

## **1. Introdução geral**

A produção global de peixes tem aumentado vigorosamente nos últimos anos, crescendo de 10 milhões de toneladas (mt) em 1980 para 32,9 mt em 1999, sendo estimada a produção de 45 mt durante 2006 (FAO). Hoje a piscicultura produz cerca de 30% do pescado para consumo humano e o crescimento da aquicultura pode diminuir acentuadamente a pressão sobre os estoques naturais de peixe, permitindo que as populações se recuperem enquanto o cultivo fornece proteína para nutrir a crescente demanda humana.

A pesca de estoques naturais é a forma mais conhecida de suprimento de organismos aquáticos e tem sido praticada desde os tempos pré-históricos (Naylor et al., 2000). A pesca recreacional é também uma forma de captura, porém, para fins comerciais, a pesca industrial em larga escala é muito mais eficiente e produtiva. Além da pesca, o cultivo é uma das principais fontes de peixe para o mercado (Williams, 1997). O cultivo do pescado envolve crescimento de organismos pré-selecionados num ambiente controlado, objetivando o ganho de peso para comercialização. O cultivo de espécies carnívoras como a truta e o zander, por exemplo, requerem vasta quantidade de proteína animal para se obter boa produção. A principal fonte desta proteína é a carne do próprio peixe. Normalmente, 2 a 5 kg de carne de peixe são requeridos para se produzir um quilo de peixe de valor para o mercado consumidor. Assim, o cultivo de espécies como a tilápia, que se alimenta de plantas aquáticas, frutas e vegetais, pode contribuir para a demanda de peixes global. Além disso, a tendência para a produção em escala industrial de peixes herbívoros e onívoros causou o crescimento da utilização de rações comerciais, que utilizam farinha e óleo de peixes na sua composição, tornando a produção de peixes para este fim também necessária (Tacon, 1996).

Com o crescimento da população humana em ritmo exponencial, a cultura do pescado tem se tornado cada vez mais uma fonte importante do recurso alimentar. Os estoques naturais de peixes nos oceanos e rios podem apenas fornecer quantidade limitada de alimento sustentável. A sobrepesca, poluição e destruição do recurso natural têm limitado as populações aquáticas, e diversos estudos mostram que a taxa atual de pesca pode não permitir sustentabilidade do sistema até o ano 2040 (Naylor et al., 2000). Desta forma, a taxa crescente da população humana e a demanda pelo recurso alimentar tornam o investimento na cultura de peixes uma solução bastante viável para a demanda alimentar no mundo. O balanço entre

cultivo e pesca, assim como o suprimento total de peixes para o consumo humano depende de tendências futuras das práticas da aqüicultura.

O conhecimento científico sobre os ciclos de vida dos organismos cultivados e dos estímulos para se obter melhor desenvolvimento dos peixes em fazendas têm incentivado o investimento em técnicas e procedimentos que tragam melhores ganhos e menores prejuízos ao cultivo. Alguns dos fatores mais importantes para os produtores de peixe são o estímulo ao crescimento e ganho de peso, maturidade sexual e investimento reprodutivo. Recentemente, a piscicultura tem recebido atenção em relação às condições impostas aos animais para aumentar a produtividade sem que haja grandes gastos e degradação ambiental. O bem estar animal tem sido enfatizado em muitos estudos com peixes em relação às melhores densidades em tanques (Ellis et al., 2002), composição alimentar (Madu & Ufodike, 2003), temperatura da água (Milstein et al., 2001) entre outros fatores, para que se consiga melhoria no cultivo.

O crescimento é um processo complexo e bem regulado em peixes, no qual diversos fatores podem ser determinantes no tamanho e peso final de um indivíduo (Mommesen, 2001). Dentre estes fatores, podemos destacar períodos de alimentação, fase de desenvolvimento, oxigenação da água, salinidade, temperatura, estresse (Lucas & Southgate, 2003). Todos estes fatores podem influenciar na performance dos peixes, pois são animais sensíveis às condições ambientais, ou seja, percebem variações mínimas no ambiente e respondem a elas.

Algumas destas manipulações ambientais têm mostrado resultados interessantes para a aplicação na piscicultura, e um parâmetro bastante novo que pode trazer resultados positivos para o cultivo é a mudança na coloração do tanque ou da iluminação utilizada para peixes. O conhecimento a respeito dos efeitos de cores sobre peixes ainda é muito restrito, mesmo para tilápias e trutas que já são considerados peixes domesticados. Estudos dos efeitos de coloração ambiental podem contribuir para melhorar o ambiente de cultivo e assim aumentar a produtividade.

Peixes respondem à diferentes colorações ambientais dependendo da capacidade visual da espécie em estudo e do tipo de teste a que o animal está sendo submetido. Por exemplo, quanto à sobrevivência é sabido que larvas de *haddock* (*Melanogrammus aeglefinus*) apresentam maior taxa de sobrevivência em luz azul e verde, porém para larvas de salmonídeos, as colorações azuis-violeta são letais (Heichenbach-Klinke, 1982). Em relação ao crescimento, as respostas de diferentes espécies são bastante variáveis, a coloração

ambiental azul aumenta a taxa de crescimento do *guppy* (*Poecilia reticulata*), mas para o crescimento da carpa cruciana (*Carassius carassius*) a coloração verde é mais vantajosa (Ruchin, 2004).

Os dados relatados acima mostram que a coloração ambiental modula alguns processos fisiológicos em peixes, porém, as respostas não são as mesmas, o que revela a necessidade de se determinar os efeitos para cada espécie. Para isso, testes de preferência, nos quais o animal escolhe uma entre outras cores ambientais, podem ser utilizados. Essa opção metodológica tem sido usada na determinação de outros parâmetros ambientais, como temperatura (Krause et al., 1998), alimento (Galef & Whiskin, 2001), tipo de substrato (Dawkins, 1983) etc. Embora a preferência possa ser espécie específica, uma possibilidade é que a coloração de preferência seja um indicativo do fator ambiental que promove bem estar para o animal (Fraser & Leonard, 1993; Dawkins, 1998). Assim, testes de preferência de cores podem ser úteis para entendermos como os peixes reconhecem os ambientes coloridos e qual deles representa o melhor ambiente fótico para o animal. De fato, para entendermos os parâmetros físicos que agem sobre a performance de peixes é essencial que se desenvolvam protocolos para maximizar a sobrevivência e o crescimento sob condições de piscicultura.

Diferentes fatores ambientais impõem situações nas quais o animal altera respostas comportamentais, como ingestão de alimento e crescimento, entre outras (Moberg & Mench, 2000). O estresse é tido como fator que diminui ou até mesmo suprime o crescimento de peixes (Moberg, 1999), e, portanto, condições de coloração ambiental que melhorem o bem estar podem permitir ao animal gastar mais energia para o crescimento do que para se manter no ambiente.

Em diferentes espécies animais observa-se crescimento diferenciado dentro de grupo, chamado de crescimento heterogêneo (chet). O chet é um fenômeno que pode afetar o desenvolvimento normal, sendo que os animais que crescem menos não conseguem se reproduzir (Sohn, 1977) e podem até chegar à morte (Bohus et al., 1987). No caso de animais de importância econômica, o chet pode acarretar em prejuízos financeiros para os produtores pela diferença acentuada de tamanho e peso entre os animais do grupo.

Tanto o crescimento individual quanto o chet têm sido atribuídos a vários fatores como fatores genéticos, competição por alimento, estresse social, grau hierárquico dos indivíduos e alterações nos processos metabólicos e digestivos. Em grupos de animais onde há

estabelecimento da hierarquia de dominância, animais dominantes e submissos experienciam constantemente o estresse social e a competição por alimento, sendo sempre os mais prejudicados aqueles animais de menor grau hierárquico, ou seja, os submissos. Segundo Volpato & Fernandes (1994), indivíduos submissos do grupo não conseguem obter alimento suficiente devido à competição com os dominantes e assim, por ingerir quantidades menores de alimento, crescem menos. Além disso, o estresse social decorrente do chet induz mudanças nos processos digestivos que diminuem a utilização do alimento ingerido pelos subordinados do grupo (Jobling & Wandsvick, 1983), altera o trânsito intestinal dos animais (Pires-de-Campos, 1993) e prejudica o crescimento devido a quatro mecanismos: apetite, digestibilidade, gasto energético e eficiência de conversão alimentar (Volpato & Fernandes, 1994).

A capacidade dos animais em utilizar os nutrientes da dieta, tanto como fonte de energia quanto para o crescimento, depende da presença das enzimas adequadas em locais apropriados ao longo do lúmen e na parede do trato gastrointestinal. A eficiência de absorção e conversão alimentar pode depender da disponibilidade de enzimas digestivas ou da capacidade de transporte transepitelial no trato (Jobling, 1995). Geralmente, a distribuição e intensidade da atividade das enzimas intestinais ao longo do trato podem ser modificadas por variações na ingestão alimentar, no hábito alimentar e na morfologia intestinal (Cockson & Bourne, 1972; Sabapathy & Teo, 1993; Tengjaroenkul et al., 2000).

Muitas enzimas estão envolvidas nos processos digestivos em peixes. Tripsina e quimiotripsina são as enzimas mais secretadas na porção anterior do intestino (Dabrowski, 1983). A ação destas enzimas nos cecos pilóricos está relacionada à taxa de crescimento dos peixes como robalo, *Morone saxatilis* (Baragi & Lovell, 1986) e bacalhau do atlântico, *Gadus morhua* (Lemieux et al., 1999). A atividade da tripsina também tem relação significativa com a eficiência de conversão alimentar e crescimento em diversos peixes (Lemieux et al., 1999). Como a eficiência de conversão alimentar explica parte significativa da taxa de crescimento e do crescimento heterogêneo, enzimas relacionadas com este parâmetro podem favorecer o crescimento em peixes alimentados para saciedade em pisciculturas. Pela relação entre a tripsina e a eficiência de conversão alimentar proposta por Lemieux et al. (1999) e Blier et al. (2002), esses autores sugerem que a taxa de crescimento do bacalhau deve ser limitada pela capacidade digestiva, principalmente através da atividade de enzimas proteolíticas.

Seguindo o raciocínio encetado até aqui, podemos sugerir que fatores que afetam tanto o crescimento quanto a presença ou ausência de enzimas intestinais estão intrinsecamente relacionados à digestibilidade potencial dos animais. A digestibilidade significa, em termos gerais, o quanto da dieta oferecida é aproveitada pelo animal, sendo completamente digerida e absorvida, sem perdas substanciais nas fezes. A avaliação do coeficiente de digestibilidade aparente de alimento utilizado em dieta de peixes é um dos mais importantes passos na formulação de dietas balanceadas para satisfazer o requerimento nutricional destes animais (Cho et al., 1982).

Informações do coeficiente de digestibilidade de ingredientes alimentares são muito úteis, não somente para a formulação de dietas que maximizem o crescimento dos peixes por prover quantidades balanceadas de nutrientes, mas também para limitar perdas pronunciadas pelo animal (Lee, 2002). A perda de material indigerível na forma de fezes é o primeiro indicador da necessidade de se rever as condições em que o animal se encontra e se propor variações no valor nutricional dos ingredientes da dieta. A digestibilidade aparente provê, de modo geral, uma boa indicação do aproveitamento dos nutrientes e da conversão destes em energia pelo animal, desta forma fornecendo uma base racional sobre a qual dietas podem ser formuladas a fim de se atingir um padrão específico de níveis nutricionais, e mudanças ambientais podem ser propostas a fim de se oferecer ao animal o ambiente menos hostil e mais propício ao bem estar.

Buscando condições ambientais que diminuam a ocorrência de diferenças de crescimento dos indivíduos e as taxas de utilização dos nutrientes da dieta, propomos que a utilização de diferentes colorações para o ambiente de cultivo de peixes pode trazer benefícios a estes animais. Os peixes teleósteos possuem sistema de lentes que confere visibilidade e acuidade visual bastante desenvolvida (Pitcher, 1993), e esse peixes desenvolveram ao longo da evolução diversos sistemas visuais, podendo apresentar diferentes morfologias dos olhos, presença de cones e bastonetes e mesmo sensibilidade a diferentes cores (Yokoyama, 2000). Além do órgão sensor, os peixes apresentam estrutura neural para percepção de cores e formas no ambiente. As informações oriundas da retina são transmitidas ao teto óptico, o maior centro correlativo de impulsos exteroceptivos visuais (Shepherd, 1985) com informações não visuais, como impulsos vestibulares e auditivos (Sarnat & Netsky, 1976). No teto óptico, localizado no

mesencéfalo, as informações se integram e os tratos descendentes tetoespinhais e tetobulbares modificam as relações do corpo com o meio ambiente (Sarnat & Netsky, 1976).

A detecção de todos os aspectos do ambiente visual, incluindo presas, predadores ou coespecíficos, é extremamente melhorada pela adição da dimensão cromática, assim a visão de cores oferece vantagem substancial para os peixes (Collin & Trezise, 2004). Na água, o espectro de luz penetrante sobre absorção e/ou difusão dependendo da presença de barreiras físicas, como a quantidade de matéria orgânica dissolvida e organismos que habitam diferentes regiões da coluna d'água (Levine & MacNichol, 1982). Assim, as diferentes regiões apresentam-se de variadas cores para os animais. Por exemplo, em lagos distróficos há pouco material suspenso e a radiação solar pode penetrar a profundidades consideráveis. Nesse ambiente, o ultravioleta e comprimentos de onda longos são rapidamente atenuados pelas moléculas de água e a transmissão máxima fica em torno de 400 a 500 nm, dando aparência azulada ao ambiente (Pitcher, 1993). Por outro lado, águas eutrofizadas e rios barrentos contêm grande quantidade de matéria mineral e orgânica, especialmente clorofila, levando à rápida atenuação da luz e à penetrância de comprimentos de onda de 500 a 600 nm, que confere aspecto marrom ao ambiente (Pitcher, 1993). De fato, os ambientes naturais de peixes abrangem geralmente colorações azuis, verdes e próximas ao infravermelho (Levine & MacNichol Jr., 1982).

Por causa das características da luz que atinge diversos ambientes e da complexidade de interações com o ambiente aquático, que leva à ocorrência de variados ambientes fóticos, muitas propriedades visuais podem ser detectadas pelos animais, como brilho, cor, tonalidade, textura e contorno (Pitcher, 1993). A extensão que cada uma dessas características pode ser percebida depende da capacidade visual do animal e de restrições impostas pela sinalização no meio aquático (Pitcher, 1993). De fato, os peixes possuem substrato fisiológico para a discriminação de cores, brilho e textura (Brown, 1957; Wheeler, 1982; Pitcher, 1993), e vários estudos de manipulação da coloração ambiental têm mostrado resultados interessantes na mediação de parâmetros biológicos para esses animais. A coloração ambiental violeta ( $\lambda_{\text{máx}}$  400 a 440 nm) parece ser prejudicial, pois pode atrasar o desenvolvimento e até mesmo ser letal para ovos de salmonídeos (Heichenbach-Klinke, 1982). Por outro lado, a coloração azul ( $\lambda_{\text{máx}}$  430 a 460 nm) revela-se benéfica, pois reduz o canibalismo larval em matrinxã (Volpato & Camacho, 1998), reduz a resposta de cortisol após estresse de confinamento (Volpato &

Barreto, 2001), aumenta o investimento reprodutivo (Volpato et al., 2004) e aumenta a agressividade na tilápia (Fanta, 1995), um animal naturalmente agressivo. Também a coloração verde ( $\lambda_{\text{máx}}$  510 a 550nm) parece ser benéfica para o matrinxã, que aumenta a emissão de confrontos agonísticos e a taxa de crescimento (Volpato, 2000).

A tilápia-do-Nilo mostra preferência pelo ambiente de coloração amarela ( $\lambda_{\text{máx}}$  530 a 580 nm) e os animais dominantes ocupam e defendem o território desta coloração contra a invasão de submissos (Luchiari et al., 2006b). Sob coloração laranja ( $\lambda_{\text{máx}}$  580 a 630 nm) há melhor desenvolvimento de ovos de salmonídeos (Heichenbach-Klinke, 1982). E a coloração ambiental vermelha ( $\lambda_{\text{máx}}$  610 a 700 nm) prejudica o crescimento do pacu e da tilápia (Luchiari, 2003).

Sem dúvida, os dados relatados acima mostram que a cor ambiental modula processos fisiológicos e comportamentais dos peixes. Porém, quais parâmetros fisiológicos são modulados pela coloração e quais as relações entre visão de cores, coloração de preferência e efeitos da coloração ambiental no crescimento de peixes ainda são pouco compreendidos. Com base nos dados levantados, propomos a tese de que **AS CORES MODULAM O CRESCIMENTO DE PEIXES E A UTILIZAÇÃO DOS NUTRIENTES NO TRATO GASTROINTESTINAL**. Para testar essa tese, investigamos se: 1) a cor de preferência do peixe é o ambiente onde há melhor crescimento em isolamento; 2) a coloração ambiental preferida afeta o crescimento de grupos de peixe; 3) a coloração ambiental afeta o crescimento heterogêneo em grupos de peixe; 4) a coloração ambiental afeta a digestibilidade de nutrientes; 5) a coloração ambiental modula a atividade enzimática intestinal e pancreática durante o crescimento heterogêneo.

Para verificar se os parâmetros acima relacionados afetam da mesma maneira ou de maneira diferente várias espécies de peixes, utilizamos nos estudos que se seguem três espécies de peixes com diferenças marcantes de hábitos e habitats. O primeiro, um animal predador noturno, *Sander lucioperca* (zander), que ocupa regiões pelágicas de lagos túrbidos no norte da Europa, onde o espectro de luz penetrante é bastante reduzido. Nessa profundidade a transmissão do espectro de luz na água torna-se dominada por poucos comprimentos de onda, aqueles não filtrados pelos materiais dissolvidos na coluna d'água e por outros animais que ocupam as regiões acima, oferecendo muitas vezes ambiente monocromático nas áreas mais profundas (Loew & Lythgoe, 1977). O efeito combinado do

crescente aumento de matéria orgânica dissolvida e suspensa na água pode fazer com que quase toda a luz seja absorvida a 2-3 m da superfície, assim o comprimento de onda da luz pode chegar a 600 nm ou mais, região vermelha do espectro, o que torna a água de tom vermelho ou marrom-avermelhado (Jobling, 1995). No entanto, apesar da pouca luminosidade, o zander possui boa sensibilidade visual (Collette et al, 1977), além de processar informações oriundas do ambiente visual. Luchiari et al. (2006a) mostraram que em testes de preferência de intensidade luminosa, o zander é capaz de discriminação e escolha entre 50, 25, 12 e 1 lux, sendo o último o ambiente preferido por este peixe.

