



1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

MELATONINA COMO MODULADOR DA AGRESSIVIDADE E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM MATRINXÃ, *Brycon amazonicus*

Orientador

Thaís Billalba Carvalho

Aluno

Damy Caroline de Melo Souza

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

SIM

NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

SIM

NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

SIM

NÃO

2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.

3. Introdução

Atualmente, no Brasil, já é possível obter uma produtividade economicamente viável com o uso das tecnologias vigentes. De fato, observa-se um aumento de 38,04% da produção de pescado da aquicultura continental entre os anos de 2009 e 2011 (MPA, 2013). Aspectos favoráveis à aquicultura nacional também envolvem as possibilidades de investimentos do setor privado e do governo federal (MPA, 2012). Além disso, a prática aquícola é uma alternativa para a obtenção de proteína animal de boa qualidade, visando atender a crescente demanda da população, além de contribuir para a conservação dos



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

estoques naturais (FAO, 2013). No entanto, o pouco conhecimento biológico das espécies com potencial para cultivo, a escassez de recursos humanos e a necessidade do desenvolvimento de pacotes tecnológicos que permitam a organização da cadeia produtiva são alguns dos desafios que precisam ser superados.

Considerando o potencial de cultivo de espécies nativas, peixes teleósteos do gênero *Brycon*, pertencentes à família Characidae e subfamília Bryconinae, tem sido mantidos com sucesso em sistemas de criação comercial no Brasil e em outros países da América do Sul. O matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829), é um peixe de água doce, bentopelágico, de clima tropical, originário da Bacia Amazônica e com hábito alimentar onívoro. No entanto, por ser uma espécie que apresenta comportamento migratório e que vive em ambientes de correnteza, o matrinxã não se reproduz em condições de cativeiro, pois a ovogênese e a desova não se completam. Assim, é necessário o uso de reprodução induzida por aplicação de substâncias, sendo as mais utilizadas: o hormônio liberador do hormônio luteinizante- LHRH, o extrato de hipófise de carpa- EPC e o hormônio liberador de gonadotrofinas- GnRH.

Na Amazônia, a criação do matrinxã oferece um grande potencial para o agronegócio da região, principalmente porque o ambiente dispõe de condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo, promovendo o bom desempenho em cativeiro (Izel & Melo, 2004). Em ambiente natural, o período reprodutivo da espécie ocorre durante enchente (entre dezembro e janeiro) e a maturidade sexual é atingida entre dois e três anos de vida, a depender do estado nutricional do animal (Gomes *et al.*, 2005). Dessa forma, a criação dessa espécie vem se destacando, e atualmente ocupa o segundo lugar dos peixes mais comercializados na Amazônia. Além disso, o matrinxã apresenta crescimento relativamente rápido, frente ao fornecimento de rações artificiais, e com índices desejáveis de conversão alimentar e desempenho zootécnico. Em condições de cativeiro os animais podem atingir o tamanho comercial (1,5 kg) em aproximadamente 12 meses (Izel & Melo, 2004)

Apesar do domínio sobre as técnicas de reprodução induzida (Romagosa *et al.*, 2001), *Brycon amazonicus* apresenta alta frequência de comportamento agressivo e de canibalismo (Ferraz & Gomes, 2009), o que pode ser considerado um fator limitador em sistemas de criação intensiva. Segundo Serra (2014), os matrinxãs, em espaço reduzido, disputam agressivamente a dominância, mesmo que tenha sido definido um dominante, e se o espaço disponível aumentar os peixes não ocupam territórios distintos, mas nadam



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



juntos sem interação agressiva. Sendo assim, não é a distância entre os peixes que deflagra a agressividade, e sim o tamanho do espaço físico. De fato, a exibição da agressividade pode ser exacerbada em sistemas de produção devido ao confinamento e adensamento dos indivíduos.

De acordo com Kestemont *et al.* (2003), a interação agressiva predatória intraespecífica pode resultar em consumo parcial de indivíduos da mesma espécie. Além disso, altas taxas de comportamento agressivo podem causar injúrias e infecções que podem desencadear uma situação estressora e, conseqüentemente, ocasionar na morte dos animais.

