM, Manaus, AM.

4. Resultados

O tempo de anestesia foi registrado em $220 \pm 73,6$ s, a coleta em 163 ± 106 s e a recuperação do animal em 356 ± 126 s. Os animais utilizados tiveram em média $41,0 \pm 4,77$ g e $10,2 \pm 0,5$ cm. Os valores médios para os parâmetros bioquímicos avaliados foram semelhantes aos descritos por Silva *et al.* (2012) para *Oreochromis niloticus* (**Tabela 1**).

Tabela 1. Média ($\pm$ desvio padrão) de proteína total (g.dL^{-1}), glicose (mg.dL^{-1}), triglicerídeos (mg.dL^{-1}) e colesterol (mg.dL^{-1}) no início e final do experimento e em cada intensidade luminosa.

Tratamento	Proteína total		Glicose		Triglicerídeos		Colesterol	
	início	final	início	final	início	final	início	final
Menor intensidade	$6,43 \pm 3,09$	$2,79 \pm 0,78$	$56,9 \pm 17$	$36,2 \pm 10$	$344,4 \pm 101$	$220,4 \pm 98$	$212,8 \pm 59$	$266,9 \pm 135$
Maior intensidade	$4,4 \pm 0,5$	$2,38 \pm 0,38$	78 ± 21	43 ± 25	259 ± 76	$236,9 \pm 129$	237 ± 58	242 ± 51
t/Z	0,96	0,00	-1,39	-0,63	0,00	0,25	0,00	0,00
p	0,35	1,00	0,17	0,53	1,00	0,8	1,00	1,00

Foi observada uma redução no final do experimento para a proteína total, glicose e triglicerídeos no tratamento de menor intensidade luminosa (teste t dependente, $t = 3,22$; $df = 6$; $p > 0,02$; **Figura 4A**). Além disso, no tratamento de maior luminosidade também houve uma diminuição nos valores de glicose e triglicerídeos (teste t dependente, $t = 2,96$; $df = 10$; $p > 0,01$; **Figura 4B**). No entanto, não houve diferença entre os tratamentos experimentais (**Tabela 1**).