A outra espécie a ser utilizada foi a truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, um animal carnívoro diurno e bastante ativo durante o verão e a primavera. A truta ocupa a região intermediária da coluna d'água, sobe até a superfície para buscar presas, mas desce novamente para 1 a 2 m abaixo, onde passa a maior parte do tempo (Lucas & Soughgate, 2003). Perto da superfície da água o número de quanta de cada comprimento de onda é extremamente influenciado por características da luz solar, mas com o aumento da profundidade a transmissão do espectro se torna dominante (Loew & Lythgoe, 1977). Assim comprimentos de onda curtos como a luz violeta e azul são mais absorvidos, enquanto a luz verde e amarela, com comprimentos de 540 a 560 nm, tornam-se predominantes na região intermediária da coluna d'água (Jobling, 1995). A detectabilidade de objetos depende da radiação deles em contraste com a coloração de fundo contra o qual são vistos (Loew & Lythgoe, 1977), portanto, a percepção de alimento ou coespecíficos contra o fundo verde-amarelo devem ser facilitados para a truta, que é natural deste ambiente fótico e apresenta cones sensíveis a grande variedade do espectro de luz visível, o que presumivelmente está relacionado à variação de luz disponível para esse animal ao longo do dia (Pitcher, 2003). Além disso, como a truta enfrenta variações bruscas de temperatura durante as estações do ano, foi detectada mudança na composição do pigmento visual (baseado em vitamina A<sub>1</sub> ou A<sub>2</sub>), que permite ajuste às variações fóticas e escotópicas que ocorrem em seu ambiente (Tsin & Beatty, 1966). Estas mudanças indicam a capacidade visual da truta, bem como a necessidade de integração de estímulos variados nas regiões centrais para que haja modificação das relações do animal com o ambiente.

A terceira espécie utilizada neste estudo é a tilapia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, um peixe herbívoro, diurno e que habita águas claras. Este animal possui acentuada capacidade



visual, apresentando diversos comportamentos dependentes da visão, como a identificação e cortejo de fêmeas reprodutivas, construção de ninhos, defesa territorial contra invasores e cuidado parental (Pitcher,1993). Além disso, o ambiente natural da tilápia é de fundo esverdeado (Fanta 1995), o que significa que a luz que atinge este local compreende comprimentos de onda entre 500 e 570 nm (Kageyama 1999), que abrange a parte verde e amarela do espectro visível. O fator intrínseco mais importante associado à visão de cores na tilápia é a presença de sete genes para opsinas que expressam pigmentos nas células fotosensíveis da retina com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 360 nm (SWS1), 425 nm (SWS2B), 456 nm (SWS2A), 472 nm (Rh2B), 518 nm (Rh2Ab), 528 nm (Rh2Aa) e 561 nm (LWS) ao longo do espectro visível (Spady et al., 2006). Ainda, a tilapia-do-Nilo é capaz de interpretar o ambiente fótico e responder a ele, sugerindo sua capacidade integrativa dos estímulos visuais, como, por exemplo, sua preferência pelo ambiente amarelo em testes de preferência de cores e o estabelecimento de território no ambiente amarelo e comportamento defensivo contra intrusos (Luchiari et al., 2006b).

Assim, fica evidente que estes animais possuem a capacidade de ver cores no ambiente e integrá-las a outros estímulos para coordenar respostas adequadas. A questão que levantamos é como as cores do ambiente influenciam os animais? Diferentes respostas serão dadas a esta pergunta de acordo com o animal em questão, mas a hipótese geral mais promissora é que determinadas cores presentes no ambiente podem ser percebidas e geram condições interpretadas como agradáveis, que devem facilitar o desenvolvimento de comportamentos normais e promover condição de bem estar ao animal.

## 1.2. Metodologia geral

### *Escolha da coloração e medida do comprimento de onda de diferentes cores*

A coloração ambiental foi conseguida por meio de papel gelatina (Lee Filter), material resistente a luz e água e que permite a passagem de gama restrita de comprimento de onda. As leituras de diferentes cores de papel gelatina foram feitas pelo monocromador do Instituto de Física de São Carlos (IFSC)- USP, no laboratório de Espectroscopia de Sólidos, sob coordenação do professor Tomaz Catunda. Este aparelho lê o comprimento de onda de várias fontes luminosas, portanto testamos uma lâmpada fluorescente, uma lâmpada incandescente e uma lâmpada dicróica. Em seguida fizemos a leitura da curva de comprimentos de onda de cada fonte luminosa com diferentes filtros de papel gelatina, previamente definidos entre as cores violeta, azul, verde, amarelo e vermelho.

A lâmpada fluorescente apresenta  $\lambda$  máximo em 545 nm, a lâmpada incandescente em 685 nm e a lâmpada dicróica em 670 nm (figura 1.1). Assim, as leituras com os filtros coloridos foram alteradas pela luz emitida pela fonte (a lâmpada), sendo que a fonte que menos altera o filtro e mais se assemelha à luz solar é a lâmpada fluorescente, pois as outras deslocam a pico de comprimento de onda para os comprimentos mais longos (600 –700 nm), como mostrado na figura 1.2. Além disso, a luz fluorescente aquece pouco o ambiente comparativamente às outras duas fontes.

Numa segunda análise, procuramos identificar os papéis gelatina que apresentam picos de comprimento de onda mais precisos quando utilizada a fonte de luz fluorescente. Os dados de todos os filtros testados estão na figura 1.3. Foram escolhidos as cores com picos de comprimento de onda que indicassem a devida coloração do papel e que transmitissem luminosidade próxima a 80 lux, para diminuir o número de camadas de papel necessárias para igualar a intensidade luminosa das diferentes cores durante os experimentos.

Assim, os azuis testados apresentaram  $\lambda_{\text{máx}}$  semelhantes e foi escolhido o “lagoon blue” pela passagem de luminosidade de 81 lx. O “violet” apresentou  $\lambda_{\text{máx}}$  de 434,8 nm e luminosidade de 80 lx com uma camada apenas. No caso do vermelho, todos apresentaram picos de comprimento de onda semelhantes, porém aquele que permitia maior luminosidade no ambiente foi o “sunset red”. Segundo o mesmo raciocínio, o “jade” teve o pico restrito a

545,2 nm e luminosidade de 88 lx e o “yellow” foi escolhido por ser o único a apresentar  $\lambda_{\text{máx}}$  de 555 nm (200 lx), representando o comprimento de onda da luz amarela.

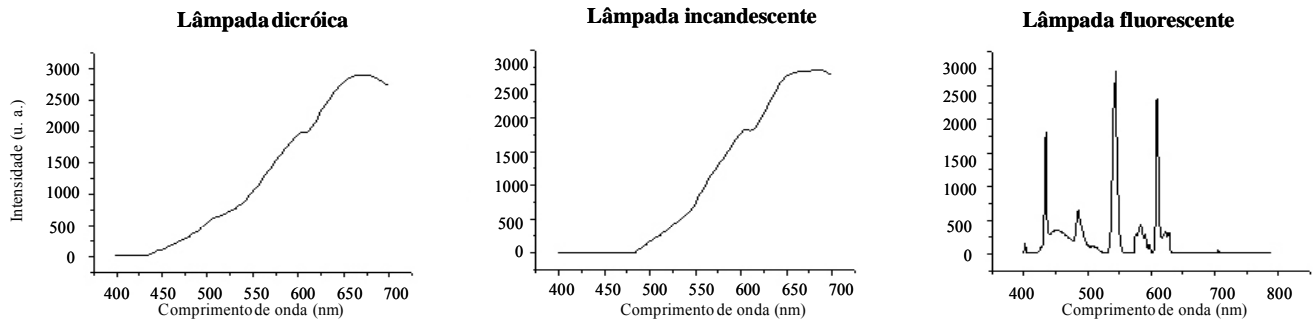


Figura 1.1. Leitura do comprimento de onda das lâmpadas dicróica ( $\lambda$  max. 670 nm), incandescente ( $\lambda$  max. 685 nm) e fluorescente ( $\lambda$  max. 545 nm), sem a presença de filtros coloridos.

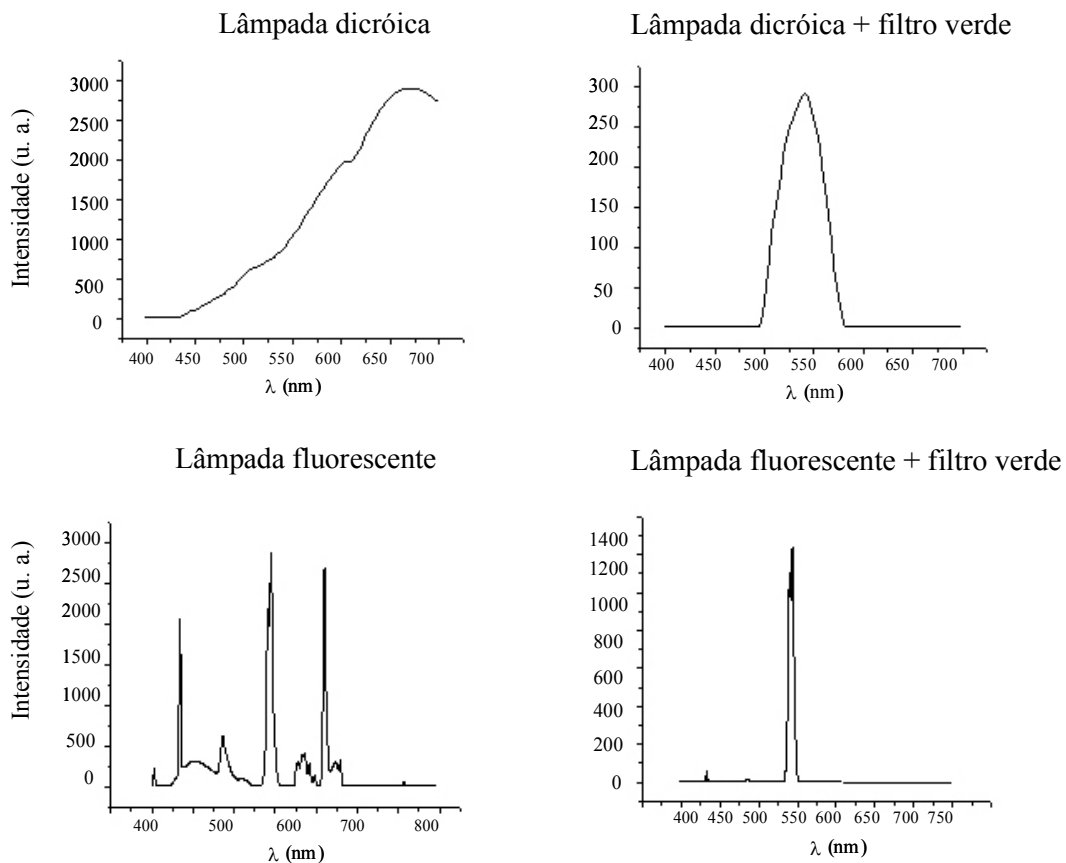


Figura 1.2. Leitura do comprimento de onda das lâmpadas dicróica ( $\lambda$  max. 670 nm), lâmpadas dicróica com filtro verde ( $\lambda$  max. 541 nm; fwhm 52,8 nm), lâmpada fluorescente ( $\lambda$  max. 545 nm) e lâmpada fluorescente com filtro verde ( $\lambda$  max. 545,2 nm; fwhm 7,93 nm).



### 1.3. Referências

- Blier PU, Lemieux H, Devlin RH. 2002. Is the growth rate of fish set by digestive enzymes or metabolic capacity of the tissues? Insight from transgenic coho salmon. *Aquaculture* 209, 379-384.
- Bohus B, Koolhaas JM, Nyakas C, Steffens AB, Fokkema DS, Scheurink AJW. 1987. Physiology of stress: a behavioural view. *In: Wiegkema, PR & Van Adrichem, PWM (editors). Biology of stress in farm animals: an integrative approach. Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 258 pp.*
- Brown ME. 1957. *The Physiology of Fishes. vol. II. Academic Press, New York, 453 pp.*
- Cho CY, Slinger SJ, Bayley HS. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. *Comp Biochem Physiol B* 73, 25-41.
- Cockson A, Bourne D. 1972. Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish. *Comp Biochem Physiol A* 41,715-718.
- Collette BB, Ali MA, Hokanson KEF, Nagiec M, Smirnov SA, Thorpe JE, Weatherley AH, Willemsen J. 1977. Biology of the Percids. *J Fish Res Board Can* 34, 1890-1899.
- Collin SP, Trezise AEO. 2004. The origins of colour vision in vertebrates. *Clin Exp Oplom* 87, 217-223.
- Dabrowski K. 1983. Comparative aspects of protein digestion and amino acid absorption in fish and other animals. *Comp Biochem Physiol A* 74, 417-425.
- Dawkins MS. 1983. Battery hens name their price: consumer demand theory and the measurement of ethological needs. *Anim Behav* 31, 1195-1205.
- Dawkins MS. 1998. Evolution and Animal Welfare. *Q. Rev. Biol.* 73, 305-328.
- Ellis T, North B, Scott AP, Bromage NR, Porter M, Gadd D. 2002. The relationship between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *J Fish Biol* 61, 493-531.
- Fanta E. 1995. Influence of background color on the behavior of the *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *Braz Arch Biol Technol* 38, 1304-1316.
- FAO. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Disponível em:< <http://www.fao.org/>> Acesso em: 06 dez 2006.
- Fraser D, Leonard ML. 1993. Farm animal welfare. *Anim Prod Can* 37, 253- 270.

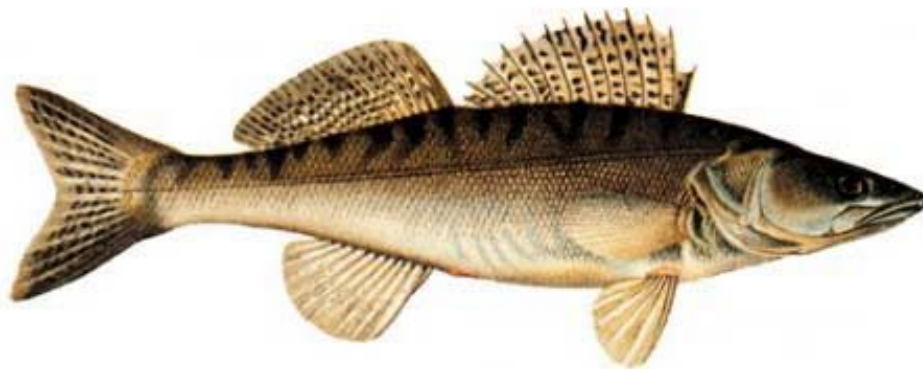
- Galef Jr BG, Whiskin EE. 2001. Interactions and social and individual learning in food preferences of Norway rats. *Anim Behav* 62, 181-190.
- Heichenbach-Klinke HDH. 1982. Enfermedades de los peces. Acribia, Madrid.
- Jobling M, Wandsvik A. 1983. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J Fish Biol* , 577-584.
- Jobling M. 1995. Environmental Biology of Fishes. Chapman & Hall, 436 pp.
- Kageyama CJ. 1999. What fish see. Frank Amato Publications, New York, 75 pp.
- Krause J, Staaks G, Mehner T. 1998. Habitat choice in shoal of roach as a function of water temperature and feeding rate. *J Fish Biol* 53, 377-386.
- Lee SM. 2002. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 207, 79-95.
- Lemieux H, Blier P, Dutil J-D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiol Biochem* 20, 293-303.
- Levine JS, MacNichol Jr EJ. 1982. Color vision in fishes. *Sci Am* 216, 108-117.
- Loew ER, Lythgoe JN. 1978. The ecology of cone in teleost fishes. *Vision Res* 18, 715-722.
- Lucas J, Southgate P. 2003. Aquaculture: Farming Aquatic Animals and plants. Fishing News Books, Sidney, 544 pp.
- Luchiarri AC, Freire FAM, Koskela J, Pirhonen J. 2006a. Light intensity preference of juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquacult Res* 37, 1572-1577.
- Luchiarri AC, Duarte CRA, Freire FAM, Nissinen K. 2006b. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Ethol (in press)*.
- Luchiarri AC. 2003. Coloração ambiental e bem estar em peixes. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Madu CT, Ufodike EBC. 2003. Growth and survival of catfish (*Clarias anguillaris*) juveniles fed live tilapia and maggot as unconventional diets. *J Aquat Sci* 18, 47-51.
- Milstein A, Aynimelech Y, Zoran M, Joseph D. 2001. Growth performance of hybrid bass and hybrid tilapia in conventional and active suspension intensive ponds. *Isr J Aquacult/Bamidgeh* 53, 147-157.
- Moberg GP, Mench JA. 2000. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. Wallingford, New York, 392 pp.

- Moberg GP. 1999. When does stress become distress? *Lab Anim* 28, 22-26.
- Mommsen TP. 2001. Paradigms of growth in fish. *Comp Biochem Physiol B* 129, 207-219.
- Naylor RL, Goldburg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H, Troell M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017-1024.
- Pires-de-Campos S. 1993. Alterações das funções digestivas em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em condições de agrupamento e em relação ao grau hierárquico. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed. Chapman & Hall, London, 715 pp.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol Biochem* 30, 175–178.
- Sabapathy U, Teo LH. 1993. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *J Fish Biol* 42, 595-602.
- Sarnat HB, Netsky MG. 1976. Evolucion del sistema nervioso. Oxford University Press, New York, 408 pp.
- Shepherd GM. 1985. Neurobiología. Editorial Labor, Barcelona, 591 pp.
- Sohn JJ. 1977. Socially induced inhibition of genetically determined maturation in the platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Science* 14, 199-201.
- Spady TC, Parry JW, Robinson PR, Hunt DM, Bowmaker JK, Carleton KL. 2006. Evolution of the cichlid visual palette through ontogenetic subfunctionalization of the opsin gene arrays. *Mol Biol Evol* 23, 1-10.
- Tacon AGJ. 1996. Feeding tomorrow's fish. *World Aquacult* 27, 20-32.
- Baragi V, Lovell RT. 1986. Digestive enzyme-activities in striped bass from 1<sup>st</sup>-feeding through larva development. *Trans Am Fish Soc* 115, 478-484.
- Tengjaroenkul B, Smith BJ, Caceci T, Smith SA. 2000. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 182, 317–327.
- Tsin ATC, Beatty DD. 1977. Visual pigment changes in rainbow trout in response to temperature. *Science* 195, 1358-1360.
- Volpato GL, Barreto RE. 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz J Med Biol Res* 34, 1041- 1045.

- Volpato GL, Camacho RD. 1998. Coloração ambiental, agressão e crescimento em alevinos de matrinxã. Anais da XII Reunião da FeSBE, Caxambu-MG, p. 241-242.
- Volpato GL, Duarte CRA, Luchiari AC. 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. Braz J Med Biol Res 37, 479-483.
- Volpato GL, Fernandes MO. 1994. Social-control of growth in fish. Braz J Med Biol Res 27, 797-810.
- Volpato GL. 2000. Aggression among farmed fish. Anais do Aqua 2000 (International Conference on Responsible Aquaculture in the New Millenium), Nice, France, p. 805.
- Wheeler TG. 1982. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. Brain Res Rev 4, 177-235.
- Williams M. 1997. Aquaculture and sustainable food security in the developing world. Sustain Aquacult 15-51.
- Yokoyama S. 2000. Molecular evolution of vertebrate visual pigments. Prog Retinal Eye Res 19, 385-419.