Durante a exibição do comportamento agonístico em peixes tem-se um intenso gasto energético que se reflete em alterações hematológicas e bioquímicas, na redução da eficiência de conversão alimentar e do crescimento e em mudanças comportamentais (Wendelaar-Bonga, 1997). Além disso, a interação agressiva pode resultar em lesões e danos corporais que, por sua vez, aumentam a susceptibilidade a doenças e enfraquece os animais, tornando-os mais vulneráveis à morte como consequência dos seus ferimentos (Huntingford *et al.*, 2006). O efeito estressor da agressividade também pode comprometer o bem estar dos peixes e, conseqüentemente, os rendimentos da cadeia produtiva (Conte, 2004).

Vários fatores modulam a frequência e a intensidade do comportamento agressivo em peixes, tais como, o tamanho do grupo (Andries & Nelissen, 1990; Quinn *et al.*, 1996), a fase reprodutiva (Holder *et al.*, 1991; Jaroensutasinee & Jaroensutasinee, 2003), a experiência social prévia (Nelissen & Andries, 1988), o sexo do animal (Carvalho & Gonçalves-de-Freitas, 2008), os parâmetros ambientais (Sloman *et al.*, 2001), os níveis hormonais (Villars, 1983; Trainor & Hofman, 2006) e o espaço disponível (Serra, 2014).

De acordo com Oliveira & Gonçalves (2008), a ação dos hormônios sobre o comportamento agressivo em vertebrados é provavelmente mediada pelos seus efeitos no sistema motivacional central da agressividade (ex. dopamina, serotonina e GABA). Dessa forma, a melatonina poderia modular a interação agressiva em peixes, pois afeta o sistema dopaminérgico desses animais (López-Patinõ *et al.*, 2013). Além disso, a melatonina tem como precursor a serotonina que, por sua vez, está inversamente relacionada com o comportamento agressivo de vertebrados (Lepage *et al.*, 2005).

O efeito inibidor da melatonina sobre o comportamento também pode ser indireto, pois este hormônio apresenta efeito tranquilizante e indutor de sono em algumas espécies



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

(Zhdanova *et al.*, 2001). Além disso, a melatonina reduz os níveis de andrógenos e a menor liberação desses esteróides sexuais pode reduzir a frequência do comportamento agonístico em peixes (Ros *et al.*, 2004).

A modulação da agressividade pela melatonina em peixes é pouco conhecida. De acordo com Munro (1986), a injeção de melatonina reduz a agressão em *Aequidens pulcher*. No entanto, a melatonina não afeta a interação agressiva em truta arco-íris, *O. mykiss* (Lepage *et al.*, 2005). Dessa forma, além dos estudos sobre o efeito da melatonina na agressividade em peixes serem incipientes, os resultados mostram-se contraditórios. De acordo com essas predições, este projeto tem por objetivo avaliar o efeito da melatonina sobre o comportamento agressivo em larvas de matrinxã, *Brycon amazonicus*.

Independente do efeito da melatonina, a interação agressiva está associada a grande gasto energético (Alvarenga & Volpato, 1995) e pode atuar como um estressor, afetando variáveis fisiológicas e comportamentais dos peixes (Sloman *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2012). Segundo Pickering (1981), as respostas ao estresse podem ser classificadas como primárias (aguda), secundárias (crônica) e terciária (crônica prolongada). As respostas secundárias incluem as mudanças fisiológicas em decorrência da liberação de hormônios que aumentam a pressão sanguínea, oxigenação e mobilização das reservas energéticas.

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 & 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 (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. Além disso, altas taxas de comportamento agressivo podem causar ferimentos que potencializam a ação de patógenos e, conseqüentemente, podem aumentar a mortalidade dos peixes (Huntingford *et al.*, 2006; Baldisserotto, 2009). Assim, o controle de agentes estressores deve ser considerado um fator primordial em sistemas de cultivo e de manutenção de peixes em cativeiro, onde as interações sociais tornam-se ainda mais intensas devido à limitação do espaço e, portanto, podem prejudicar a saúde do animal.



Considerando a problemática supracitada e visando minimizar os entraves que dificultam a maior produtividade da piscicultura regional, espera-se com este projeto constatar se a melatonina poderá atuar como modulador do comportamento agressivo em *B. amazonicus*.

4. Justificativa

O matrinxã está entre as espécies com grande potencial para a piscicultura comercial na Amazônia, devido ao seu bom desempenho produtivo. No entanto, essa espécie exibe alta frequência de comportamento agressivo, o que compromete o crescimento, o bem estar e a sobrevivência dos animais. Dentre outros fatores, a ação de hormônios pode modular a interação social em peixes, pois essas substâncias químicas afetam o sistema motivacional central da agressividade. Assim, este estudo avaliou o efeito da melatonina sobre o comportamento agressivo e parâmetros fisiológicos de matrinxã, *Brycon amazonicus*.