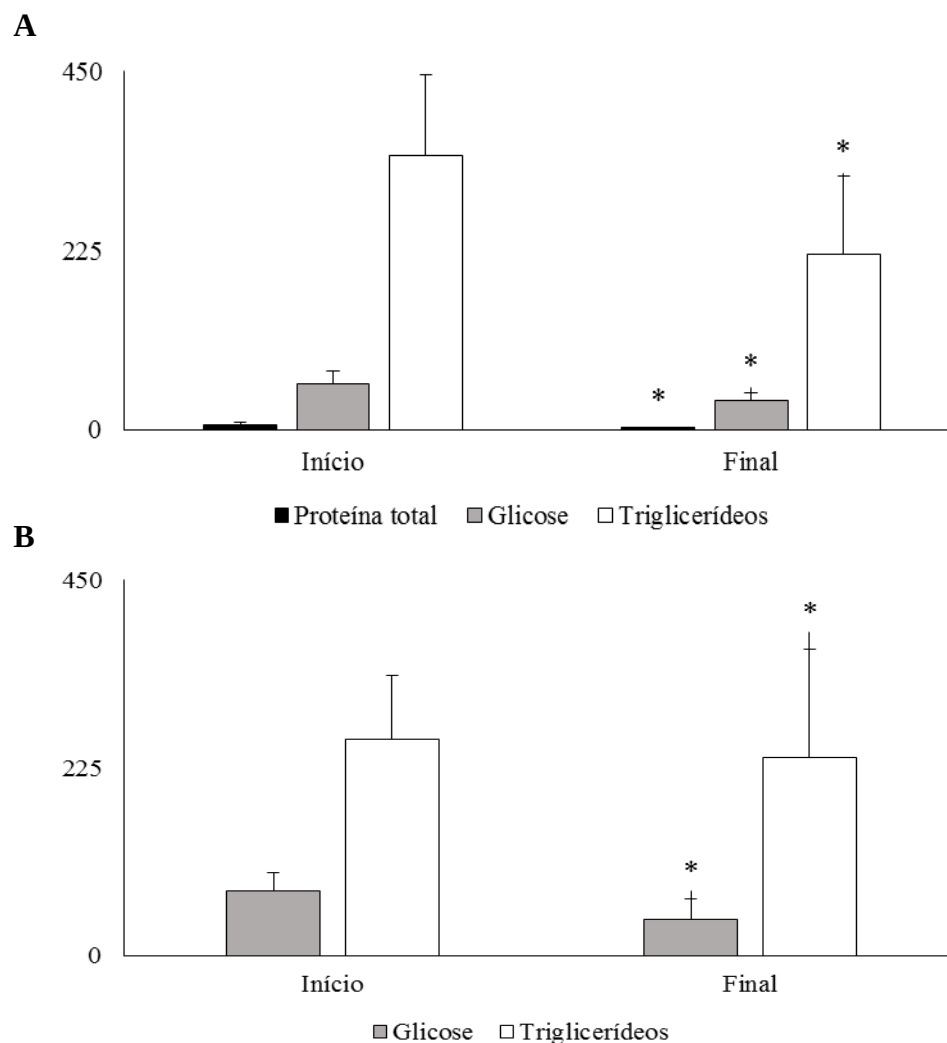


Figura 4. Média ($\pm$ desvio padrão) de proteína total, glicose e triglicerídeos nos tratamentos de menor intensidade luminosa (**A**) e maior intensidade luminosa (**B**). Asterisco indica diferença significativa entre os períodos de observação (teste t dependente, $t = 3,22$; $p > 0,02$).

5. Discussão

De acordo com Moraes (2002), as variáveis bioquímicas são vitais nas estratégias de adaptação ambiental em peixes e, portanto, podem ser utilizadas como indicadores de estresse. Essas respostas diferem entre as espécies peixes e podem variar de acordo com a intensidade e duração do estresse sofrido (Brandão *et al.* 2006).

Em situações estressoras os ajustes metabólicos iniciados pela presença das catecolaminas envolvem diminuição do balanço hidromineral e colesterol, aumento dos níveis de glicose circulante e alterações em proteínas musculares e função imune (Wendelaar-Bonga 1997). Os resultados encontrados mostram que a intensidade luminosa não interferiu no perfil bioquímico plasmático de *Aequidens pallidus*, pois os valores de proteína total, colesterol, triglicerídeo e glicemia foram semelhantes entre os tratamentos. Uma possível explicação é que a maior intensidade luminosa (1.628 ± 113 lx) e o tempo de exposição à mesma não atingiu o nível crítico para a espécie e, portanto, equivale ao intervalo ótimo de luminosidade para a espécie estudada. De fato, essa mesma resposta foi descrita para outras espécies de ciclídeos, *Geophagus proximus* e *Pterophyllum scalare*, conforme descrito por Carvalho *et al.* (2012).

Contrariando o exposto, em ambos os tratamentos foi observado efeito nos níveis plasmáticos de glicose e triglicerídeos em relação ao período de observação. Esses resultados indicam que o isolamento social pode desencadear uma resposta estressora. De fato, os peixes da família Cichlidae apresentam organização social baseada em hierarquia de dominância e defesa territorial (Baerends e Baerends Van-Roon 1950), sendo que o isolamento pode ocasionar maior gasto energético e, conseqüentemente, interferir nos níveis dos parâmetros bioquímicos plasmáticos.

De acordo com Brandão *et al.* (2006) e Takahashi *et al.* (2006), peixes submetidos a condições estressoras podem apresentar diferentes concentrações nos parâmetros indicadores (ex. cortisol, lactato e glicose) dependendo do tempo de exposição. As respostas a um estressor iniciam em geral, com a presença de hormônios (ex. catecolaminas e cortisol), seguido de alterações em parâmetros sanguíneos e plasmáticos (ex. hematócrito e glicose) que afetam padrões de comportamento, reprodução, crescimento e saúde (Wendelaar-Bonga 1997).