**2. Pigmentos visuais, preferência de cores e crescimento de zanders (*Sander lucioperca*, Linnaeus 1758, Perciforme, Percidae) mantidos sob diferentes colorações ambientais**



## Abstract

Spectral sensitivity of photoreceptor cells, colour preference and the effects of ambient colour on growth were studied in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). Microspectrophotometry (MSP) of the photoreceptors in the retina revealed the presence of rods with  $\lambda_{\text{max}}$  at 530 nm and two cone classes, absorbing maximally at 535 and 603 nm, all containing porphyropsin based pigment. Preference was tested in 1m<sup>2</sup> tanks divided into 4 lateral compartments with a hole in the middle to allow fish to move between compartments. Each compartment was covered with blue, red, yellow or green gelatin filter and illuminated with fluorescent light at c.50 lx, n=12. Fish were observed individually for 5 days at 8, 11, 14 and 17 h. On the first and fifth day, preference was tested without colours in the compartments (control). Pikeperch showed no preference for any of the tested colours. In the growth trial pikeperch were reared individually for 42 days under different ambient colours (blue, red, yellow, green and white; c. 50 lx, n=5). The fish were fed twice a day to excess and uneaten food was removed. Fish length and weight were measured every 14 days. Growth parameters were analysed. Fish feed intake was similar between colours, but however, feed efficiency was higher under red, yellow and green colours. Weight gain and specific growth rate were higher under red than blue and white ambient. Although pikeperch have no colour preference, our results suggest that the red colour environment promotes well-being and increases feeding efficiency and weight gain, possibly due to the presence of mid and long wavelength sensitive cones that enhances visual sensitivity in this ambient.

## Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar a absorvância espectral dos fotorreceptores, testar a preferência a cores e testar os efeitos das colorações ambientais no crescimento de zander, *Sander lucioperca* (L.). A microespectrofotometria (MSP) das células retinianas revelou a presença de bastonetes com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 530 nm e duas classes de cones, absorvendo maximamente em 535 e 603 nm, todos contendo pigmentos a base de porfiropsina. A preferência foi testada em tanques de 1m<sup>2</sup> divididos em 4 compartimentos com uma passagem central que permitia ao peixe livre acesso entre os compartimentos. Os compartimentos foram cobertos com papel gelatina azul, vermelho, amarelo e verde, e iluminados com luz fluorescente a cerca de 50 lx, n=12. Os peixes foram observados individualmente por 5 dias às 8, 11, 14 e 17 h, quanto à frequência de visitação nos compartimentos. No primeiro e último dias, a preferência foi testada sem coloração nos compartimentos (controle). O zander não mostrou preferência por nenhuma das cores testadas. No teste de crescimento, o zander foi mantido isolado por 42 dias sob diferentes colorações ambientais (azul, vermelho, amarelo, verde e branco; ~ 50 lx, n=5). Os peixes foram alimentados duas vezes por dia em excesso e a comida restante foi removida dos aquários. O peso e comprimento dos animais foram medidos a cada 14 dias e calculados: ganho de peso, ingestão, taxa de crescimento específico e eficiência de conversão alimentar. A ingestão alimentar foi similar entre as cores, porém, a eficiência de conversão alimentar foi maior sob coloração vermelha, verde e amarela. O ganho de peso e a taxa de crescimento específico foram maiores no ambiente vermelho do que no azul e branco. Embora o zander não tenha mostrado preferência por cores, nossos resultados sugerem que a presença de cones sensíveis a comprimentos de onda médios e longos melhora a sensibilidade visual no ambiente vermelho, promovendo bem estar e aumentando a eficiência de conversão alimentar e o ganho de peso.

## 2.1. Introdução

O zander (*Sander lucioperca*) é um peixe ecologicamente importante, pois é um predador de águas temperadas, que ocupa o Mar Báltico e os lagos e rios do leste da Europa (Lehtonen et al., 1996; Craig 2000; Rennert et al., 2004), além de ser uma das espécies mais importantes nas pisciculturas destas regiões (Hilge & Steffens, 1996). Esta espécie foi inicialmente cultivada para fins de conservação e reposição de estoques (Hilge & Steffens, 1996; Ruuhijärvi & Hyvärinen, 1996), porém, na última década, a crescente demanda por espécies de água doce de valor comercial levou a indústria a investir no cultivo do zander para se conseguir tamanhos adequados ao comércio (Gál et al., 2005). Assim, grupos de estudo de biologia do zander vêm procurando aumentar o conhecimento a respeito da alimentação artificial e manejo deste peixe em condições controladas (Hilge & Steffens, 1996; Rennert et al., 2004). Como esta é uma espécie nova na aquicultura, pouco se sabe sobre as condições ótimas de cultivo para que seja economicamente viável. Entre os problemas enfrentados na sua criação estão a alta mortalidade em cativeiro e a rejeição à ração industrializada, que podem ser resolvidos, pelo menos parcialmente, com estudos sobre os efeitos de parâmetros ambientais no crescimento e com testes de preferência. Sabe-se que o zander é um predador crepuscular que habita águas turbas (Ali et al., 1977) e apresenta várias adaptações para eficiente visão em ambiente de pouca luminosidade, como a presença de *Tapetum lucidum* (Wunder, 1930) e macroceptores (Braekevelt et al., 1989). A presença de cones ainda não foi descrita nesta espécie, embora cones verdes e vermelhos tenham sido encontrados na retina de duas outras espécies de percídeos (Ali et al., 1977), indicando a capacidade destes animais em ver cores no ambiente. Assim, um dos objetivos deste estudo foi verificar a existência de cones na retina do zander e descrever a absorvância dos mesmos.

Alguns estudos utilizando diferentes cores de luz e de tanque têm mostrado que a coloração ambiental modifica respostas comportamentais e fisiológicas em peixes (Fanta, 1995; Papoutsoglou et al., 2000; Volpato et al., 2004). Isto se justifica, já que o ambiente natural de peixes inclui muitas cores, de ultravioleta a infravermelho (Levine & MacNichol Jr., 1982). Sabe-se que diferentes espécies desenvolveram, através da evolução, diferentes sistemas visuais, diferentes pigmentos em cones e diferentes organizações celulares na retina

(Brown, 1957; Wheeler, 1982), que os capacitam a discriminar diferentes cores e formas no ambiente.

A sensibilidade à coloração ambiental se manifesta tanto em relação à coloração do tanque de cultivo, quanto à iluminação do ambiente. Por exemplo, larvas de *haddock* (*Melanogrammus aeglefinus*) apresentam maior taxa de sobrevivência no ambiente azul e verde (Downing, 2002), carpas prateadas (*Hypophthalmichthys molitrix*) e carpas comuns (*Cyprinus carpio*) têm melhores taxas de crescimento sob luz verde (Radenko & Alimov, 1991; Ruchin et al., 2002) e o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), na fase pré-migratória (*smolt*), apresenta diminuição da atividade  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase quando submetido à luz amarela (Gaignon et al., 1993).

Os efeitos das cores descritos acima podem ser esperados já que peixes possuem substrato fisiológico para visão de cores (Brown, 1957; Wheeler, 1982; Pitcher, 1993). No entanto, parece que os efeitos das cores variam entre diferentes espécies. Uma possibilidade é que a coloração ambiental que promove o bem estar para uma espécie esteja associada à coloração de preferência desta espécie. A identificação da coloração ambiental que promove bom desempenho de uma espécie no ambiente pode ser obtida, inicialmente, com testes de preferência de cores. Diversos parâmetros que afetam o sucesso de peixes podem ser utilizados em testes de preferência. Estes testes têm sido amplamente utilizados porque a condição preferida pode indicar fatores que promovam o bem estar para o animal (Fraser & Leonard, 1993; Dawkins, 1998). Desta forma, testes de preferência pela coloração ambiental podem ser úteis para se entender como os peixes reconhecem estes fatores e qual das cores testadas representa o melhor ambiente para eles.

Adicionalmente, para testar os efeitos da coloração ambiental em peixes, parâmetros como crescimento e ingestão alimentar podem ser fatores indicativos para melhor compreensão de como as cores atuam sobre esses animais. Fatores ambientais que prejudicam a qualidade de vida de peixes podem conduzir estes animais a experiências de distresse, diminuindo a ingestão de alimento e o crescimento, entre outras respostas fisiológicas (Moberg & Mench, 2000). Assim, sob colorações ambientais que promovam o bem estar, o animal deve gastar mais energia com o crescimento e ganho de peso do que sob condições de coloração ambiental desconfortáveis.

Além disso, a manipulação da coloração do tanque ou da luz ambiente são métodos facilmente aplicáveis em condição de piscicultura e podem ser mudados de acordo com a espécie a ser cultivada, para se atingir melhores resultados de ganho de peso e conversão alimentar, além de respostas reprodutivas e imunológicas. Portanto, o objetivo deste estudo foi primeiro analisar a sensibilidade das células fotossensíveis da retina e testar a preferência de cores do zander e, depois, comparar os efeitos das colorações ambientais no crescimento e ingestão de alimento deste peixe mantido em isolamento social.

## **2.2. Metodologia**

Zanders de um ano de idade foram usados neste estudo. Os animais eram provenientes de uma fazenda particular de peixes (Hankataimen ltd., Hankasalmi, Finlândia) e quatro meses antes dos experimentos foram transportados para o laboratório da Universidade de Jyväskylä. Durante este período, os peixes foram mantidos em tanques (500L) com renovação de água contínua (22°C), aeração, e fotoperíodo de 24 horas de luz. Os peixes foram alimentados com ração comercial (Royal Response) por alimentadores automáticos a cada 3 horas.

### *Preparação da retina e medidas da curva de absorbância das células fotossensíveis*

Vinte zanders foram mantidos em ambiente escuro por 24 h. Sob iluminação de luz vermelha fraca, os peixes foram anestesiados com óleo de cravo 10% (mistura com álcool puro 1:9, usando óleo de cravo na concentração de 40 mg/l) dissolvido em água (1,6 ml/l), mortos por deslocamento cervical e os olhos removidos. Metade do número de olhos foi embrulhado em papel alumínio e colocado em gelo para conservação. O restante foi cortado para se retirar a parte frontal, deixando apenas o fundo do olho e, então, rapidamente fixado em glutaraldeído 2% por 60 seg, colocado em tubos de Eppendorf (1,5ml) com solução salina e coberto com papel alumínio para manter abrigado da luz. Os olhos foram então dissecados sob luz infravermelha e pequenas secções de retina foram removidas e colocadas em uma lâmina com uma pequena gota de salina e dextran, cobertas com uma lamínula e seladas com parafina.

A medida da curva de absorbância das células fotossensíveis retinianas foi realizada com um microespectrofotômetro (MSP), de acordo com Bowmaker et al. (1991). O espectro

foi tomado de 400 a 750 nm a intervalos de 2 seg. Células da retina foram escolhidas e escaneadas antes e depois de iluminação total com luz branca. O  $\lambda_{\text{máx}}$  de absorbância do espectro de cada célula e a diferença de absorbância antes e depois de receber luz branca foram determinados por um programa computacional especializado, desenvolvido pelo Professor James Bowmaker (UCL Institute of Ophthalmology, University College London, London, UK), que distingue entre pigmentos formados a partir de vitamina A<sub>1</sub> ou A<sub>2</sub>. Todas as células lidas encaixaram-se no modelo de presença de vitamina A<sub>2</sub> (porfiropsina).

### *Teste de preferência*

O tanque experimental consistiu de uma caixa plástica de 1 m x 1 m, dividida em 4 compartimentos com uma passagem no centro para permitir que os peixes se movimentassem de um compartimento para outro (Fig. 2.1). Os compartimentos eram de mesma área e foram igualmente iluminados com luz fluorescente (Airam 5000 deluxe, L58W950, 3300 lumen). Cada compartimento foi coberto com camadas de papel gelatina (Lee® Filters) colorido (azul, verde, vermelho e amarelo) mantendo-se a intensidade luminosa em 50 lx em todos os compartimentos. As cores para cada compartimento foram escolhidas ao acaso.

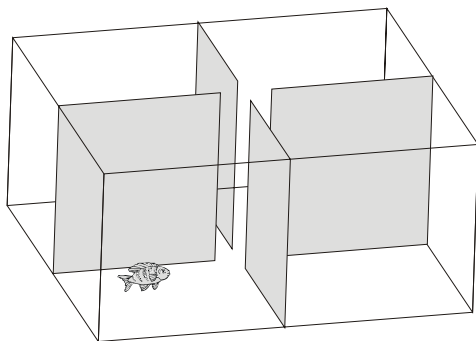


Figura 2.1. Modelo do tanque experimental para teste de preferência de cores e foto do tanque utilizado. O tanque tem 100 cm de lado e está subdividido em 4 compartimentos de igual área. Entre os compartimentos há uma passagem de acesso para o peixe. Cada compartimento recebeu cobertura com uma coloração de papel gelatina (amarelo, azul, verde e vermelho).

Doze zanders foram isoladamente (1 peixe por tanque) observados durante cinco dias. Cada peixe foi colocado no tanque experimental um dia antes de iniciada as observações para ajuste ao ambiente. No primeiro e quinto dias, os compartimentos não foram cobertos com cores, apresentando luminosidade de 300 lx, e foram utilizados como observações controle.

Durante estes dias, a visitação do peixe nos compartimentos foi observada para se identificar possíveis preferências entre os compartimentos. Nos dias 2, 3 e 4, as observações foram feitas com os compartimentos em diferentes cores, como dito anteriormente. A frequência de visitação nos compartimentos foi observada ao longo dos 5 dias e os dados foram coletados a cada 2 minutos durante períodos de 20 min iniciados às 08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h, num total de 40 observações por dia. Os animais não foram alimentados durante o período experimental para que não houvesse qualquer estímulo que afetasse a preferência por determinado compartimento. O período de jeum utilizado não é suficientemente longo para causar perdas energéticas para o animal (Miglav & Jobling, 1989). A temperatura da água foi mantida como no período pré-experimental, 22°C.

Para análise estatística foi utilizado teste de Friedman, pois a preferência do peixe por um compartimento ao invés dos outros prevê dependência nos dados. Em casos de diferença estatística, foi utilizado teste de Dunn's (Zar, 1999).

#### *Crescimento sob diferentes colorações ambientais*

Vinte e cinco aquários (40x20x25cm) foram encapados com papel canson nas cores azul, amarelo, verde, vermelho e branco, e cobertos com papel gelatina colorido, mantendo-se a intensidade luminosa em torno de 50 lx (n=5 para cada cor). Os aquários foram iluminados com lâmpada fluorescente.

Zanders foram mantidos individualmente nos aquários por 15 dias para ajuste às condições de cores e por mais 42 dias, nos quais ingestão e crescimento foram medidos. Cada animal recebeu pedaços de carne de truta (74,4% de água, 18,9% de proteína e 5,2% de lipídeo) duas vezes por dia, e o alimento não ingerido foi retirado dos aquários após 2 horas do oferecimento. A alimentação com carne de peixe fez-se necessária, pois o zander é um animal não domesticado e apresenta acentuada rejeição ao alimento comercial. A quantidade de alimento oferecido foi calculada por semana. Algumas amostras de alimento foram secas em estufa por 48 h para estimativa do peso seco. O alimento não ingerido após 2 h do oferecimento em cada horário de alimentação foi armazenado semanalmente e também seco. Assim, a ingestão foi calculada pelo peso seco do alimento oferecido menos o peso seco do restante no aquário após alimentação. O peso e comprimento dos animais foram mensurados



antes do início do período experimental e a cada 14 dias. Em cada mensuração, os peixes foram anestesiados com óleo de cravo (10%) para minimizar os efeitos do estresse.

O ganho de peso, ingestão alimentar, taxa de crescimento específico ( $TCE = (\text{Log peso final} - \text{Log peso inicial}) \times 100 / \text{tempo}$ ) e eficiência de conversão alimentar ( $ECA = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{ingestão total}$ ) foram posteriormente calculados. Para as análises estatísticas utilizamos Anova (ou Kruskal-Wallis) e Anova para medidas repetidas, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls.

### 2.3. Resultados

#### *Medidas da curva de absorvância das células fotossensíveis*

A retina do zander apresenta 2 tipos de cones: cones duplos idênticos, contendo pigmento de comprimento de onda longo com  $\lambda_{\text{máx}}$  de  $603 \pm 3$  nm, e cones simples com pigmento de comprimento de onda médio de  $\lambda_{\text{máx}}$   $535 \pm 3$  nm. Bastonetes também foram encontrados e apresentaram  $\lambda_{\text{máx}}$  de  $531 \pm 3$  nm. A curva de absorvância de ambas as classes de cones e dos bastonetes estão apresentados na Fig. 2.2. Embora as curvas se encaixassem no modelo de pigmentos à base de porfiropsina (vitamina A<sub>2</sub>), isto não exclui a possibilidade de presença de pequena porcentagem de rodopsina (vitamina A<sub>1</sub>) na formação dos pigmentos visuais.

Durante o primeiro dia de observação os zanders mostraram distribuição semelhante em todos os compartimentos (Friedman Anova,  $\chi^2=4,76$ ,  $p=0,19$ ; Fig. 2.3a). Nos dias 2, 3 e 4, em que foi adicionada cores aos compartimentos, zanders não mostraram diferenças significativas na visitação a nenhum dos ambientes coloridos (Friedman Anova, dia 2:  $\chi^2=4,68$ ,  $p=0,2$ ; dia 3:  $\chi^2=6,77$ ,  $p=0,07$ ; dia 4:  $\chi^2=3,94$ ,  $p=0,27$ ; Fig. 2.3b,c,d). Assim, não foi observada nenhuma preferência pelos ambientes coloridos

#### *Teste de preferência*

No quinto dia, novamente sem imposição de cores nos compartimentos, os peixes mostraram distribuição semelhante entre cada compartimento (Friedman Anova,  $\chi^2=0,85$ ,  $p=0,84$ ; Fig. 2.3e).