A avaliação de fatores moduladores do comportamento agressivo, como a melatonina, são de extrema relevância para o desenvolvimento de procedimentos que visem melhorar o desempenho, rentabilidade e sustentabilidade das práticas durante a cadeia produtiva de *B. amazonicus*. Deste modo, pretende-se disponibilizar informações que contribuirão para o desenvolvimento de novas tecnologias para o setor produtivo e para a melhoria da produtividade do matrinxã, que hoje é considerado um grande potencial para suprir a necessidade de consumo do pescado na região Amazônica.

5. Objetivos

Geral

- Avaliar o efeito da melatonina sobre o comportamento agressivo e parâmetros fisiológicos em matrinxã, *Brycon amazonicus*.

Específicos

- Testar se a melatonina modula a frequência da interação agonística do matrinxã.
- Analisar os parâmetros hematológicos (hematócrito, concentração de hemoglobina, número de eritrócitos e índices hematimétricos) em matrinxã.
- Verificar os níveis plasmáticos de glicose, triglicerídeos, colesterol e proteína total em matrinxã.

6. Metodologia



UFAM

Aclimação e manutenção dos animais

Os animais foram provenientes da Fazenda Exata e aclimatados no Laboratório Experimental de Fisiologia e Comportamento de Animais Aquáticos– LEFCAQ (Departamento de Ciências Fisiológicas/UFAM) em caixa de polietileno de 500L (1 animal/5L) por, no mínimo, 15 dias antecedendo os experimentos. Durante esse período, a temperatura foi mantida em torno de 27 °C, a intensidade luminosa em 350 lx e o fotoperíodo em 12 h de luz (07:00 h às 19:00 h) e uma ração comercial (28% de proteína) foi oferecida até a saciação duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde).

Delineamento Experimental

Foi avaliada a influência da melatonina sobre a agressividade e parâmetros fisiológicos em juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus*. Para isso, 24 indivíduos foram medidos (11 a 15 cm), pesados e isolados por 96 horas em diferentes concentrações de melatonina, com oito repetições cada: menor (0 µM), intermediária (1 µM) e maior (10µM). A melatonina (N-Acetyl-5-methoxytryptamine; Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, USA) foi diluída na água do aquário, conforme metodologia descrita por López-Patiño et al. (2013). De acordo com Zhdanova et al. (2008), a manipulação exógena de melatonina afeta o seu nível plasmático, portanto, espera-se efeito nos parâmetros comportamentais modulados por este hormônio.

A agressividade foi avaliada pela frequência de ataques e exhibições emitidos para um espelho (ex. Franck et al., 1985; Gonçalves-de-Freitas & Mariguela, 2006). O teste do espelho é um método experimental utilizado para mensurar a motivação agressiva em peixes (Oliveira et al., 2005) e foi escolhido, pois evita o efeito do oponente sobre a resposta agressiva do indivíduo alvo (Franck et al., 1985). Dessa forma, um espelho (40 X 40 cm) foi colocado na lateral direita externa do aquário a cada 24 horas durante o isolamento, sendo a interação agressiva registrada em cada período de observação por meio de filmagens com duração de 30 minutos. Para a análise da interação agressiva foram consideradas as seguintes unidades comportamentais: batida de cauda, confronto frontal, exibição frontal, exibição lateral e também se avaliou a latência para a exibição do comportamento e o total de interações (soma de todas as unidades agressivas).

Os animais foram isolados em aquários de 67,5 x 29 x 39 cm (XX I) revestidos por plástico azul opaco em três lados para evitar contato visual com animais de aquários vizinhos no laboratório. A região frontal ficou livre para o registro do comportamento e o



UFAM

plástico da lateral direita foi removido nos momentos de apresentação do espelho. A cor azul foi utilizada porque reduz o estresse na tilápia-do-Nilo (Volpato & Barreto, 2001). Nos aquários, a aeração foi mantida constantemente. A temperatura da água foi controlada em 27 °C e os animais receberam ração comercial na proporção de 2% da biomassa oferecida duas vezes ao dia. O fotoperíodo (12L:12D) e a intensidade luminosa (em torno de 350 lx) foram controlados, conforme descrito para o período de aclimação e manutenção dos animais.