A tilápia-do-Nilo, por exemplo, apresenta um aumento nas concentrações de glicose nas primeiras horas de contato com o estressor seguido pela progressiva

diminuição ao longo do tratamento. Nesse sentido, sugere-se que a glicose pode aumentar os níveis no início da exposição ao estressor e diminuir para níveis normais no prazo de 24 horas (Evans *et al.* 2006). Diante disso, a resposta ao estressor pode não ter sido observada, pois o protocolo experimental avaliou os parâmetros no início e no fim do tratamento. Os resultados obtidos indicam que a avaliação das variáveis bioquímicas apenas no início e no fim do tratamento pode não mostrar satisfatoriamente a resposta ao estresse gerado pela intensidade luminosa. Assim sugere-se a avaliação dos parâmetros em diferentes momentos do isolamento, inclusive dentro das primeiras horas de exposição à luminosidade.

De fato, em estudo anterior (PIB-B/0020/2013) foi encontrada uma redução em parâmetros hematológicos (hematócrito e hemoglobina corpuscular média- HCM) no final do experimento (mesmo protocolo experimental) que indica o comprometimento na capacidade de transporte de oxigênio, evidenciando o resultado observado como uma provável resposta fisiológica ao estresse causada pelo isolamento social.

Os resultados mostram que a intensidade luminosa não atuou como agente estressor e modulador de parâmetros bioquímicos em *A. pallidus*. Este estudo contribui para a documentação de resposta ao estresse em peixes e estabelecimento de valores plasmáticos de referência em ciclídeos amazônicos que poderão ser utilizados como base para comparação com dados desta espécie submetida a outras condições ambientais.

6. Referências

- Almazán-Rueda, P.; Schrama, J.W.; Verreth, J.A.J. 2004. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*, 231: 347-359.
- Almazán-Rueda, P.; Van-Helmond, A.T.M.; Verreth, J.A.J.; Schrama, J.W. 2005. Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 67: 1029-1039.
- Baldisserotto, B. 2002. *Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura*. Editora UFSM, Santa Maria, 211p.
- Barcellos, L.J.G.; Souza, S.M.G.; Woehl, V.M. 2000. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (Revisão). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 26(1): 99-111.

- Bayarri, M.J.; Madrid, J.A.; Sánchez-Vázquez, F.J. 2002. Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32: 34-40.
- Biswas, A.K.; Takeuchi, T. 2002. Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed adult tilapia *Oreochromis niloticus*: Part II. *Fish Science*, 68: 543-553.
- Bizarro, Y.W.S. 2013. *Efeito do Fotoperíodo na Glicemia, Cortisol, Parâmetros Hematológicos e nos Índices reprodutivos de machos de Tilápia (Oreochromis niloticus) linhagem GIFT*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 49p.
- Boeuf, G.; Le Bail, P.Y. 1999. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177: 129-152.
- Brandão, F.R.; Gomes, L.C.; Chagas, E.C. 2006. Stress responses of pirarucu (*Arapaima gigas*) during routine aquaculture practices. *Acta Amazonica*, 36(3): 349-356.
- Brasil. 2012. Instrução Normativa Interministerial Nº 001, de 3 de janeiro de 2012. Estabelece normas, critérios e padrões para a exploração de peixes nativos ou exóticos de águas continentais com finalidade ornamental ou de aquariofilia, (http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Instrucao_normativa/2012/in_inter_mpa_mma_01_2012_exploracaopeixesnativosexoticosaguascontinentais.pdf). Acesso em 03/04/2014.
- Bührnheim, C.M. 2002. Heterogeneidade de habitats: rasos x fundos em assembleias de peixes de igarapés de terra firme na Amazônia Central, Brasil. *Revta bras. Zool*, 19(3): 889 – 905.
- Carvalho, T.B. 2009. A interferência da luminosidade na agressividade e na hierarquia social de ciclídeos. Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), Jaboticabal, SP. 98p.
- Carvalho, T.B.; HA, J.C.; Gonçalves-de-Freitas, E. 2012. Light intensity can trigger different agonistic responses in juveniles of three cichlid species, *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 1-10.
- Claro-Jr, L.H. 2002. Influência de parâmetros físicos na riqueza de peixes em igarapés de terra firme na Amazônia Central. In: Zuanon, J.; Venticinque, E. *Curso de Campo Ecologia da Floresta Amazônica*. Instituto Nacional de Pesquisa, p. 138-141.