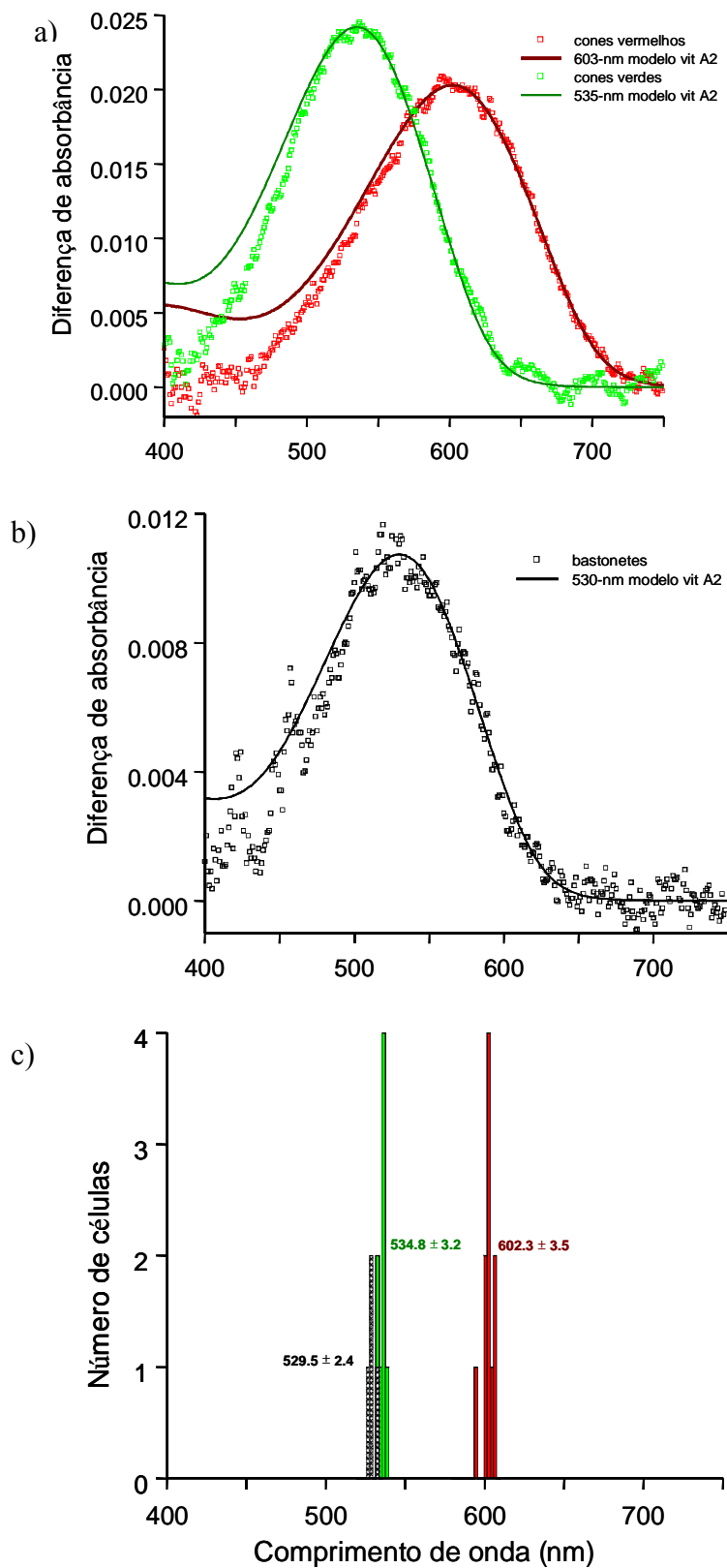


Figura 2.2. Curva de diferença de absorvância derivada de iluminação com luz branca, dados de MSP: a) cones verdes - comprimento de onda médio (MWS) e vermelhos – comprimento de onda longo (LWS), b) bastonetes e c) distribuição de  $\lambda_{\text{máx}}$  de cones e bastonetes da retina do zander

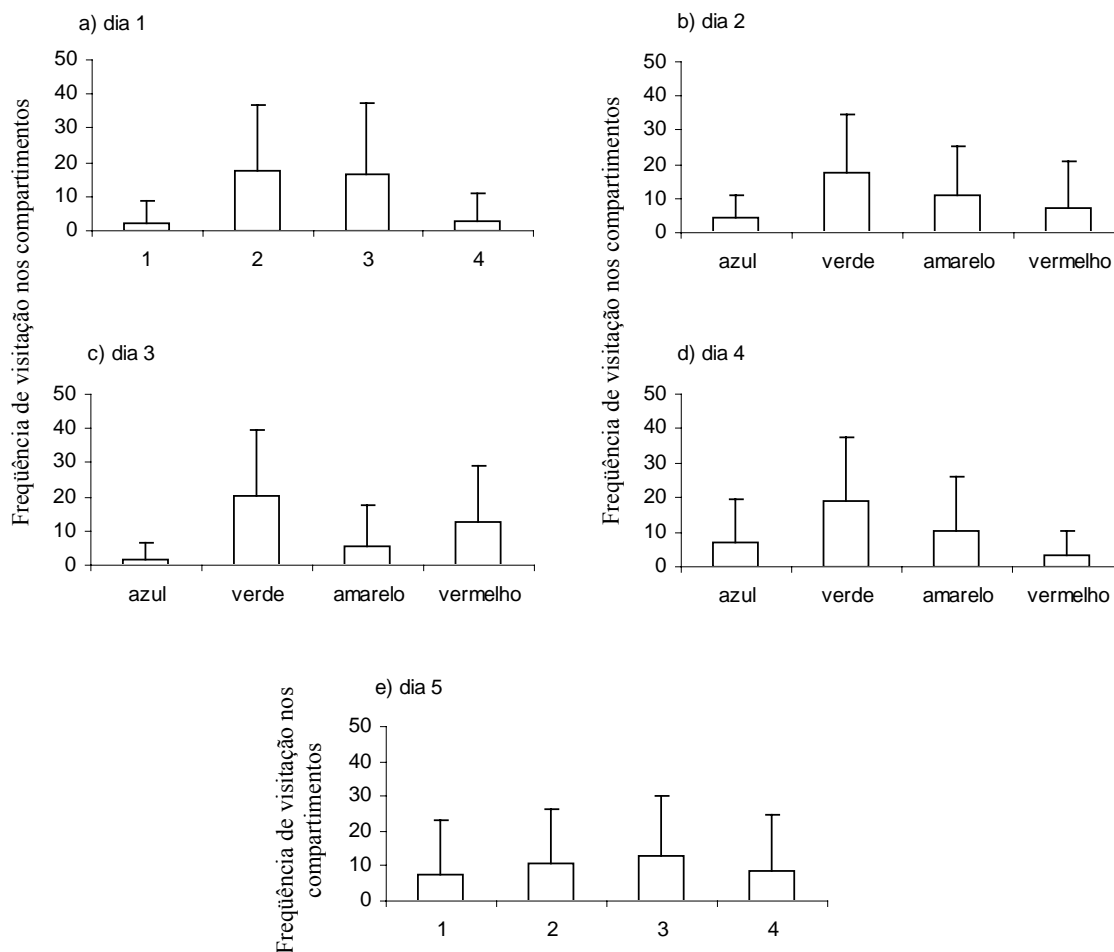


Figura 2.3. Preferência de cores do zander (n=12). O primeiro e quinto dias foram dias controle, sem diferença de cores nos compartimentos. Nos outros dias, cada compartimento foi coberto com uma coloração de papel gelatina (azul, verde, amarelo e vermelho). As barras representam a média de frequência de visitação de 4 observações diárias, às 8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h. Não houve diferença de visitação nos diferentes compartimentos durante os dias (Friedman Anova,  $p > 0,05$ ).

### *Crescimento sob diferentes colorações ambientais*

Durante o período experimental, a ingestão de alimento entre zanders nas diferentes colorações ambientais não diferiu (Fig. 2.4a). Foi oferecido cerca de 6% do peso corporal dos peixes em alimento (peso bruto) por dia, e a ingestão foi de cerca de  $3,9 \pm 1,7$  % por dia. Embora a ingestão não tenha diferido entre as cores, o ganho de peso foi maior nos animais submetidos ao ambiente vermelho comparado ao azul e branco nos primeiros 14 dias (Anova  $F=2,9$ ,  $p=0,04$ ) e nos últimos 14 dias de experimento (Anova  $F=3,28$ ,  $p=0,03$ ) (Fig. 2.4b).

O peso dos animais não foi estatisticamente diferente no início do experimento (Anova  $F=0,8$   $p=0,53$ ) e todos apresentaram ganho de peso durante os 42 dias sob ambiente colorido (Fig. 2.5). No entanto, a taxa de crescimento específico (TCE) foi significativamente maior nos animais sob coloração vermelha, comparados àqueles submetidos ao ambiente azul e branco (Anova  $F=3,16$ ,  $p=0,03$ ) (Fig. 2.6a). Também a eficiência de conversão alimentar (ECA) foi maior nos animais nas cores vermelha, verde e amarela, comparados ao ambiente branco (Anova  $F=7,17$ ,  $p=0,009$ ) (Fig. 2.6b).

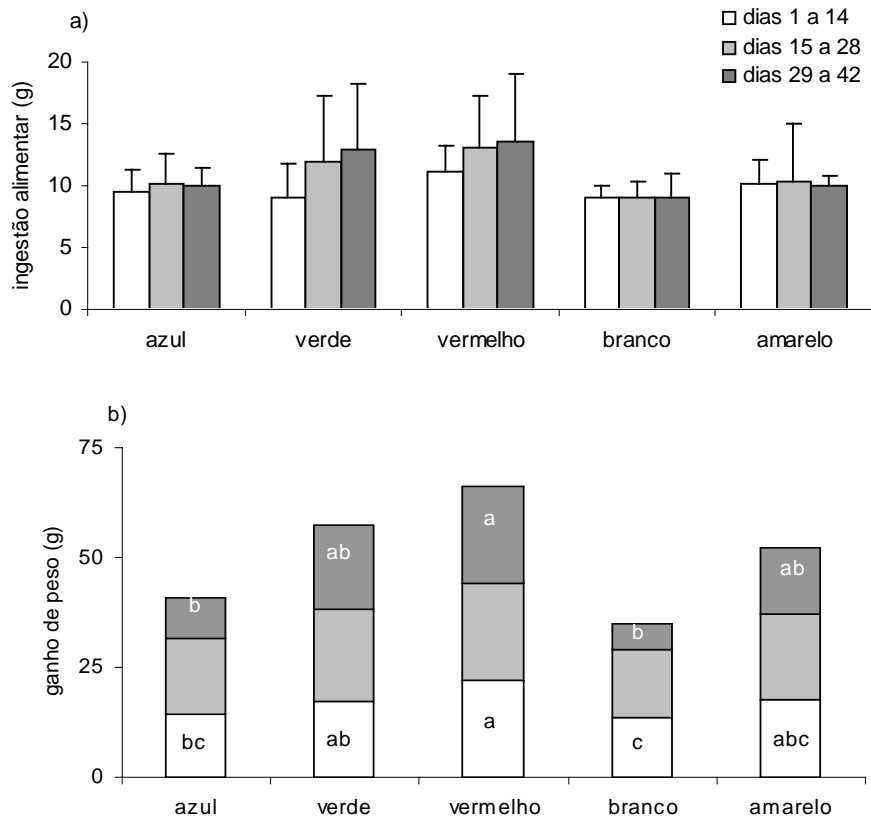


Figura 2.4. a) Ingestão alimentar (peso seco do alimento em g) de zander mantidos sob diferentes colorações ambientais, e b) ganho de peso dos peixes nas diferentes cores. Os dados são as medias de cinco aquários, e as barras de erro são desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cores no mesmo período (Anova,  $p < 0,05$ ). Não houve diferenças na ingestão de alimento dos peixes nas diferentes cores.

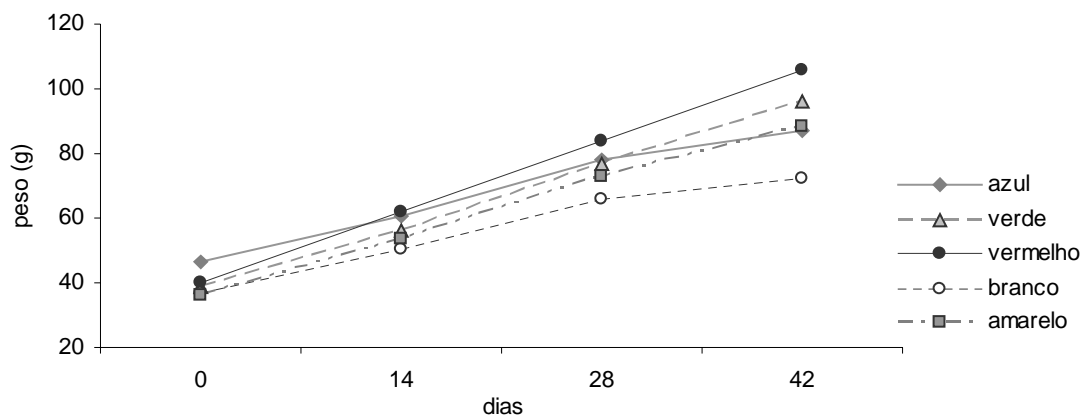


Figura 2.5. Peso do zander no início do experimento e após 14, 28 e 42 dias mantidos em diferentes colorações ambientais (n=5). Não houve diferença no peso dos animais no mesmo dia de medida. Todos os animais apresentaram crescimento significativo durante o período experimental (Anova,  $p < 0,05$ ).

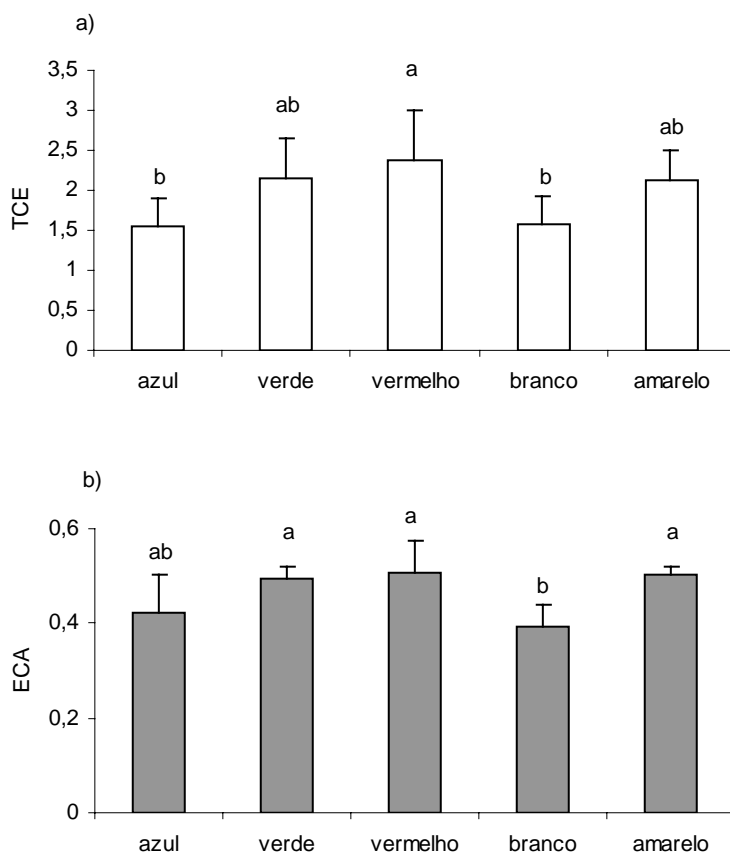


Figura 2.6. a) Taxa de crescimento específico (TCE) do zander sob diferentes colorações ambientais e b) eficiência de conversão alimentar (ECA) nas cores, n=5. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as cores (Anova,  $p < 0,05$ ).

## 2.4. Discussão

Pela primeira vez foi descrita a existência de cones com pigmentos de onda médios e longos na retina de zander, que apresentou absorvência máxima em 535 nm e 603 nm respectivamente, indicando que o zander é capaz de ver cores. A existência de cones na retina do zander está de acordo com dados de outras espécies de percídeos (*Stizostedion* spp. e *Perca* spp), que também apresentam cones duplos vermelhos e cones simples verdes, além da ausência de cones azuis (Ali et al., 1977). A absorvência dos pigmentos nos fotorreceptores apresentados em nosso estudo é similar aos encontrados por Loew & Lythgoe (1978) para perca (*P. fluviatilis*). Estes autores observaram a presença de cones simples absorvendo a 535 nm e cones duplos absorvendo a 615 nm.

Loew & Lythgoe (1978) observaram que os cones duplos quase sempre contêm pigmentos intimamente relacionados com o espectro de luz encontrado no ambiente natural da espécie, e que os cones simples adicionais contêm pigmentos deslocados para comprimentos de ondas mais curtos do que o máximo transmitido no ambiente. McFarland & Munz (1975) estudaram diferentes espécies de peixes e concluíram que um olho que proporcione boa sensibilidade visual ao ambiente deve apresentar um pigmento visual que esteja relacionado com a luz de fundo do ambiente e outro pigmento com comprimento de onda menor. A sensibilidade visual é melhorada em ambientes em que os pigmentos são capazes de capturar grande quantidade de fótons (Cohen & Forward, 2002). Assim, a presença de cones verde simples e duplos vermelhos em zanders, encontrado neste estudo, é indicativo de que o ambiente natural deste animal compreende principalmente luz com comprimento de onda longo.

Peixes batipelágicos, que habitam ambientes azuis, apresentam pigmentos visuais que absorvem principalmente na região azul do espectro de luz, e aqueles peixes que habitam águas esverdeadas ou avermelhadas, devem apresentar pigmentos visuais com maior sensibilidade aos comprimentos de onda longos (Munz, 1958). Os pigmentos visuais de peixes que habitam locais escuros e de águas turbidas devem estar adaptados à qualidade do espectro de luz disponível neste ambiente (Munz, 1958). Parece razoável assumir que a seleção natural opera moldando o pigmento visual presente na retina dos animais de acordo com o tipo de luz disponível para os mesmos. Assim, a melhor performance de crescimento do zander no

ambiente vermelho deve estar relacionada à sensibilidade e acomodação visual no ambiente onde os pigmentos visuais puderam capturar maior número de fótons. Desta forma, os pigmentos visuais do zander possivelmente combinam melhor com a luz de comprimento de onda longo presente no ambiente vermelho, o que pode ter afetado o bem estar deste animal.

Os zanders não apresentaram preferência por nenhuma das colorações durante o teste de preferência, o que pode estar relacionado à absorbância principalmente de comprimentos longos de onda da luz dos pigmentos na retina destes peixes, como aqui descrito, e ao seu comportamento de evitar luz (Luchiari et al., 2006a), já que a visão de cores depende da presença de luminosidade adequada. Peixes como a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) apresentam preferência por cores quando submetidas ao mesmo tipo de teste de preferência (Luchiari et al., 2006b; Luchiari & Pirhonen, submetido). A tilápia-do-Nilo, que possui sete genes para opsinas, apresenta sensibilidade por todo o espectro de luz visível (Spady et al., 2006). A truta arco-íris também é sensível a ampla gama de cores, de ultra-violeta a vermelho (Hawryshyn & Hárosi, 1994). No entanto, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) não apresenta qualquer preferência quando submetido a este tipo de teste (Luchiari, 2003), e como caracídeo, apresenta apenas pigmentos visuais para o verde e vermelho, além de também habitar águas turbidas (Levine & MacNichol, 1982). Desta forma, parece que a discriminação de cores no ambiente e a preferência por cores deve estar relacionada à presença de células fotoreceptivas na retina e às características do ambiente em que cada espécie evoluiu.

Apesar do zander não apresentar preferência por cores, observamos que as colorações ambientais têm algum efeito sobre este peixe, alterando a conversão alimentar e ganho de peso. Os resultados deste estudo mostram que o vermelho aumenta a conversão alimentar e o ganho de peso, enquanto as cores branca e azul parecem restringir o crescimento nesses peixes.

Outros autores também estudaram o efeito de cores em peixes. Papoutsoglou et al. (2000), Tamazoutz et al. (2000) e Peña et al. (2005) encontraram efeitos negativos do ambiente preto em relação ao branco em carpa comum, perca e *spotted sand bass* (*Paralabrax maculatofasciatus*), respectivamente. Alguns autores compararam os efeitos do ambiente verde a azul no crescimento. Papoutsoglou et al. (2000) mostraram que o ambiente verde induz crescimento intermediário entre o branco e o preto em carpa comum, e em outro estudo,



Papoutsoglou et al. (2005) observaram que tanques azuis aumentam o crescimento de trutas arco-íris em relação aos tanques brancos e pretos.