Antes e após o período de isolamento foram realizadas coletas de sangue precedidas por 24 horas de jejum. Toda a manipulação dos animais (biometria, sexagem, isolamento e coleta de sangue) foi precedida por anestesia com eugenol (64 µL / L). 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) para a truta arco-íris. O sangue foi coletado por punção caudal (0,3 ml por coleta), utilizando-se seringa de 1ml heparinizada. O tempo de anestesia e coleta de sangue, assim como o tempo de recuperação do animal serão registrados, a fim de detectar possíveis influências dessas manipulações nas variáveis fisiológicas analisadas.

As análises hematológicas foram realizadas imediatamente após a coleta de sangue. A contagem de eritrócitos (RBC, milhões/mm³ sangue) foi realizada por meio de leitura óptica em câmara de Neubauer, em amostras de sangue fixadas em formol-citrato, conforme o método habitual utilizado para peixes. A concentração de hemoglobina sanguínea (Hb, g/dL) foi analisada pelo método da cianometahemoglobina (Kampen & Zijlstra, 1964). O hematócrito (Ht, %) foi determinado pelo método do microhematócrito (Goldenfarb et al., 1971), onde os tubos capilares foram centrifugados a 13000 rpm por 6 minutos. Os índices hematimétricos absolutos, ou seja, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados de acordo com Wintrobe (1934). O material restante foi centrifugado para coleta do plasma (3000 rpm / 15 min), o qual foi congelado a -80 °C para análises bioquímicas. 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.

Análise dos dados



Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade da variância pelo teste F max. A latência para os confrontos e os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos foram comparados entre os tratamentos por Análise de Variância de uma via. Foi considerado $\alpha \leq 0,05$ para significância estatística. Todas as análises são baseadas em Zar (1999).

Nota Ética

O presente estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFAM, Manaus, AM, protocolo nº 019/2015.

7. Resultados e Discussão

Os parâmetros hematológicos não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos experimentais (Análise de Variância de uma via, $F < 1,53$, $p > 0,23$; **Tabela 1**). A hematologia vem se tornando uma importante ferramenta para o estudo das características fisiológicas como indicador de estresse, bem – estar e saúde (Tavares-Dias, 2006). Os parâmetros hematológicos em peixes podem ser influenciados por diversos fatores como sexo, idade, peso, variação genética, estresse de captura para procedimentos e, portanto, apresentam grande variação individual (Tavares-Dias et al., 2003; Kori-Siakpere et al., 2005; Tavares-Dias e Moraes, 2007;). Neste estudo, os valores do hematócrito, RBC e concentração de hemoglobina mostraram-se superiores aos valores encontrado por Tavares-Dias *et al* (2008). Porém, os índices hematimétricos calculados (VCM, HCM e CHCM) estiveram dentro do mínimo e máximo esperado para a espécie. A condição estressora (interação agressiva com o espelho) não causou alterações significativas nos parâmetros hematológicos entre os animais de cada tratamento, como também foi encontrado em tilápia (*Oreochomis niloticus*) submetida à condição estressora de diferentes fotoperíodos (Bizarro, 2013).

Também não houve diferença entre os tratamentos experimentais para a glicemia, colesterol e triglicerídeos (Análise de Variância de uma via, $F < 0,99$, $p > 0,38$; **Tabela 2**), indicando que não houve mobilização de reservas energéticas diferenciada nos animais submetidos à diferentes concentrações de melatonina. De modo semelhante, a



melatonina não afetou a interação agressiva exibida pelos juvenis de matrinxã (Análise de Variância de uma via, $F < 2,10$, $p > 0,17$; **Figura 1**).

Os parâmetros metabólicos e o comportamento agressivo são intensamente relacionados uma vez que o animal precisa mobilizar e disponibilizar substrato energético para o confronto com o possível adversário (Wendelaar-Bonga, 1997). Apesar de não ter sido observado diferenças entre os parâmetros metabólicos e o comportamento agressivo nas diferentes concentrações de melatonina neste estudo, outros trabalhos já mostraram que a melatonina provoca a diminuição da frequência de interação agressiva em *Aequidens pulcher* (Munro, 1986) e em larva de matrinxã, *Brycon amazonicus* (Carvalho, 2015) e supressão da agressividade em tilápia-do Nilo (Winberg *et al.*, 2001).