- Conte, F.S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behavior Science*, 86: 205-223.
- Ebadi, M.; Samejima, M. & Pfeiffer, R.F. 1993. Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. *NIPS*, 8: 30-33.
- Evans, J.J.; Pasnik, D.J.; Brill, G.C.; Klesius, P.H. 2006. Un-ionized Ammonia Exposure in Nile Tilapia: Toxicity, Stress Response, and Susceptibility to *Streptococcus agalactiae*. *North American Journal of Aquaculture*, 68(1):23-33.
- Galhardo, L.; Oliveira, R. 2006. Bem estar animal: um conceito legítimo para peixes? *Revista de Etologia*, São Paulo 8: 51-61.
- Ekström, P. & Meissl, H. 1997. The pineal organ of teleost fishes. *Review in Fish and Fisheries*, 7: 199-284.
- Gutierre, S.M.M. 2011. *Ferramentas fisiológicas para avaliação do potencial invasor de peixes dulcícolas*. Dissertação de mestrado, Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. 72p.
- Hawkins, A.D.; Anthony, P.D. 1981. Aquarium design and construction. In: Hawkins, A.D. (Org.). *Aquarium systems*. Academic Press. London.
- Helfman, G.S. 1993. Fish Behaviour by Day, Night and Twilight. In: Pitcher, T.J. *Behaviour of Teleost Fishes*. Chapman e Hall, London, 715p.
- Imsland, A.K.; Foss, A.; Stéfansson, S.O.; Mayer, I.; Norberg, B.; Roth, B.; Jenssen, M.D. 2006. Growth, feed conversion efficiency and growth heterogeneity in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at three different photoperiods. *Aquaculture Research*, 37: 1099-1106.
- Iwama, G.K.; McGeer, J.C.; Pawluk, M.P. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology*, 67: 2065-2073.
- Karakatsouli, N.; Papoutsoglou, S.E.; Panopoulos, G.; Paapoutsoglou, E.S.; Chandio, S.; KalogiaNnis, D. 2008. Effects of light spectrum on growth and stress response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculating system conditions. *Aquacultural Engineering*, 38: 36-42.
- Livengood, E.J.; Chapman, F.A. 2007. The Ornamental Fish Trade: An Introduction with Perspectives for Responsible Aquarium Fish Ownership. IFAS, *Extension-University of Florida*.

Marcon, J.L. 1996. *Estresse oxidativo em duas espécies de teleósteos amazônicos, Astronotus ocellatus e Colossoma macropomum, expostos a diferentes tensões de oxigênio: uma abordagem comparativa*. Tese de Doutorado, PPG-BTRN/INPA-UFAM, Manaus, Amazonas. 132p.

Mendonça, P.P.; Ferreira, R.A.; Vidal Junior M.V.; Andrade, D.R.; Santos, M.V.B.; Ferreira, A.V.; Rezende, F.P. 2009. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arch. Zootec.*, 58 (223): 323-331.

Moraes, G.; Avilez, I.M.; Altran, A.E.; Barbosa, C.C. 2002. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. *Braz. J. Biol.*, 62 (4): 633-640.

Munro, A.D. 1986. Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). *Journal of Pineal Research*, 3: 257-262.

Obemeata, O.; Aduabobo, H.; Wokoma, E. 2012. Acute haematological response of a cichlid fish *Sarotherodon melanotheron* exposed to crude oil. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4: 151-155.

Pitcher T.J. 1993. *Behaviour of Teleost Fishes*. Chapman & Hall, London, 715p.

Reynalte-Tataje, D.; Luz, R.K.; Meurer, S.; Zaniboni-Filho, E.; Nuñez, A.P.O. 2002. Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Osteichthyes, Characidae). *Acta Scientiarum*, 24: 439-443.

Rick, I.P.; Bakker, T.C.M. 2008. UV wavelengths make female three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) more attractive for males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62: 439-445.

Selye, H. 1978. The evolution of stress concept. *American Scientific*, 61: 692-699.