Alguns estudos que abordam os efeitos da coloração da luz em peixes observaram efeitos positivos da luz verde no crescimento de carpa prateada e carpa comum (Radenko & Alimov, 1991; Ruchin et al., 2002) e da luz azul no crescimento de *guppy* (*Poecilia reticulata*) e *chinese sleeper* (*Perccottus glenii*) (Ruchin, 2004). Ruchin (2004) encontrou efeitos negativos da luz vermelha no crescimento de três espécies de peixes e sugeriu que o ambiente vermelho deve promover alterações energéticas, endocrinológicas e bioquímicas em peixes. No entanto, neste estudo a coloração ambiental vermelha trouxe os melhores resultados de crescimento e conversão alimentar para zanders, enquanto o verde e amarelo induziram resultados intermediários de TCE, em comparação com as cores branca e azul.

Em relação à ingestão alimentar, a taxa diária de ingestão de percídeos predadores durante a fase de crescimento é cerca de 3 a 7 % do peso corporal (Popova & Sytina, 1977; Swenson, 1977). A atividade alimentar ótima está relacionada com a adaptação à baixa intensidade luminosa, normalmente restringindo o período alimentar ao início da manhã e término da tarde (Collette et al., 1977), já que zanders são usualmente inativos durante o dia (Popova & Sytina, 1977). Neste estudo, os animais foram alimentados duas vezes por dia (manhã e tarde), mas a intensidade luminosa foi mantida constante ao longo de todos os dias. Foi oferecido aos peixes  $8,1 \pm 2,9$  % do peso corporal em alimento, diariamente, em todas as colorações ambientais, e não houve diferenças de ingestão nas diferentes cores (cerca de 4% do peso do corpo/dia). Outro fator que limita o crescimento destes animais é a quantidade de oxigênio dissolvido na água, mais similares aos níveis ótimos para salmonídeos do que aqueles de outros percídeos (Marshall, 1977). Novamente, neste estudo mantivemos concentrações altas de O<sub>2</sub>, de cerca de  $7,7 \pm 0,4$  mgO<sub>2</sub>/l, em todos os tratamentos ao longo do experimento, assim este fator não pode explicar as diferenças no ganho de peso dos animais. Portanto, o efeito das cores na eficiência de conversão alimentar e crescimento, mostrados neste estudo, deve estar relacionado ao gasto energético nos ambientes de diferentes colorações.

De fato, o crescimento é um dos primeiros processos a ser suprimido quando condições de estresse são impostas ao animal (Moberg, 1999). Assim, a maior taxa de crescimento específico, como observado no ambiente vermelho, pode ser indicativo de melhor

condição ambiental para o peixe. Além disso, nos ambientes vermelho, verde e amarelo a ECA foi maior do que no azul e branco, enfatizando o efeito favorável da luz de comprimento de onda longo para esta espécie. Os resultados deste estudo indicam que a coloração ambiental vermelha aumenta o desempenho do zander possivelmente pela característica dos fótons que penetram neste ambiente, que podem ser absorvidos facilmente pelos pigmentos visuais deste peixe. Sendo que o zander apresenta pigmentos com pico de absorção em 535 e 603 nm, o ambiente luminoso experienciado na luz vermelha deve ter permitido melhor acomodação visual e bem estar, aumentando a eficiência da alimentação e o ganho de peso.

## **2.5. Conclusões**

Embora não apresente preferência pelas cores testadas, o zander é capaz de ver cores, pois possui retina composta por cones verdes e vermelhos, além de bastonetes. A coloração ambiental vermelha, comprimento de onda longo, deve favorecer melhor visibilidade ao zander e proporcionar o bem estar a esta espécie, beneficiando o ganho de peso e o crescimento.

## 2.6. Referências

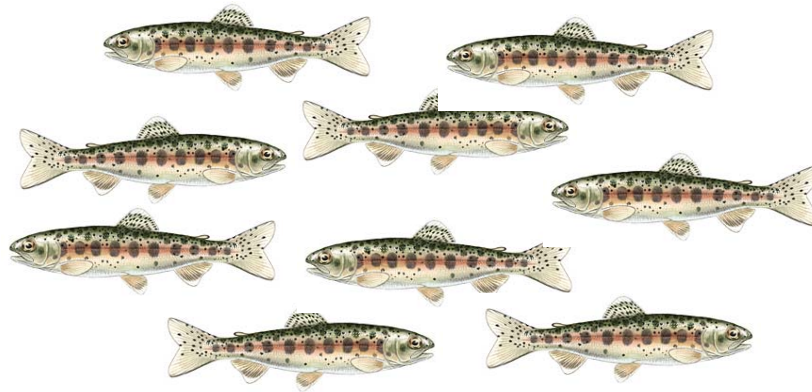
- Ali MA, Ryder RA, Anctil M. 1977. Photoreceptors and visual pigments as related to behavioral responses and preferred habitats of perches (*Perca* spp.) and pikeperches (*Stizostedion* spp.). J Fish Res Board Can 34, 1475-1480.
- Bowmaker JK, Astell S, Hunt DM, Mollon JD. 1991. Photosensitive and photostable pigments in the retinae of Old World monkeys. J Exp Biol 156,1-19.
- Braekevelt CR, McIntyre DB, Ward FJ. 1989. Development of the retinal tapetum lucidum of the walleye (*Stizostedium vitreum vitreum*). Histo Histopathol 4, 63-70.
- Brown ME. 1957. The Physiology of Fishes. Academic Press, New York, 453 pp.
- Cohen JH, Forward Jr RB. 2002. Spectral sensitivity of vertically migrating marine copepods. Biol Bull 203, 307-314.
- Collette BB, Ali MA, Hokanson KEF, Nagiec M, Smirnov SA, Thorpe JE, Weatherley AH, Willemsen J. 1977. Biology of the Percids. J Fish Res Board Can 34, 1890-1899.
- Craig JF. 2000. Taxonomy and Distribution. In: *Percid Fishes Systematic, ecology and exploitation*. (ed. by J. F. Craig), pp. 1-14. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford.
- Dawkins MS. 1998. Evolution and Animal Welfare. Q Rev Biol 73, 305-328.
- Downing G. 2002. Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. Aquacult Int 33, 251-259.
- Fanta E. 1995. Influence of background color on the behavior of the *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). Braz Arch Biol Technol 38, 1304-1316.
- Fraser D, Leonard ML. 1993. Farm animal welfare. Anim Prod Can 37, 253- 270.
- Gaignon IL, Quemener L, Roux A. 1993. Effects de la diminution de la photoperiode sur la smoltification precoce obtenue en environnement controle chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). B Fr Peche Piscic 66, 307-315.
- Gál D, Lefler KK, Rónyai A. 2005. Effect of temperature on the sexual maturation of pikeperch (*Sander lucioperca* L.). In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), Larvi'05 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium, 00-11 Month 2005, Oostende, Belgium. Eur Aquacul Soc 36, 20-23.

- Hawryshyn CW, Hárosi FI. 1994. Spectral characteristics of visual pigments in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vision Res* 11, 1358-1392.
- Hilge V, Steffens W. 1996. Aquaculture of fry and fingerling of pike-perch (*Stizostedion lucioperca* L.) – a short review. *J Appl Ichthyol* 12, 167-170.
- Lehtonen H, Hansson S, Winkler H. 1996. Biology and exploitation of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in Baltic Sea area. *Annal Zool Fennici* 33, 525-535.
- Levine JS, MacNichol Jr EJ. 1982. Colour vision in fishes. *Sci Am* 216, 108-117.
- Loew ER, Lythgoe JN. 1978. The ecology of cone in teleost fishes. *Vision Res* 18, 715-722.
- Luchiar AC, Duarte CRA, Freire FAM, Nissinen K. 2006b. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Ethol* (*in press*)
- Luchiar AC, Freire FAM, Koskela J, Pirhonen J. 2006a. Light intensity preference of juvenile pikeperch *Sander lucioperca*(L.). *Aquacult Res* 37, 1572-1577.
- Luchiar AC, Pirhonen J. 2006. Effects of ambient colour on site selection and growth of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* (*submitted*)
- Luchiar AC. 2003. Coloração ambiental e bem estar em peixes. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Marshall TR. 1977. Morphological, physiological, and ethological differences between walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) and pikeperch (*S. lucioperca*). *J Fish Res Board Can* 34, 1515-1523.
- McFarland WN, Munz FW. 1975. Part III: the evolution of photopic vision pigments in fishes. *Vision Res* 15, 1071-1080.
- Miglavs I, Jobling M. 1989. The effect of feeding regime on proximate body composition and patterns of energy deposition in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *J Fish Biol* 35,1–11.
- Moberg GP, Mench JA. 2000. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. Wallingford, New York, 392 pp.
- Moberg GP. 1999. When does stress become distress? *Lab Anim* 28, 22-26.
- Munz FW. 1958. The photosensitive retinal pigments of fishes from relatively turbid coastal waters. *J Gen Physiol* 42, 445-459.

- Papoutsoglou SE, Mylonakis G, Miliou H, Karakatsouli N, Chadio S. 2000. Effects of background colour on growth performance and physiological response of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacul Eng* 22, 309-318.
- Papoutsoglou SE, Karakatsouli N, Chiras G. 2005. Dietary L-tryptophan and tank colour effect on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacult Eng* 32, 277-284.
- Peña R, Dumas S, Trasviña A, García G, Pliego-Cortéz H. 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult Res* 36, 1239-1242.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed, Chapman & Hall, London, 740 pp.
- Popova OA, Sytina LA. 1977. Food and feeding relations of eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) in various waters of the USSR. *J Fish Res Board Can* 34, 1559-1570.
- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Vop Ikhtiolog* 31, 655-663.
- Rennert B, Wirth M, Günther S, Schulz C. 2004. Influence of nutritional status of zander fingerlings (*Sander lucioperca*) on survival during wintering. *Fischer und Teichwirt* 55, 688-690.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. *J Ichthyol* 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol Biochem* 30, 175-178.
- Ruuhijärvi J, Hyvärinen P. 1996. The status of pike-perch culture in Finland. *J Appl Ichthyol* 12, 185-188.
- Spady TC, Parry JW, Robinson PR, Hunt DM, Bowmaker JK, Carleton KL. 2006. Evolution of the cichlid visual palette through ontogenetic subfunctionalization of the opsin gene arrays. *Mol Biol Evol* 23, 1-10.
- Swenson WA. 1977. Food consumption of walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) and sauger (*S. canadense*) in relation to food availability and physical conditions in lake of the

- Woods, Minnesota, Shagawa Lake, and Western Lake Superior. J Fish Res Board Can 34, 1643-1654.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. Lakhdar. Aquaculture 182, 85–90.
- Volpato GL, Duarte CRA, Luchiari AC. 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. Braz J Med Biol Res 37, 479-483.
- Wheeler TG. 1982. Colour vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. Brain Res Rev 4, 177-235.
- Wunder W. 1930. Construction and function of the retina of the pikeperch (*Lucioperca sandra* Cuv. & Val.) and of some other fish species occurring in Balatonsee. Z Vgl Physiol 11, 749-766.
- Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis. 4<sup>th</sup> edn, Prentice Hall, New York, USA. 567 pp.

**3. Pigmentos visuais, preferência de cores e crescimento de grupos de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1972, Salmoniforme, Salmonidae) mantidas sob diferentes colorações ambientais**



## **Abstract**

Spectral sensitivity of photoreceptor cells, colour preference and the effects of ambient colour on growth were studied in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Microspectrophotometry (MSP) of the photoreceptors in the retina revealed the presence of three cone classes, absorbing maximally at 435, 528 and 573 nm, all containing porphyropsin and rhodopsin based pigment. Preference was tested in 1m<sup>2</sup> tanks divided into 4 lateral compartments with a hole in the middle to allow fish to move between compartments. Each compartment was covered with blue, red, yellow or green gelatin filter and illuminated with fluorescent light at c.50 lx, n=8. Fish were observed and yellow environment colours. In the growth trial rainbow trout were reared in groups (10 fish) for 42 days under different ambient colours (blue, red, yellow, green and white; c. 50 lx, n=5). The fish were fed twice a day to excess and uneaten food was removed. Fish length and weight were measured every 14 days. Growth parameters were analysed. Fish feed intake was higher under green environment, and weight gain was higher under green and yellow colours. Although feed efficiency was not different between colours, specific growth rate was higher under green, yellow and white colours. As the green environmental colour appears to be the preferred colour of rainbow trout, it also seems to be the best colour for maximising growth, while on the other hand, red is the most avoided colour and it restricts growth potential of rainbow trout.



## Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar a absorvância espectral dos fotorreceptores, testar a preferência a cores e testar os efeitos das colorações ambientais no crescimento de trutas arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. A microespectrofotometria (MSP) das células retinianas revelou a presença de três classes de cones, absorvendo maximamente em 435, 528 e 573 nm, todos contendo pigmentos a base de rodopsina e porfiropsina. A preferência foi testada em tanques de 1m<sup>2</sup> divididos em 4 compartimentos com uma passagem central que permitia ao peixe livre acesso entre os compartimentos. Os compartimentos foram cobertos com papel gelatina azul, vermelho, amarelo e verde, e iluminados com luz fluorescente à cerca de 50 lx, n=8. Os peixes foram observados individualmente por 5 dias às 8, 11, 14 e 17 h, quanto à frequência de visitação nos compartimentos. No primeiro e último dias, a preferência foi testada sem coloração nos compartimentos (controle). As trutas mostraram preferência pela coloração verde e amarela. No teste de crescimento, trutas arco-íris foram mantidas em grupos de 10 indivíduos por 42 dias sob diferentes colorações ambientais (azul, vermelho, amarelo, verde e branco; ~ 50 lx, n=5). Os peixes foram alimentados duas vezes por dia em excesso e a comida restante foi removida dos aquários. O peso e comprimento dos animais foram medidos a cada 14 dias e calculados: ganho de peso, ingestão, taxa de crescimento específico e eficiência de conversão alimentar. A ingestão alimentar foi aumentada no ambiente verde e o ganho de peso foi maior nas cores verde e amarela. Embora a eficiência de conversão alimentar não tenha diferido entre as cores, a taxa de crescimento específico foi maior sob coloração verde do que no vermelho e azul. Portanto, a coloração verde mostrou-se a preferida da truta arco-íris, e também o melhor ambiente para crescimento e ganho de peso dos animais. Por outro lado, o vermelho é o ambiente mais evitado e também restringe o potencial de crescimento da truta.

### 3.1. Introdução

A visão de cores é uma importante característica para peixes que habitam regiões iluminadas na natureza, pois podem discriminar detalhes do ambiente que lhes confere vantagens na alimentação, migração ou reprodução (Levine, 1980; Wheeler, 1982). De fato, tanto o ambiente fótico quanto diversos comportamentos dependentes da visão são forças seletivas modulando a capacidade visual de peixes (McFarland & Munz, 1975). Assim, os peixes apresentam diversos sistemas visuais e podem perceber luz do ultravioleta ao infravermelho do espectro (Levine & MacNichol, 1982).

Em algumas espécies de peixes, a sensibilidade visual é modificada durante o desenvolvimento ontogenético (Douglas, 1989), quando passam do hábito zooplancônico para carnívoros. A sensibilidade também pode ser alterada sazonalmente em animais que enfrentam mudanças climáticas drásticas (Whitmore & Bowmaker, 1989), mudanças essas que alteram também o comportamento dos animais. Por exemplo, Fraser et al. (1993) mostraram inversão no padrão de forrageamento do salmão (*Salmo salar*) durante o inverno e verão. Esses autores observaram que os animais são ativos e obtêm seu alimento durante o dia quando em águas quentes, no entanto, se tornam noturnos, mantendo-se em refúgios durante o dia e se alimentando à noite quando a temperatura da água decai.

Entre os salmoniformes, as trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) são carnívoros de hábito diurno que ocupam águas claras. Vivem em pequenos rios, corredeiras, poços e remansos de águas frias e bem oxigenadas, são predadores de peixes e também alimentam-se de insetos. Apresentam adaptações para a visão de cores. As trutas possuem sistema de pigmentos pareados nos cones, em que ocorrem mudanças sazonais e ontogenéticas (Beatty, 1966), que está relacionado com a detecção de presas e predadores (Lythgoe, 1980). Alguns autores sugerem que mudanças na composição do pigmento visual e nas quantidades relativas de células fotosensíveis são adaptações ao fotoperíodo e à temperatura em diferentes períodos do ano, estágio de desenvolvimento e liberação do hormônio tiroxina durante o ciclo de vida (McFarland & Munz, 1975; Muntz & Mouat, 1984; White et al., 2004; Flamarique, 2005). As trutas arco-íris apresentam cinco tipos de células na retina (Hawryshyn & Hárosi, 1994). Foram encontrados 2 tipos de cones simples (absorvendo luz UV – 365 nm e luz azul – 434 nm), dois tipos de cones duplos (absorvendo no verde – 531 nm e no vermelho – 576 nm) e

um tipo de bastonete – 521 nm (Hawryshyn & Hárosi, 1994), o que permite visão de cores por todo o espectro da luz.

A detecção de cores permite à truta perceber contraste no ambiente, o que melhora acentuadamente a visão (McFarland & Munz, 1975). Assim, o ambiente colorido pode modificar a visibilidade deste animal, permitindo melhor ou pior ajuste visual dependendo da coloração ambiental. Testes de preferência de cores podem indicar como estes animais interpretam seus ambientes fóticos e qual deles é o melhor ambiente visual para trutas.

Os testes de preferência têm sido usados para indicar o ambiente que um animal escolhe numa situação específica. A discriminação ambiental torna-se útil para indicar a percepção do animal e o estímulo específico que torna um ambiente mais atraente do que outros quando oferecidas opções para a escolha do animal. Esses testes também foram utilizados em diversos estudos para indicar condições de bem estar para o animal (Gonyou, 1994). Portanto, neste estudo testamos a preferência por cores da truta arco-íris, e procuramos relacionar as cores testadas com possíveis indicadores de bem estar animal, como ingestão de alimento e crescimento.

A influência de fatores ambientais na ingestão alimentar, crescimento e reprodução tem sido estudada há muito tempo. Como animais ectotérmicos, peixes são dependentes da temperatura (Boeuf & Le Bail, 1999), mas outros fatores ambientais como salinidade, pH, oxigênio e amônia também influenciam as funções fisiológicas (Lucas & Southgate, 2003). No entanto, a coloração ambiental é um fator que também se altera no ambiente natural, dependendo da luminosidade que penetra a água, vento, presença de partículas orgânicas dissolvidas, entre outros, e pode influenciar a fisiologia e o comportamento de peixes.

Alguns peixes já foram estudados quanto a responsividade à coloração ambiental. Por exemplo, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem preferência pelo ambiente de coloração amarela e os animais dominantes disputam este território expulsando os peixes de menor grau hierárquico para poder ocupar este ambiente (Luchiari et al., 2006). Já o salmão diminui as respostas osmorregulatórias em ambiente amarelo (Gaignon et al., 1993). A variedade das respostas fisiológicas em diferentes colorações ambientais é esperada já que estes animais têm a capacidade de discriminar cores (Brown, 1957; Wheeler, 1982; Pitcher, 1993) e têm sistemas visuais ajustados para o ambiente fótico em que evoluíram (Munz, 1958; Levine & MacNichol, 1982), porém podem diferir para cada espécie.