Porém, a melatonina não é o único hormônio que afeta o comportamento agressivo, havendo uma forte relação dos níveis de andrógenos com esse comportamento (Mehta e Beer, 2009), especialmente a testosterona. Além disso, o cortisol é um importante hormônio associado ao estresse e, também, modula a resposta agressiva de forma que, uma alta relação testosterona/cortisol levaria a níveis mais altos de agressividade enquanto uma baixa relação testosterona/cortisol levaria a uma menor tendência de se exibir o comportamento agressivo (Montoya *et al.*, 2012). Sendo assim, mostra-se necessário fazer análises hormonais e de estresse oxidativo para que a modulação do comportamento agressivo e a resposta aos experimentos nas concentrações menor (0umol/L), intermediária (1umol/L) e maior (10 umol/L) de melatonina seja melhor compreendida.

Tabela 1. Parâmetros hematológicos de *Brycon amazonicus* submetidos a diferentes concentrações de melatonina.

Parâmetro	Concentração [0] umol/L		Concentração [1] umol/L		Concentração [10] umol/L	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Ht(%) -	33,56 ± 6,41	29,25 ± 6,65	35,6 ± 5,07	32,187 ± 4,75	36,025 ± 6,00	33,15 ± 8,24
RBC (10 ⁶ /mm ³)	1,469 ± 0,19	1,366 ± 0,37	1,99 ± 0,41	1,503 ± 0,15	1,875 ± 0,52	1,435 ± 0,47
[Hb] (g/dL)	9,073 ± 2,93	4,782 ± 0,96	7,162 ± 2,50	6,651 ± 1,89	7,219 ± 1,83	6,578 ± 2,36
VCM (um ³)	228,025 ± 32,99	228,696 ± 77,77	182,592 ± 25,81	215,705 ± 35,85	213,082 ± 104,74	216,209 ± 46,87
HCM (pg/célula)	62,509 ± 19,95	72,222 ± 34,39	37,373 ± 16,15	45,417 ± 22,20	44,568 ± 25,9	53,033 ± 36,53
CHCM (%)	27,951 ± 9,69	16,842 ± 3,62	20,853 ± 8,26	21,242 ± 6,90	20,991 ± 7,20	19,560 ± 4,05

Tabela 2. Parâmetros metabólicos de *Brycon amazonicus* submetidos a diferentes concentrações de melatonina.

Parâmetros Plasmáticos	Concentração [0] umol/ L	Concentração [1] umol/L	Concentração [10] umol/L
Glicemia	124,5 ± 21,44	102,7 ± 26,5	108,1 ± 44,35
Colesterol	182,33 ± 46, 4	196,82 ± 39,59	171,033 ± 67,62
Triglicerídeos	222,12 ± 90,19	242,8 ± 121,18	228,4 ± 86,77