Siegel, S.; Castellan Jr., N. 2006. *Estatística Não-Paramétrica para Ciências do Comportamento*. Artmed, Porto Alegre, 448 p.

Silva, F.M.O. 2008. *Perfil hematológico, bioquímico sérico, nutricional e biométrico de filhotes de peixe-boi marinho (Trichechus manatus manatus linnaeus, 1758) mantidos em cativeiro no Centro Mamíferos Aquáticos – CMA /ICMBio, Ilha de Itamaracá, PE*. Dissertação de Mestrado, Universidade Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária. 83p.

Silva, R.D.; Rocha, L.O.; Fortes, B.D.A.; Vieira, D.; Fioravanti, M.C.S. 2012. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(1).

- Silveira, U.S.; Logato, P.V.R.; Pontes, E.C. 2009. Fatores estressantes em peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, 6(4): 1001-1017.
- Sloman, K.A.; Wilson, L.; Freel, J.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B.; Gilmour, K.M. 2002. The effects of increased flow rates on linear dominance hierarchies and physiological function in brown trout, *Salmo trutta*. *Canadian Journal of Zoology*, 80: 1221-1227.
- Sneddon, L.U.; Hawkesworth, S.; Braithwaite, V.A.; Yerbury, J. 2006. Impact of environmental disturbance on the stability and benefits of individual status within dominance hierarchies. *Ethology*, 112: 437-447.
- Sousa, L.M. 2002. Abundância e riqueza da ictiofauna em trechos de um igarapé na Reserva do km 41, Manaus, AM. In: Zuanon, J.; Venticinque, E. *Curso de Campo Ecologia da Floresta Amazônica*. Instituto Nacional de Pesquisa, p. 94-96.
- Stefánsson, M.O.; Fitzgerald, R.D.; Cross, T.F. 2002. Growth, feed utilization and growth heterogeneity in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) under different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 33: 177-187.
- Takahashi, L.S.; Abreu, J.S.; Biller, J.D.; Urbinati, E.C. 2006. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 28(4): 469-475.
- Tavares-Dias, M.; Schalch, S.H.C.; Silva, E.D.; Martins, M.L.; Moraes, F.R. 2000. Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) cultivada intensivamente em "Pesque-Pague" do município de Franca, São Paulo, Brasil. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, 16: 76-82.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Villimpress, Ribeirão Preto.
- Tavares Dias, M. Ishikawa, M.M. Martins, M.L. Satake, F. Hisano, H. Pádua, S.B. Jerônimo, G.T. Sant'ana, A.R. 2009. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: Saran-Neto; Mariano, W.S.; Pozzobon-Soria. (1 ed). *Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal*. Pedro e Joao Editores, São Carlos, São Paulo, p.44-80.
- Vijayan, M.M.; Reddy, P.K.; Leatherland, J.F.; Moon, T.W. 1994. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486. *General and Comparative Endocrinology*, Dulutin, 96: 75-84.
- Volpato, G.L.; Barreto, R.E. 2001. Environmental blue light prevents stress in Nile tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 1041-1045.

- Volpato, G.L.; Trajano, E. 2006. Biological Rhythms. In: Val, L.A.; Val, V.M.F.A.; Randall, D.J. (Org.); *Fish Physiology*. Elsevier e Academic Press, San Diego, p.101-153.
- Waichman, A.V.; Pinheiro, M.; Marcon, J. L. 2001. Water quality monitoring during the transport of Amazonian ornamental fish. In: Chao, N.L.; Petry, P.; Prang, G.; Sonneschien, L.; Tlusty, N. (Org.). *Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazônia, Brazil- Project Piaba*. EDUA, Manaus. p.279.
- Wendelaar-Bonga, S.E. 1997. The Stress Response in Fish. *Physiological Reviews*, 77 (3): 593-625.
- Zar, J. 1999. *Biostatistical Analyses*. Printice Hall, New Jersey.
- Zhdanova, I.V.; Reeb, S.G. 2006. Circadian Rhythms in Fish. In: Sloman, K.A.; Wilson, R.W.; Balshine, S. (Org.); *Behaviour and Physiology of Fish*. Academic Press, San Diego, p.197-228.