As informações a respeito dos efeitos da coloração ambiental em peixes ainda são bastante escassas. Assim, para entendermos como estes parâmetros afetam a performance do animal no ambiente, são necessários estudos que indiquem respostas de sucesso sob condições de aquicultura, como o crescimento e a sobrevivência. Os estudos desenvolvidos até agora sobre efeitos da coloração no crescimento de peixes foram feitos em animais mantidos em isolamento social (Radenko & Alimov, 1991; Downing, 2002; Ruchin et al., 2002). No entanto, nenhum estudo mostra estas respostas em animais mantidos em grupo. Sob condições de piscicultura, os peixes são mantidos agrupados, situação que pode alterar o comportamento, a ingestão de alimento e o crescimento, em relação à condição de isolamento. De fato, Hayward et al. (2000) mostraram que o agrupamento impede a expressão total do crescimento compensatório em *sunfish* híbridos (*Lepomis cyanellus* X *L. macrochirus*) quando comparado às respostas em peixes isolados. As interações sociais podem afetar a taxa de crescimento positivamente ou negativamente (Sogard & Olla, 2000). Benefícios do agrupamento incluem aumento na taxa de encontros com presas dispersas, aumento no tempo disponível para forrageamento e diminuição no tempo de vigilância (Pitcher et al., 1982). Porém, os membros do grupo podem ter taxas reduzidas de crescimento causadas pela competitividade e estresse social (Sogard & Olla, 2000).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi analisar os pigmentos visuais presentes nas células retinianas de trutas arco-íris mantidas a 12 °C, testar a preferência por cores deste peixe e comparar os efeitos de diferentes cores no crescimento de trutas mantidas em grupos. Esta informação pode ser importante para o desenvolvimento da piscicultura de trutas.

### **3.2. Metodologia**

Trutas arco-íris de cerca de um ano de idade foram usadas nos estudos de medidas de pigmentos visuais e preferência de cores, e animais de um mês de idade foram usados para o estudo de crescimento. Os animais foram criados na estação de pesquisa Konnevesi, da Universidade de Jyväskylä, Finlândia, e dois meses antes dos experimentos de absorbância dos fotorreceptores e preferência de cores, os animais adultos foram transportados para o laboratório da Universidade de Jyväskylä. Durante este período, os peixes foram mantidos em tanques (500L) com renovação de água contínua (12°C), aeração, e fotoperíodo de 24 horas de

luz, e alimentados diariamente com ração comercial (Royal Response). Para o teste de crescimento, os peixes foram trazidos para o laboratório da universidade e imediatamente colocados nos aquários previamente montados, para aclimatação já no ambiente colorido. Foram mantidos nos aquários, em grupos de 10 animais, com renovação de água constante (17°C), aeração adicional e luz constante (50lx), durante 15 dias. Neste período os peixes foram alimentados diariamente com ração comercial.

#### *Preparação da retina e medidas da curva de absorvância das células fotossensíveis*

Oito trutas arco-íris foram mantidas em ambiente escuro por 24 h. Sob iluminação de luz vermelha fraca, os peixes foram anestesiados com óleo de cravo 10% (mistura com álcool puro 1:9, usando óleo de cravo na concentração de 40 mg/l) dissolvido em água (1,6 ml/l), mortos por deslocamento cervical e os olhos removidos. Metade do número de olhos foi embrulhado em papel alumínio e colocado em gelo para conservação. O restante foi cortado para se retirar a parte frontal, deixando apenas o fundo do olho, e então rapidamente fixado em glutaraldeído 2% por 60 seg, colocado em tubos de Eppendorf (1,5ml) com solução salina e cobertos com papel alumínio para manter abrigado da luz. Os olhos foram então dissecados sob luz infravermelha e pequenas secções de retina foram removidas e colocadas em uma lâmina com uma pequena gota de salina e dextran, coberta com uma lamínula e selada com parafina.

A análise de absorvância das células fotossensíveis foi realizada com um microespectrofotômetro (MSP), de acordo com Bowmaker et al. (1991), como já descrito no capítulo 2. Todas as células lidas encaixaram-se no modelo de presença de vitamina A<sub>2</sub> (porfiropsina).

#### *Teste de preferência*

O teste foi realizado utilizando-se tanques experimentais de 1m<sup>2</sup>, divididos em 4 compartimentos com uma passagem central para permitir que os peixes tivessem acesso a todos os compartimentos (Fig. 2.1). Os compartimentos eram de mesma área e foram cobertos com papel gelatina (Lee® Filters) colorido (azul, verde, vermelho e amarelo) e iluminados com luz fluorescente (Airam 5000 deluxe, L58W950, 3300 lumen), mantendo-se a intensidade a 50 lx em todos os compartimentos, como descrito no capítulo 2.

Oito trutas arco-íris foram testadas isoladamente (1 peixe por tanque) quanto à preferência por cores, durante cinco dias. Cada peixe foi colocado no tanque experimental um dia antes de iniciada as observações para ajuste ao ambiente. No primeiro e quinto dias, os compartimentos não foram cobertos com cores, apresentando luminosidade de 300 lx, e foram utilizados como observações controle. Durante estes dias, a visitação do peixe nos compartimentos foi observada para se identificar possíveis preferências entre os compartimentos. Nos dias 2, 3 e 4, as observações foram feitas com os compartimentos em diferentes cores. A frequência de visitação nos compartimentos foi observada ao longo dos 5 dias e os dados foram coletados a cada 2 minutos durante períodos de 20 min iniciados às 08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h, num total de 40 observações por dia. Os animais não foram alimentados durante o período experimental, assim como no capítulo 2. A temperatura da água foi mantida a 12°C.

Para análise estatística foi utilizado teste de Friedman, pois a preferência do peixe por um compartimento ao invés dos outros prevê dependência nos dados. Em casos de diferença estatística, foi utilizado teste de Dunn's (Zar, 1999).

#### *Crescimento sob diferentes colorações ambientais*

Vinte e cinco aquários (40x20x25cm) foram encapados com papel canson nas cores azul, amarelo, verde, vermelho e branco, e cobertos com papel gelatina colorido, mantendo-se a intensidade luminosa em torno de 50 lx (n=5 para cada cor). Os aquários foram iluminados com lâmpada fluorescente, como descrito anteriormente.

Grupos de 10 trutas arco-íris foram mantidas nos aquários por 42 dias, após o período de ajuste (15 dias). Durante os 28 primeiros dias, os grupos de peixe receberam ração comercial (Skretting Nutra 1,0 mm) duas vezes ao dia, até saciedade. A quantidade de alimento oferecido foi medida diariamente. Nesta fase os animais não conseguiam ingerir alimento maior do que 1mm e, assim, o alimento restante nos aquários não foi mensurado. Porém, cada grupo era alimentado para que sobrasse o menos possível no fundo dos aquários. Nos últimos 14 dias, os animais passaram a receber ração de 1,5 mm, duas vezes ao dia, e a quantidade restante após 30 min do oferecimento foi retirada dos aquários e contada. O peso dos animais foi medido antes do início do período experimental e a cada 14 dias. Antes de

feitas as medidas, os peixes foram anestesiados com óleo de cravo (10%) para minimizar os efeitos do estresse.

O ganho de peso, ingestão alimentar, taxa de crescimento específico (TCE) e eficiência de conversão alimentar (ECA) foram posteriormente calculados. Para as análises estatísticas utilizamos Anova (ou Kruskal-Wallis) e Anova para medidas repetidas, seguidos pelo teste de Student-Newman-Keuls.

### **3.3. Resultados**

#### *Medidas da curva de absorvância das células fotossensíveis*

A retina da truta arco-íris apresenta 3 tipos de cones: azuis, verdes e vermelhos. A composição do tecido é principalmente de cones duplos, um contendo pigmento de comprimento de onda longo com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 573 nm e o outro médio com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 528 nm. Também encontramos cones duplos em que ambas as células apresentaram pigmentos de comprimento de onda longo ( $\lambda_{\text{máx}}$  573 nm) e outros em que ambas as células apresentaram pigmentos de comprimento de onda médio ( $\lambda_{\text{máx}}$  528 nm). Os cones azuis, com pigmento de onda curto ( $\lambda_{\text{máx}}$  435 nm), foram encontrados como células simples. Bastonetes também foram encontrados, porém não foram analisados pela baixa qualidade das células encontradas. A diferença de absorvância do espectro depois de receber luz branca de todas as classes de cones estão apresentados na Fig. 3.1. Embora a maioria dos pigmentos se encaixasse no modelo de porfiropsina (vitamina A<sub>2</sub>), muitas células apresentaram melhor distribuição para rodopsina (vitamina A<sub>1</sub>). Assim, assumimos que a retina da truta arco-íris deve ser composta de pigmentos à base de rodopsina e à base de porfiropsina.

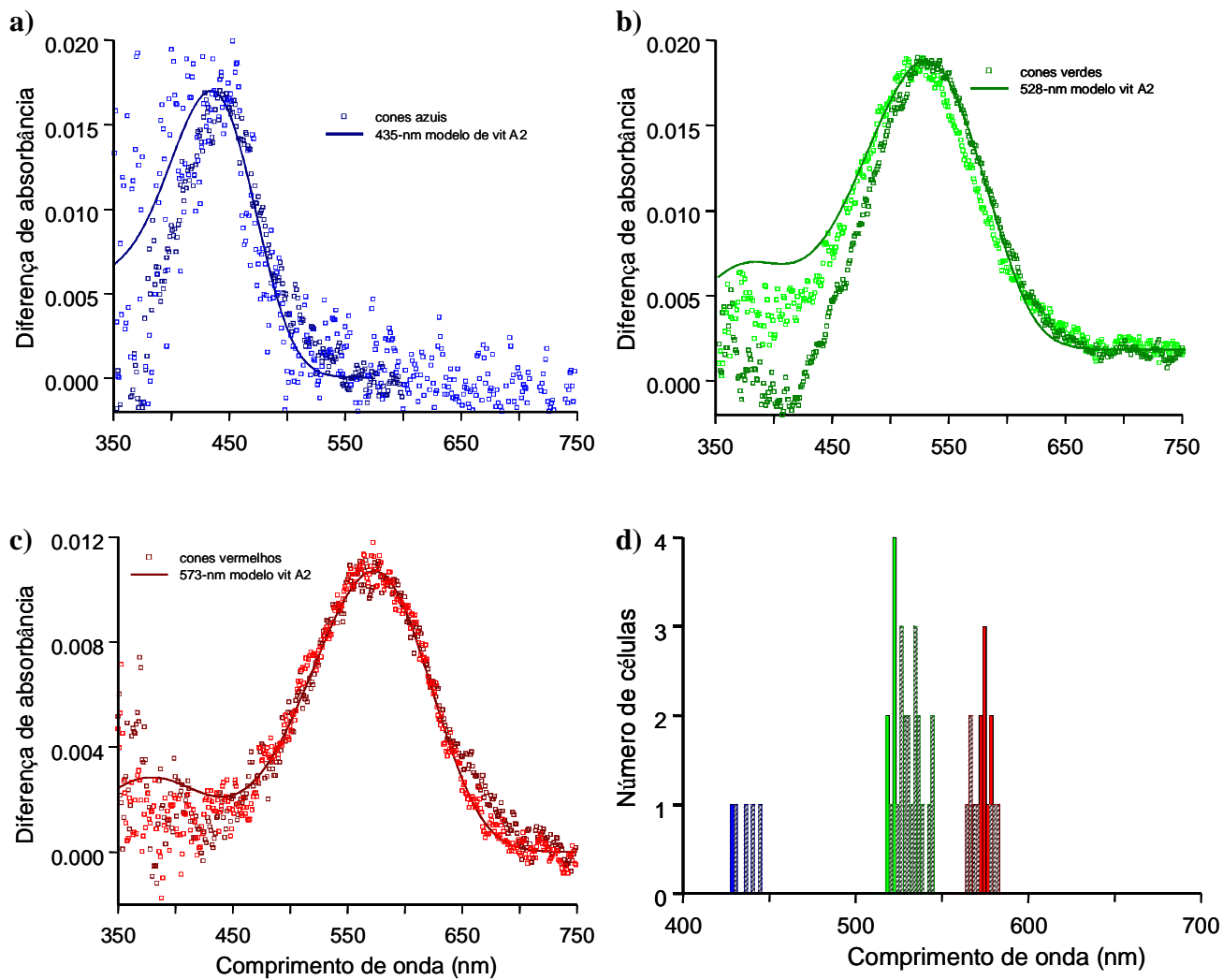


Figura 3.1. Curva de diferença de absorbância derivada de iluminação com luz branca, dados de MSP: a) cones de comprimento de onda curto (SWS), b) cones de comprimento de onda médio (MWS), c) cones de comprimento de onda longo (LWS) e d) distribuição de  $\lambda_{\text{máx}}$  de cones encontrados da retina da truta arco-íris.



### *Teste de preferência*

Durante o primeiro e segundo dias de experimento, as trutas mostraram distribuição semelhante entre os compartimentos (Friedman ANOVA, dia 1:  $\chi^2=5,03$ ,  $p=0,16$ ; dia 2:  $\chi^2=5,38$ ,  $p=0,14$ ; Fig. 3.2a,b). No dias 3, os peixes mostraram maior visitação nos ambientes azul, verde e amarelo (Friedman ANOVA,  $\chi^2=8,58$ ,  $p=0,03$ ; fig 3.2c) e no dia 4, os peixes aumentaram a freqüência de visitação nos compartimentos verde e amarelo (Friedman ANOVA,  $\chi^2=11,2$ ,  $p=0,01$ ; Fig. 3.2d). No último dia de teste, sem a presença de cores nos compartimentos, assim como no primeiro dia, as trutas não apresentaram preferência pelos compartimentos (Friedman ANOVA,  $\chi^2=2,21$ ,  $p=0,53$ ; Fig. 3.2e).

### *Crescimento sob diferentes colorações ambientais*

Durante o experimento, a ingestão de alimento aumentou em todos os grupos de peixes, mas foi significativamente maior no ambiente verde (Kruskal-Wallis  $H=17,5$ ,  $p=0,001$ ) (Fig. 3.3a). A ingestão diária foi de cerca de 5,5 % do peso corporal nos primeiros 15 dias, diminuiu para 3,0% do dia 16 ao dia 30 e aumentou para 4,2% do peso do corpo nos últimos 15 dias. Houve diferença de ganho de peso nas diferentes cores nos primeiros 15 dias (Kruskal-Wallis  $H=12,4$ ,  $p=0,01$ ) e nos últimos 15 dias de experimento (Kruskal-Wallis  $H=23,5$ ,  $p=0,0001$ ). No entanto, o ganho de peso não diferiu nos 15 dias intermediários do período experimental (Kruskal-Wallis  $H=1,25$ ,  $p=0,32$ ) (Fig. 3.3b).

O peso dos animais não diferiu entre as cores no início do experimento, média de  $1,33 \pm 0,3$  g (Anova  $F=1,27$   $p=0,19$ ), e todos os grupos apresentaram ganho de peso durante os 42 dias sob ambiente colorido (Fig. 3.4). A taxa de crescimento específico (TCE) foi significativamente maior no ambiente verde quando comparado ao vermelho e azul (Anova  $F=2,94$ ,  $p=0,04$ ) (Fig. 3.5a), no entanto a eficiência de conversão alimentar (ECA) não diferiu entre os grupos nas diferentes cores (Kruskal-Wallis  $F=4,38$ ,  $p=0,35$ ) (Fig. 3.5b).

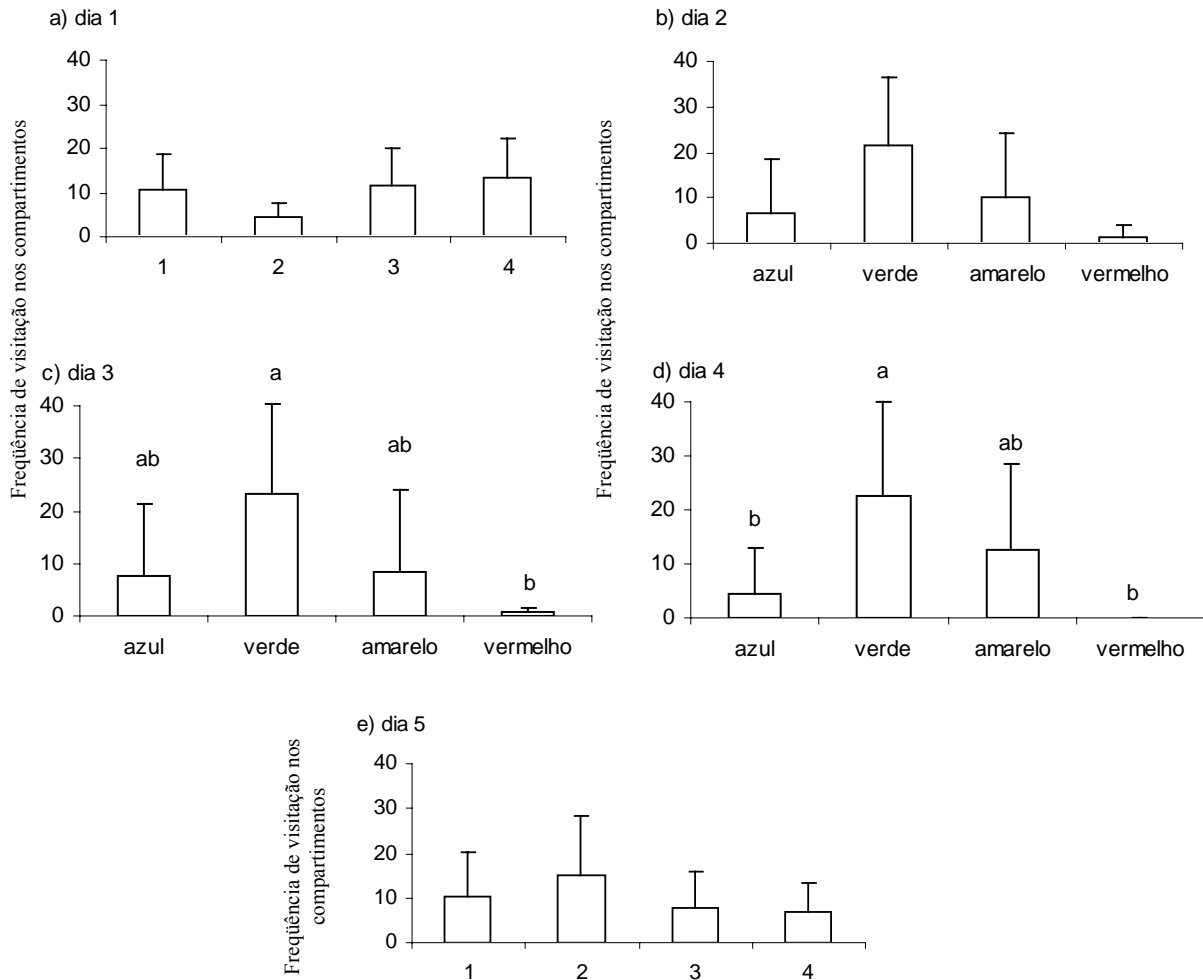


Figura 3.2. Preferência de cores de trutas arco-íris (n=8). O primeiro e quinto dias foram dias controle, sem diferença de cores nos compartimentos. Nos outros dias, cada compartimento foi coberto com uma coloração de papel gelatina (azul, verde, amarelo e vermelho). As barras representam a média de frequência de visitação de 4 observações diárias, às 8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h. Letras diferentes indicam diferença estatística na visitação nos diferentes compartimentos coloridos (Friedman Anova,  $p < 0,05$ ).