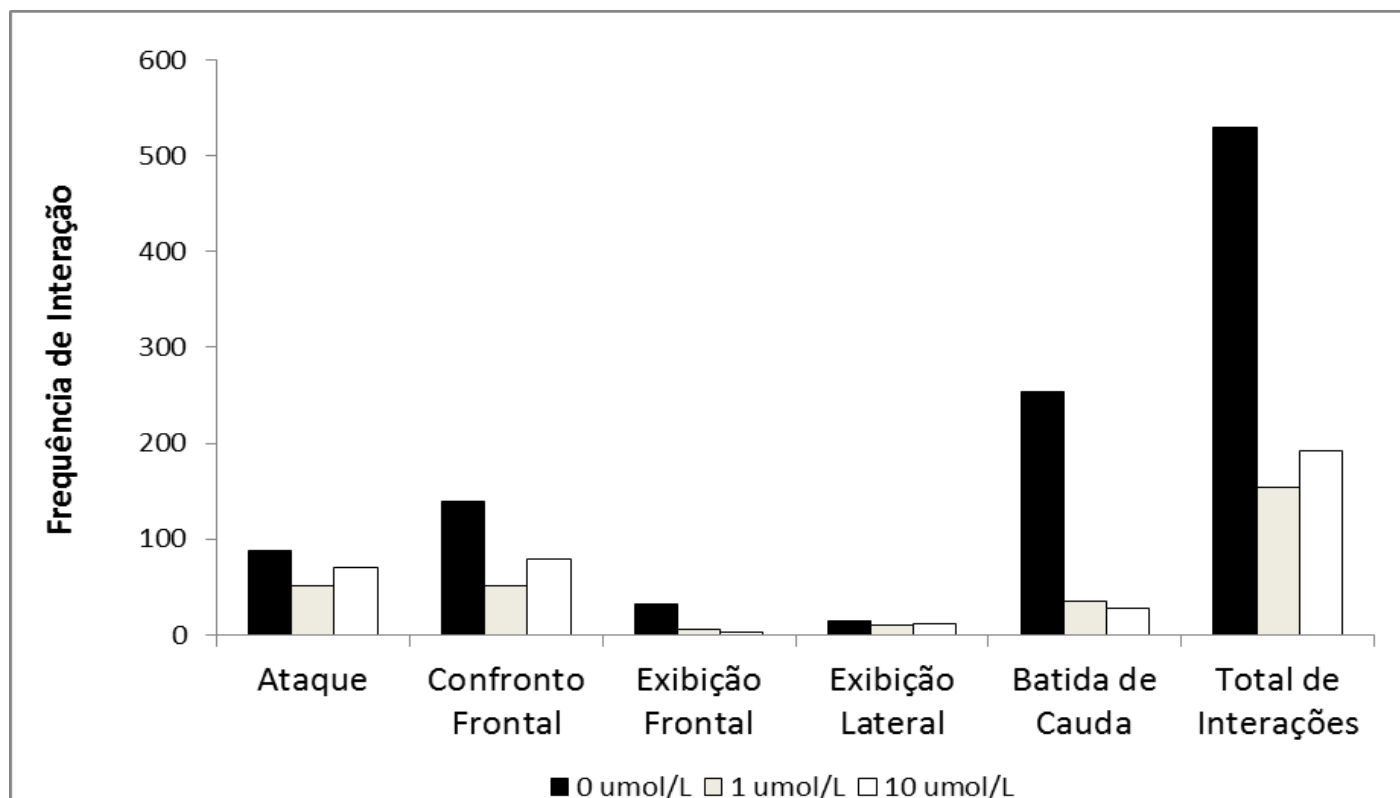


Figura 1. Média da frequência da interação agressiva na menor (0 umol/L), intermediária (1 umol/L) e maior (10 umol/L) concentração de melatonina para *Brycon amazonicus*.



8. Referências

- Alvarenga, C.M.D.; Volpato, G.L. 1995. Agonistic profile and metabolism in alevines of Nile tilapia. *Physiology and Behavior*, 57: 75-80.
- Andries, S.; Nelissen, M.H.J. 1990. A study of the dominance hierarchy in four Mbuna-species: *Melanochromis johanni*, *M. auratus*, *Pseudotropheus ornatus* and *P. lombardoi* (Teleostei: Cichlidae). *Belgian Journal of Zoology*, 120: 165-193.
- Baldisserotto, B. 2009. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: ed. UFSM, 352pp.
- Carvalho, T.B.; Gonçalves-de-Freitas, E. 2008. Sex group composition, social interaction, and metabolism in the fish Nile tilapia. *Brazilian Journal of Biology*, 68: 807-812.
- 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.
- Conte, F.S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behavior Science*, 86: 205-223.
- Ferraz, F.B.; Gomes, L.C. 2009. Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 153: 293-296.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2013. *The State of world Fisheries and Aquaculture*, 2012. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 230pp.
- Franck, D.; Hannes, R.P.; Lanffermann, H.; Ribowski, A. 1985. Effects of social isolation on aggressiveness in fish with special reference to the swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Behavioral Processes*, 10: 415-427.
- Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosious, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 35-39.
- Gonçalves-de-Freitas, E.; Mariguela, T.C. 2006. Social isolation and aggressiveness in the Amazonian juvenile fish *Astronotus ocellatus*. *Brazilian Journal of Biology*, 66: 233-238.
- Holder, J.L.; Barlow, G.W.; Francis, R.C. 1991. Differences in aggressiveness in the Midas cichlid fish (*Cichlasoma citrinellum*) in relation to sex, reproductive state and the individual. *Ethology*, 88: 297-306.
- Huntingford F.A.; Adams, C.; Braithwait, V.A.; Kadri, S.; Pottinger, T.G.; Sandoe, P.; Turnbull, J.F. 2006. Current issues in fish welfare. *Journal Fish Biology*, 68: 332-372.