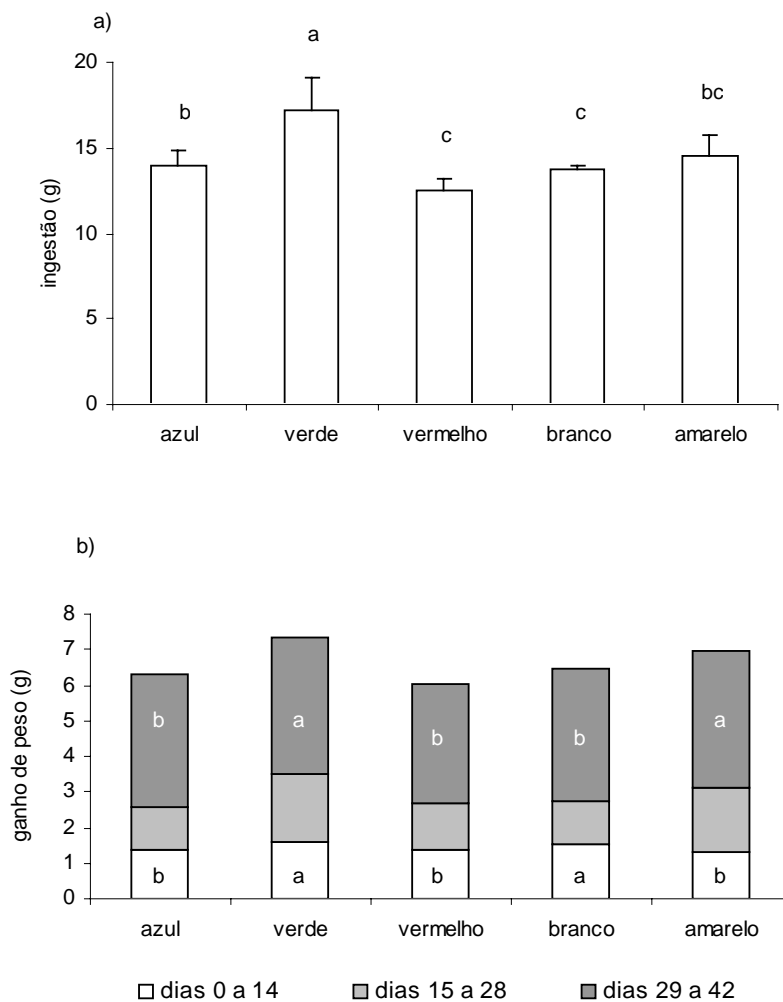


Figura 3.3. a) Ingestão alimentar (g) de trutas arco-íris mantidas em grupos sob diferentes colorações ambientais e b) ganho de peso dos peixes nas cores. Os dados são as médias de cinco aquários (grupos de 10 indivíduos em cada aquário) e as barras de erro são desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cores no mesmo período (Anova,  $p < 0,05$ ).

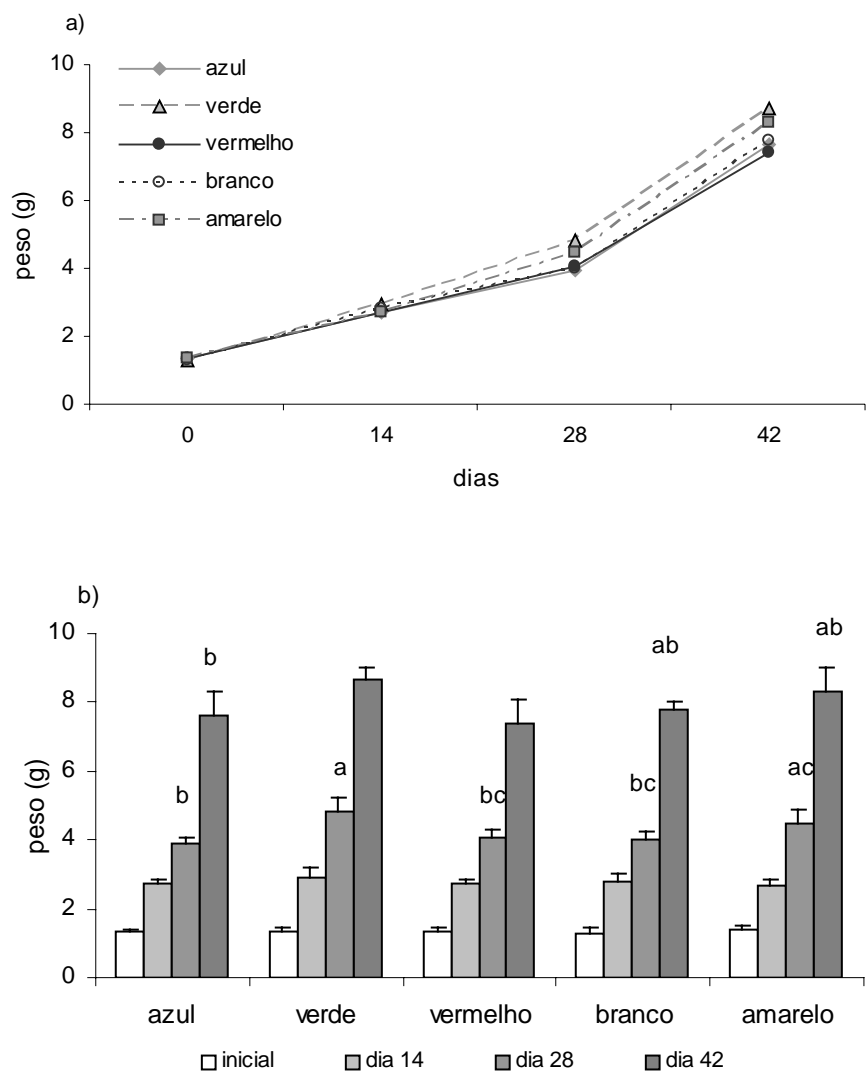


Figura 3.4. Peso de trutas arco-íris durante 42 dias mantidas em diferentes colorações ambientais (n=5). a) Todos os animais aumentaram o peso nos 42 dias de experimento (Anova RM,  $p < 0,05$ ) e b) letras diferentes indicam diferença estatística entre cores no mesmo período (Anova,  $p < 0,05$ ).

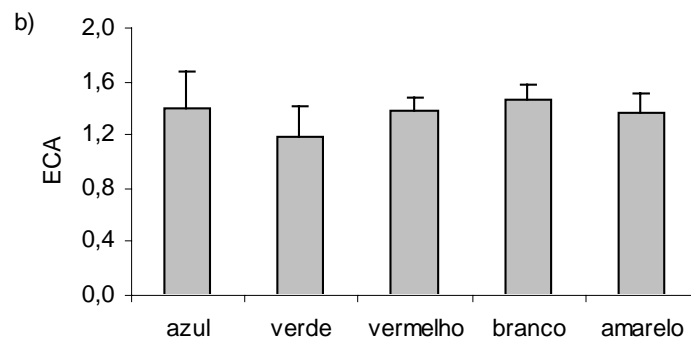
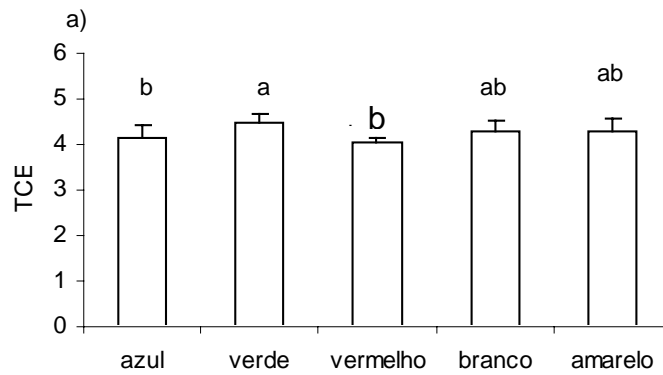


Figura 3.5. a) Taxa de crescimento específico (TCE) de trutas arco-íris sob diferentes colorações ambientais e b) eficiência de conversão alimentar (ECA) nas cores, n=5. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as cores (Anova,  $p < 0,05$ ).

### 3.4. Discussão

Neste estudo mostramos que a truta arco-íris prefere o ambiente de comprimento de onda médio, entre amarelo e verde, e apresenta melhor taxa de crescimento e ingestão alimentar sob coloração verde. Além disso, apresenta 3 tipos de cones na retina, sendo considerado um peixe tricromata. A preferência pelo ambiente verde e amarelo está possivelmente relacionada à presença de pigmentos visuais à base de porfiropsina nas células fotosensíveis, o que confere pigmentos responsivos a espectro mais amplo de luz (Lythgoe, 1980). Assim, a sensibilidade visual no ambiente de comprimento de luz médio (450 a 550nm) é melhorada e isto pode ter sido a causa de melhor resposta de ingestão e crescimento neste ambiente.

Os salmonídeos apresentam mudanças cíclicas nos cromóforos, sendo encontradas maiores taxas de porfiropsina durante o inverno e a primavera e predominância de rodopsina durante o verão e outono (Flamarique, 2005). Esta mudança entre tipos de pigmentos pode ocorrer porque a opsina do fotoreceptor é renovada por retinal (vitamina A<sub>1</sub>) ou 3-dehidroretinal (vitamina A<sub>2</sub>), assim formando o devido pigmento visual, rodopsina ou porfiropsina (Alexander et al., 1994). Como o estudo em questão foi feito mantendo-se a temperatura a 12°C, a composição da retina deve ter sido principalmente de porfiropsina.

A discriminação de cores e o comportamento da truta arco-íris apresentam mudanças dependentes da temperatura da água. Foi demonstrado que o gênero *Oncorhynchus* apresenta um sistema de pigmentos pareados nos cones, cuja composição varia ao longo do ano, em função da estação, e durante o desenvolvimento ontogenético (Beatty, 1966). Segundo Hawryshyn & Hárosi (1994), trutas mantidas a 15 °C apresentam cones azuis com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 434 nm, verdes com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 531 nm e vermelhos com  $\lambda_{\text{máx}}$  de 576 nm, o que está de acordo com os resultados encontrados neste estudo.

A razão porfiropsina / rodopsina do sistema pareado é modulada por fatores que variam de acordo com a sazonalidade, principalmente com a temperatura, o que altera a sensibilidade visual (Tsin & Beatty, 1977). Assim, a preferência por cores parece estar de acordo com a sensibilidade visual dada pelo pigmento à base de rodopsina. É aceito que a natureza mutável da composição do pigmento visual permite ao peixe mudar o sistema visual de sensibilidade do espectro de acordo com a qualidade da luz do ambiente. Esta idéia segue a

hipótese que pigmentos visuais da retina são ajustados para melhorar a captura de fótons disponíveis e melhorar a visão, permitindo ao organismo melhor detecção de presas e predadores (Alexander et al., 1994).

Além disso, este estudo mostrou que a coloração ambiental afeta o ganho de peso de trutas, sendo que o verde favorece a taxa de crescimento específico (TCE) enquanto as cores vermelha e azul resultaram nas menores TCE (Fig. 3.5a). Efeitos positivos do ambiente verde no crescimento também foram observados em carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Radenko & Alimov 1991; Ruchin et al., 2002).

A mudança cíclica de fatores ambientais, como ocorre em altas latitudes, impõe situações diferentes, requerendo mudanças nos parâmetros fisiológicos e nas respostas comportamentais dos animais (Moberg & Mench, 2000). Muitas dessas mudanças podem afetar a taxa de ingestão alimentar e o crescimento, entre outras respostas. Sabe-se que o estresse contínuo leva o animal a sofrer diversos prejuízos, sendo o crescimento um dos primeiros processos a ser afetado (Moberg, 1999). Assim, a coloração ambiental pode ser um fator promotor de bem estar, ou pelo menos um fator que minimize os efeitos do estresse ambiental. Neste estudo, o maior ganho de peso no ambiente verde e amarelo e a alta TCE no ambiente verde sugerem melhor condição para manutenção de trutas, indicando os efeitos favoráveis do ambiente de luz com comprimento de onda médio para o cultivo desta espécie.

Alguns autores compararam os efeitos da coloração da luz e de tanques no crescimento de peixes. Papoutsoglou et al. (2000) mostraram que tanques verdes induzem crescimento intermediário em carpas comuns, comparado aos resultados de tanques pretos e brancos, que induziram crescimento baixo e alto, respectivamente. O *guppy* (*Poecilia reticulata*) e o *chinese sleeper* (*Perccottus glenii*) apresentam taxa de crescimento aumentada sob luz azul (Ruchin, 2004). Tamazoutz et al. (2000) e Peña et al. (2005) observaram baixas taxas de crescimento de percas (*Perca fluviatilis*) e *spotted sand bass* (*Paralabrax maculatofasciatus*) em tanques pretos em relação a brancos. Além disso, peixes mantidos em ambiente preto mostram nível de cortisol plasmático elevado, indicando condição estressante (Papoutsoglou et al., 2000).

Entretanto, para a truta arco-íris somente as cores azul, preto e branco foram testadas, e na coloração azul houve aumento de crescimento e ganho de peso (Papoutsoglou et al., 2005). Em nosso estudo, o azul e o vermelho mostraram resultados similares (baixa TCE) e a

melhor performance de crescimento se deu no ambiente verde. Ao contrário, o baixo ganho de peso sob coloração azul e vermelha sugerem haver efeitos negativos destas colorações sobre o crescimento dos grupos de trutas. Ruchin (2004) também encontrou efeitos negativos da luz vermelha no crescimento de três espécies de peixes. Esta autora sugere haver mudanças no metabolismo energético, mudanças endocrinológicas ou mesmo mudanças bioquímicas e fisiológicas no organismo de animais submetidos ao ambiente vermelho.

Os estudos realizados até o momento mostram que as espécies de peixes respondem diferentemente às cores, porém, algumas cores têm efeitos similares (preto e vermelho) no comportamento e fisiologia da maioria das espécies. Por exemplo, os efeitos da coloração vermelha observados neste estudo e nos estudos de Ruchin et al. 2002 e Ruchin, 2004, o comportamento de “evitação” (*avoidance*) ao vermelho observado no teste de preferência com as trutas (Fig. 3.1) e também em teste de preferência com tilápias-do-Nilo (Luchiarri et al, 2006), indicam que o ambiente vermelho parece ser desfavorável para peixes. Embora esses dados ainda não permitam nenhuma compreensão mais geral dos efeitos de cores sobre peixes, a observação de similaridades e diferenças pode ser relevante e merece maiores investigações.

Neste estudo mostramos que trutas arco-íris mantidas em grupos apresentam alta TCE em ambiente verde, mesmo que a ECA não tenha diferido entre as cores (Fig. 3.5). O crescimento de peixes tem sido aceito como o resultado de vários processos intrínsecos e complexos, abrangendo variadas interações neuro-hormonais (Papoutsoglou et al., 2000) e causas genéticas (Kinghorn, 1983). Variáveis ambientais como disponibilidade de alimento (Ryer & Olla 1996), qualidade e quantidade de alimento (Goldan et al., 1998) e densidade populacional (Huang & Chiu, 1997) também podem interferir nos mecanismos comportamentais que levam ao crescimento. No entanto, neste estudo o mesmo tipo de alimento foi oferecido sempre em excesso e a densidade dos grupos foi mantida a mesma entre tratamentos. Assim, alimento e condição de agrupamento não foram os fatores determinantes para as diferenças de crescimento observadas.

De acordo com Papoutsoglou et al. (2000), as cores dos tanques de cultivo e a luz natural nesses ambientes usualmente são fatores que afetam os peixes e o crescimento pode ser melhorado pela imposição de diferentes colorações ambientais. Portanto, sugerimos que o ambiente verde pode ser positivo para o cultivo de trutas, pois houve aumento no ganho de peso e crescimento nesse ambiente, o que está também de acordo com a coloração ambiental



preferida pela espécie. Sendo que recursos adicionais são de importante valor em estudos de aquicultura e comportamento de animais aquáticos para se estabelecer o bem estar em ambiente de cultivo, este estudo pode contribuir para o relativamente pequeno número de pesquisas sobre preferência ambiental e efeito de cores em peixes e, ainda, para a aplicabilidade deste conhecimento em fazendas de cultivo de peixes.

### **3.5. Conclusões**

O ambiente de preferência da truta, coloração verde, está relacionado com o ambiente de melhor desempenho energético desses animais. A coloração verde deve evitar situações desagradáveis que podem conduzir a estados de distresse, e promover bem estar, melhorando a alimentação e o ganho de peso, permitindo ao animal canalizar energia para seu desenvolvimento.

### 3.6. Referências

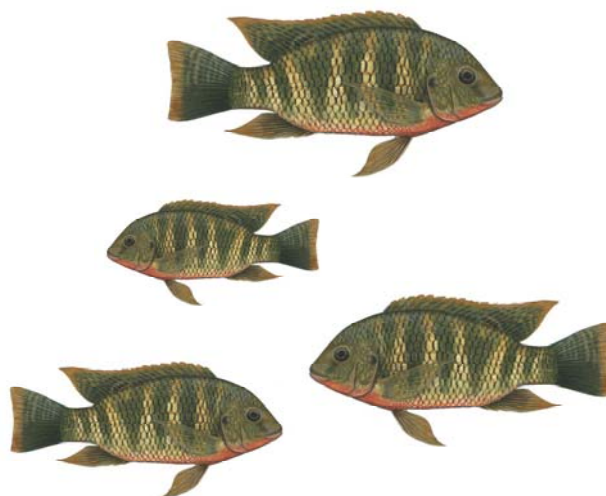
- Alexander G, Sweeting R, McKeown B. 1994. The shift in visual pigment dominance in the retinae of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): an indicator of smolt status. *J Exp Biol* 195, 185-197.
- Beatty DD. 1966. A study of the succession of visual pigments in pacific salmon (*Oncorkynchus*). *Can J Zool* 44, 429-453.
- Boeuf G, Le Bail P-Y. 1999. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture* 177, 129-152.
- Bowmaker JK, Astell S, Hunt DM, Mollon JD. 1991. Photosensitive and photostable pigments in the retinae of Old World monkeys. *J Exp Biol* 156,1-19.
- Brown ME. 1957. *The Physiology of Fishes*. vol. II. pp. 453. Academic Press, New York.
- Douglas RH. 1989. The spectral transmission of the lens and cornea of the brown trout (*Salmo trutta*) and goldfish (*Carassius auratus*) – effect of age and implications for ultraviolet vision. *Vision Res* 29, 861-869.
- Downing G. 2002. Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. *Aquacult Int* 33, 251-259.
- Flamarique IN. 2005. Temporal shifts in visual pigments absorbance in the retina of Pacific salmon. *J Comp Physiol* 191, 37-49.
- Fraser NHC, Metcalfe NB, Thorpe JE. 1993. Temperature-dependent switch between diurnal and nocturnal foraging in salmon. *Proc R Soc Lond* 252, 135-139.
- Gaignon IL, Quemener L, Roux A. 1993. Effects de la diminution de la photoperiode sur la smoltification precoce obtenue en environnement controle chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). *Bull Franc Peche Piscicult* 66, 307-315.
- Goldan O, Popper D, Kolkovski S, Karplus I. 1998. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*) II. Dry food type and live/dry food ratio. *Aquaculture* 165, 313–320.
- Gonyou HW. 1994. Why the study of animal behavior is associated with the animal welfare issue. *J Anim Sci* 72, 2171- 2177.
- Hawryshyn CW, Hárosi FI. 1994. Spectral characteristics of visual pigments in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vision Res* 11, 1358-1392.