- 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.
- Izel, A.C.U.; Melo, L.A.S. 2004. Criar matrinxã: atividade econômica potencial para o agronegócio amazonense. Manaus, *Embrapa Amazônia Ocidental* (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 31), 22pp.
- Jaroensutasinee, M.; Jaroensutasinee, K. 2003. Type of intruder and reproductive phase influence male territorial defence in wild-caught Siamese fighting fish. *Behavioural Processes*, 64: 23-29.
- Kampen, E.J.; Zilstra, W.G. 1964. Standardization of haemoglobinometry In: Boroviczény, G. *Erythrocytometric methods and their standardization*. New York: Bibl. Haematol, p.68-72.
- Kestemont, P.; Jourdan, S.; Houbart, M.; Melard, C.; Paspatis, M.; Fontaine, P.; Cuvier, A.; Kentourid, M.; Baras, E. 2003. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture*, 227: 333-356.
- [Lepage, O.](#); [Larson, E.T.](#); [Mayer, I.](#); [Winberg, S.](#) 2005. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationships and aggression in rainbow trout. [Hormones and Behavior](#), 48: 233-242.
- López-Patiño, M.A.; Conde-Sieira, M.; Gesto, M.; Librán-Pérez, M.; Soengas, J.L.; Míguez, J.M. 2013. Melatonin partially minimizes the adverse stress effects in Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 388-391:165-172.
- Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). 2012. *Plano de Desenvolvimento Sustentável (2009-2015). Cartilha Amazônia Sustentável*. Brasília, 15pp.
- Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). 2013. *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura- 2011*. Brasília, 60pp.
- 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.
- Nelissen, M.H.J.; Andries, S. 1988. Does previous experience affect the ranking of cichlid fish in a dominance hierarchy? *Annales de la Societe Royale Zoologique de Belgique*, 118: 41-50.
- Oliveira, R.F.; Carneiro, L.A.; Canário, A.V.M. 2005. No hormonal response in tied fights. *Nature*, 437: 207-208.
- Oliveira, R.F.; Gonçalves, D.M. 2008. **Hormones and social behaviour of teleost fish**. In: Magnhagen, C.; Braithwaite, V.A.; E. Forsgren; E. Kapoor, B.G. (Eds.); *Fish Behaviour*. Science Publishers nc., Enfield, N.H, 646pp.
- Pickering, A. D. Stress and Fish. London: Academic Press, 1981. p.11-47.



- Quinn, T.P.; Adkison, M.D.; Ward, M.B. 1996. Behavioral tactics of male Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) under varying operational sex ratios. *Ethology*, 102: 304-322.
- Romagosa, E.; Narahara, M.Y.; Borella, M.I.; Fenerich-Verani, N. 2001. Seleção e Caracterização de Fêmeas de Matrinxã, *Brycon cephalus*, Induzidas a Reprodução. *Boletim Instituto de Pesca*, São Paulo, 27: 139-147.
- Ros, A.F.H.; Bruintjes, F.; Santos, R.S.; Canário, A.V.M.; Oliveira, R.F. 2004. The role of androgens in the trade-off between territorial and parental behavior in the Azorean rock-pool blenny, *Parablennius parvicornis*. *Hormones and Behavior*, 46: 491-497.
- Serra, M.. 2014. Estratégia agressiva de matrinxã *Brycon amazonicus*: conviver quando possível, matar quando preciso.. 35 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/124137>>
- Sloman, K.A.; Taylor, A.C.; Metcalfe, N.B.; Gilmour, K.M. 2001. Effects of an environmental perturbation on the social behaviour and physiological function of brown trout. *Animal Behaviour*, 61: 325-333.
- 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.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F.R. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. Villimpress, Ribeirão Preto.
- 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.
- Trainor, B.C.; Hofman, H.A. 2006. Somatostatin regulates aggressive behavior in an African cichlid fish. *Endocrinology*, 11: 5119-5125.
- Villars, T.A. 1983. **Hormones and Aggressive Behavior in Teleost Fishes**. In: Svare, B.B.; *Hormones and Aggressive Behavior*. Plenum Press, New York and London, 611pp.
- 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.
- Wendelaar-Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
- Wintrobe, M.M. 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, 51: 32-49.
- Zar, J. 1999. *Biostatistical Analyses*. Printice Hall, New Jersey.