- Hayward RS, Wang N, Noltie CB. 2000. Group holding impedes compensatory growth of hybrid sunfish. *Aquaculture* 183, 299-305.
- Huang WB, Chiu TS. 1997. Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. *Aquacult Res* 28, 165–173.
- Kinghorn BP. 1983. A review of quantitative genetics in fish breeding. *Aquaculture* 31, 283–304.
- Levine JS, MacNichol Jr EJ. 1982. Colour vision in fishes. *Sci Am* 216, 108-117.
- Levine JS. 1980. Vision Underwater. *Oceanus* 23, 19-26.
- Lucas J, Southgate P. 2003. *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants* (ed. by J. S. Lucas & P. C. Southgate), pp. 544. Blackwell Publishing, Australia.
- Luchiarri AC, Duarte CRA, Freire FAM, Nissinen K. 2006. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Ethol* (*in press*)
- Lythgoe JN. 1980. *The Ecology of Vision*. Oxford University Press, USA, 270 pp.
- McFarland WN, Munz FW. 1975. Part III: the evolution of photopic vision pigments in fishes. *Vision Res* 15, 1071-1080.
- Moberg GP, Mench JA. 2000. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. Wallingford, New York, 392 pp.
- Moberg GP. 1999. When does stress become distress? *Lab Anim* 28, 22-26.
- Muntz WRA, Mouat GSV. 1984. Annual variation in the visual pigments of brown trout inhabiting lochs providing different light environments. *Vision Res* 24, 1575-1580.
- Munz FW. 1958. The photosensitive retinal pigments of fishes from relatively turbid coastal waters. *J Gen Physiol* 42, 445-459.
- Papoutsoglou SE, Mylonakis G, Miliou H, Karakatsouli N, Chadio S. 2000. Effects of background color on growth performance and physiological response of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacult Eng* 22, 309-318.
- Papoutsoglou SE, Karakatsouli N, Chiras G. 2005. Dietary L-tryptophan and tank colour effect on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacult Eng* 32, 277-284.
- Peña R, Dumas S, Trasviña A, García G, Pliego-Cortéz H. 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult Res* 36, 1239-1242.

- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 740. Chapman & Hall, London.
- Pitcher TJ, Magurran AE, Winfield IJ. 1982. Fish in larger shoals find food faster. Behav Ecol Sociobiol 10, 149-151.
- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. Voprosy ikhtiologii 31, 655-663.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. J Ichthyol 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. Fish Physiol Biochem 30, 175–178.
- Ryer CH, Olla BL. 1996. Growth depensation and aggression in laboratory reared coho salmon: the effect of food distribution and ration size. J Fish Biol 48, 686–694.
- Sogard SM, Olla BL. 2000. Effects of group membership and size distribution within a group on growth rates of juvenile sablefish *Anoplopoma fimbria*. Env Biol Fish 59, 199–209.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. Lakhdar Aquaculture 182, 85–90.
- Tsin ATC, Beatty DD. 1977. Visual pigment changes in rainbow trout in response to temperature. Science 195, 1358-1360.
- Wheeler TG. 1982. Colour vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. Brain Res Rev 4, 177-235.
- White EM, Gonçalves DM, Partridge JC, Oliveira RF. 2004. Vision and visual variation in the peacock blenny. J Fish Biol 65, 227-250.
- Whitmore A, Bowmaker JK. 1989. Seasonal variation in the cone sensitivity and short-wave absorbing visual pigments in the rudd *Scardinius erythrophthalmus*. J Comp Physiol 166, 103-115.
- Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis, 4<sup>th</sup> edn, pp. 567. Prentice Hall, New York, USA. 567 pp.

#### **4. Coloração ambiental e crescimento heterogêneo em tilápia-do-Nilo**

(*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1958, Perciforme, Cichlidae)



## **Abstract**

In this study we examined the influence of different light colours on growth of adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) held in groups. For this, Nile tilapia were reared in groups (4 fish) for 30 days under different ambient colours (blue, red, yellow, green and violet; c. 100 lx, n=6). The fish were fed everyday to excess and uneaten food was removed. Fish length and weight were measured every 10 days. Growth parameters were analysed. Weight gain differences were observed among the individuals of the groups under red, blue, green and violet light, but under yellow light there were no differences in weight gain. Under red colour, heterogeneity in growth was observed earlier than in the other colours. Coefficient of variation of final weight was higher under red light and shorter under yellow light. Therefore, we suggested that red color might play some harmful effect on fish growth, increasing differences among weight when fish are held in groups. On the other hand, yellow light color appears to be positive for this species, since seems to reduce variation in growth of fish maintained in groups, promoting growth homogeneity.

## Resumo

Neste estudo avaliamos a influência de diferentes colorações ambientais no crescimento de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) adultas mantidas em grupos. Os peixes foram agrupados (4 animais) por 30 dias em aquários nas cores azul, vermelho, amarelo, verde e violeta (c. 100 lx, n=6). Cada grupo foi alimentado diariamente em excesso e a comida restante no aquário foi retirada. A cada 10 dias os animais foram pesados e medidos. Foram analisados crescimento, ganho de peso, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso dos grupos nas diferentes cores. O ganho de peso foi diferente nos peixes agrupados sob coloração vermelha, verde, azul e violeta, porém não houve diferenças no ganho de peso dos animais mantidos sob ambiente amarelo. Na coloração vermelha o crescimento heterogêneo foi observado mais cedo do que nas outras cores. O coeficiente de variação do peso final foi maior no ambiente vermelho e menor no ambiente amarelo. Portanto, sugerimos que a coloração vermelha tem efeito negativo no crescimento de grupos de tilápia, aumentando as diferenças de crescimento dos indivíduos. Por outro lado, a coloração amarela parece ser benéfica para a manutenção desta espécie, já que reduz variações no ganho de peso dos peixes do grupo e promove o crescimento homogêneo.

## 4.1. Introdução

Entre todos os vertebrados, os peixes apresentam padrões e estratégias de crescimento bastante diferenciados. Com poucas exceções, os peixes tendem a crescer indeterminadamente, implicando num tamanho nunca fixo, mas contínuo ao longo da vida (Mommsen, 2001). Uma estratégia de crescimento que tem recebido atenção é o crescimento heterogêneo (chet), que é caracterizado por diferentes taxas de crescimento entre animais da mesma espécie. O crescimento heterogêneo é um fenômeno que pode trazer prejuízos à vida dos organismos de um grupo, sendo que os animais que crescem menos não conseguem se reproduzir e podem até chegar à morte. No caso de animais de importância econômica, o chet pode acarretar em prejuízos para os produtores.

Os peixes interagem continuamente com coespecíficos, variando desde a formação de cardumes até espécies estritamente territorialistas. Espécies gregárias têm baixo comportamento agonístico e o isolamento social pode ser um fator estressante, resultando no aumento da taxa metabólica (Delco & Byers, 1963; Parker, 1973) ou diminuição do crescimento comparativamente a animais mantidos em grupo (Eklöv, 1992; Peuhkuri et al., 1995). Por outro lado, para espécies que apresentam comportamento territorial, os custos de interações superam os benefícios. Interações agonísticas tornam-se comuns e o aumento da densidade de peixes no grupo pode causar aumento na taxa metabólica (Li & Brocksen, 1977) e redução do crescimento quando comparado a animais isolados (Eklöv, 1992). O crescimento pode ser inibido em todos os indivíduos do grupo pelo aumento no nível de atividade (Jobling & Reinsnes, 1986) ou pode ser desproporcional, com a formação de hierarquias de dominância e redução da taxa de crescimento dos peixes subordinados (Valerio & Barlow, 1986).

A disparidade de tamanhos entre os membros de um grupo favorece o crescimento heterogêneo, suprimindo o crescimento dos indivíduos menores e contribuindo para o crescimento dos maiores (Sogard & Olla, 2000). Este padrão de crescimento pode aparecer mesmo na ausência de interações agressivas, causado apenas por diferenças genéticas no potencial de crescimento (Rubenstein, 1981) ou por diferentes oportunidades de forrageio entre os indivíduos do grupo. Além disso, o comportamento agressivo dos animais dominantes ou maiores pode diminuir a ingestão ou mesmo aumentar o gasto energético dos indivíduos menores ou subordinados do grupo (Ryer & Olla, 1996), resultando no crescimento



heterogêneo causado pelo estresse social. Com o aparecimento de disparidades de tamanho entre os indivíduos, o canibalismo entre os animais mais distantes na hierarquia torna-se possível (Valerio & Barlow, 1986; Sogard & Olla, 1994). Ao contrário, se os membros do grupo apresentam similaridade de tamanho do corpo e de crescimento, a formação de hierarquias sociais é minimizada e a variabilidade de crescimento é reduzida (Jobling & Reinsnes, 1986).

Além dos fatores relatados acima, a disponibilidade de alimento frequentemente se relaciona com fatores sociais, modificando as taxas de crescimento em um grupo. A redução da oferta de alimento pode aumentar a probabilidade de diferenças no crescimento em espécies que estabelecem hierarquia de acesso ao sítio de alimentação (McCarthy et al., 1992; Carter et al., 1996; Ryer & Olla, 1996). Entretanto, o crescimento heterogêneo tem sido observado também sob condições em que o alimento é abundante (Jobling, 1985), indicando que interações sociais negativas suprimem o crescimento de alguns indivíduos apesar da oferta alimentar.

Os fatores envolvidos no estresse social são complexos, pois incluem tanto agressões físicas como psicológicas (ameaças). Diversos autores discutem os efeitos desse tipo de estresse em processos de crescimento (Pottinger & Pickering, 1992), reprodução (Sohn, 1977), resistência a doenças (Bohus et al., 1987) entre outros. Jobling & Wandsvick (1983) sugerem que o estresse social diminui a ingestão alimentar devido à redução do apetite, além de ocorrerem mudanças nos processos digestivos que diminuem a utilização do alimento ingerido pelos subordinados do grupo. Além disso, parece que o estresse social e o grau hierárquico podem alterar o trânsito intestinal dos animais (Pires-de-Campos, 1993), gerar maior custo energético aos peixes subordinados, aumentar a frequência ventilatória (Barreto et al., 2003) ou mesmo afetar processos osmorregulatórios (Schreck, 1981). Dessa forma, o alimento consumido não é convertido em peso, porém utilizado mais constantemente na demanda energética dos animais subordinados, o que reflete no efeito do estresse social sobre a eficiência de conversão alimentar.

Diversos fatores ambientais podem modificar o balanço entre custos e benefícios de interações sociais, incluindo densidade do grupo, disparidade de tamanho dos indivíduos e disponibilidade de alimento. O aumento do número de indivíduos do grupo pode induzir o crescimento heterogêneo sob condição de alimento limitado, principalmente pelo decréscimo

da taxa de ingestão média dos animais. Porém, altas densidades podem suprimir o crescimento mesmo na presença de quantidade suficiente de alimento (Nijaguna et al., 1986), provavelmente causado pelo efeito prejudicial do estresse social.

Condições ambientais que diminuam a ocorrência de diferenças de crescimento dos indivíduos de um grupo têm recebido atenção dos pesquisadores. Diversos estudos têm abordado aspectos como temperatura, qualidade da água, melhores composições alimentares e densidades populacionais mais adequadas (Ceccarelli et al., 2000). No entanto, sabemos que a manipulação da coloração ambiental pode modificar parâmetros fisiológicos e comportamentais de peixes (Fanta, 1995). Ainda, os peixes desenvolveram ao longo da evolução diversos sistemas visuais, podendo apresentar diferentes morfologias dos olhos, presença de cones e bastonetes e mesmo sensibilidade a diferentes cores (Yokoyama, 2000), sendo que possuem substrato fisiológico para a discriminação de cores (Brown, 1957; Wheeler, 1982; Pitcher, 1993). Além disso, o ambiente visual desses animais abrange colorações azuis, verdes e próximas ao infra-vermelho (Levine & MacNichol Jr., 1982).

Alguns estudos de manipulação da coloração ambiental para peixes têm resultado na modificação de respostas fisiológicas e comportamentais. Por exemplo, a coloração azul pode reduzir o canibalismo larval em matrinxã (*Brycon cephalus*) (Volpato & Camacho, 1998), diminuir a resposta de cortisol após estresse de confinamento (Volpato & Barreto, 2001) e aumentar o investimento reprodutivo de machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Volpato et al., 2004). Espécies como a carpa comum (*Cyprinus carpio*), carpa cruciana (*Carassius carassius*) e carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) apresentam melhores taxas de crescimento em ambientes azul e verde, e diminuição do crescimento em ambiente vermelho (Ruchin, 2004). A tilápia-do-Nilo apresenta preferência pelo ambiente de coloração amarela e animais de maior grau hierárquico deslocam os submissos para ocupar o ambiente amarelo (Luchiari et al., 2006).

Esses dados mostram a influência da coloração ambiental em diversos parâmetros biológicos de peixes, inclusive no crescimento. Desta maneira, sendo que a condição de agrupamento é um fator determinante no aparecimento do crescimento heterogêneo e que a coloração ambiental pode modular o crescimento de animais isolados, o presente estudo testou o efeito da coloração ambiental sobre respostas de crescimento em grupos de tilápia-do-Nilo,

animal notoriamente territorial que apresenta comportamento agressivo e estabelecimento de hierarquia social.

## 4.2. Metodologia

Este estudo foi realizado nos laboratórios do Departamento de Fisiologia (Instituto de Biociências de Botucatu, Unesp). Antes do início do experimento os animais foram mantidos no biotério desse departamento durante 6 meses, em tanques de 2000 litros (1 peixe/10 l, com exemplares de aproximadamente 8 a 15 g), com água constantemente aerada, em temperatura de cerca de 26° C, fotoperíodo de 12:12 h e níveis adequados de amônia (<0,005 mg/l), nitrito (<0,15 mg/l), pH (6,5 a 7,0) e oxigênio dissolvido (> 5,0 mgO<sub>2</sub>/l).

A quantidade de amônia e nitrito os tanques foi analisada com os kits LabconTest Amônia NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub> e LabconTest Nitrito, respectivamente. Quando da ocorrência de excesso de amônia ou nitrito, os animais eram transferidos para outro tanque. O pH foi monitorado com pHmetro (Q-400P, Quimis) e em caso de acidez ou alcalinidade excessiva, foi utilizado o corretivo Labcon Acid ou Labcon Alkali. O oxigênio foi medido com oxigenômetro (YSI 55, F1200, Bernauer) e aumentada a aeração em caso de decréscimo na quantidade de O<sub>2</sub> dissolvido. Durante o período de permanência no biotério, os animais receberam alimentação comercial peletizada e extrusada (Purina® Ltda, Campinas, SP) diariamente.

O estudo consistiu em avaliar o crescimento de grupos de 4 peixes de tamanhos e pesos semelhantes submetidos a ambientes com diferentes colorações: azul, amarelo, verde, violeta e vermelho. A coloração ambiente foi conseguida por meio de papel gelatina colorido (Lee® Filters) colocado sobre o respectivo aquário de cada grupo de indivíduos. Luz fluorescente branca (FLT8-1526 - 15W, LC Light) sobre os aquários proporcionou o ambiente colorido. Camadas adicionais de papel gelatina foram usadas para se homogeneizar a intensidade luminosa entre as diferentes cores (100 lx).

Os animais foram mantidos em aquários de 40x25x20 cm sob condição de coloração por 5 dias para ajuste e por mais 30 dias consecutivos, sendo este o tempo de desenvolvimento do experimento. Os animais foram alimentados diariamente enquanto submetidos aos testes. Foram registrados o tamanho (cm) e o peso (g) de cada animal do grupo

antes do início do experimento e a cada 10 dias, totalizando 4 medições. Foram realizadas 6 réplicas para cada uma das cores em estudo.

O crescimento foi analisado em termos de ganho de peso, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso final ( $CV=sd/média \times 100$ ). Foram comparadas as taxas de crescimento entre animais de mesma hierarquia em diferentes colorações e a entre animais de hierarquias diferentes que cresceram sob a mesma coloração ambiental. Assim, comparamos o efeito da coloração em animais de mesmo grau social e o efeito da coloração no crescimento dentro de um grupo. A quantidade de alimento ingerido foi calculada pela diferença entre o alimento restante após 30 min do oferecimento e a quantidade oferecida. Também foi analisada a linearidade da reta de crescimento dos animais de diferentes hierarquias e comparadas as curvas de crescimento.

Ao final, os dados foram verificados quanto à normalidade e homocedasticidade, e comparados por teste de Anova (seguido pelo teste de Tukey) e Ancova, visando-se identificar a influência das cores no crescimento do grupo de animais, bem como o crescimento de cada indivíduo dentro dos grupos. Para as retas de crescimento foram feitas análises lineares de regressão simples, considerando-se os dias como a variável independente e o tamanho dos animais como dependente.

### **4.3. Resultados**

No início do experimento o tamanho (comprimento) dos animais de cada grupo dentro das cores era idêntico entre si (Anova;  $F=1,0$ ;  $p=1,0$ ). Observamos que no ambiente vermelho, o crescimento dos animais do grupo foi diferenciado após 20 na condição experimental, enquanto nas cores verde, violeta e azul a heterogeneidade ficou evidente apenas no 30º dia (fig. 4.1). No entanto, não houve diferença de peso entre os animais de mesma hierarquia nas diferentes cores (tabela 4.1). Os animais foram classificados em *a*, *b*, *c* e *d*, de acordo com o tamanho do corpo. Segundo Huntigford et al. (1990) o tamanho do corpo é indicativo da hierarquia do animal dentro de um grupo, portanto assumimos aqui que o animal *a* era o dominante (maior tamanho) e os outros eram submissos, sendo que o animal *d* era o de menor escala social (menor tamanho).

No final do experimento, obtivemos pesos bastante diferentes entre os 4 animais de cada grupo, apenas não havendo diferenças significativas entre os animais sob coloração amarela (fig. 4.2a). A figura 4.2b expressa os efeitos da coloração ambiental na taxa de crescimento específico (TCE) dos animais nas diferentes cores, sendo que apenas sob a coloração ambiental amarela os animais de diferentes graus sociais apresentam TCE semelhante (Anova;  $F=0,73$ ;  $p=0,54$ ). As tilápias eram de tamanhos similares no início do experimento e apenas a cor amarela reduziu significativamente o crescimento heterogêneo, dado pela ausência de diferença de tamanho entre indivíduos hierarquicamente diferentes. Sob as outras colorações, percebemos acentuado crescimento do peixe dominante em relação ao animal mais submisso do grupo (animal d). A heterogeneidade no crescimento pode ser observada quando comparamos o coeficiente de variação entre os animais submetidos a cada coloração ambiental (fig. 4.2c). A maior variação ocorreu no ambiente vermelho, enquanto a menor variação entre os pesos dos animais apareceu no ambiente amarelo (Kruskal-Wallis;  $H = 16,3$ ;  $p=0,0027$ ).

Numa outra análise, levando-se em consideração as covariáveis hierarquia e coloração, observamos que poucos indivíduos apresentaram crescimento linear. Como somente os animais dominantes (a) apresentaram crescimento linear em todas as colorações, a análise de Ancova ficou restrita a estes. Desta maneira, a comparação entre os dados dos animais de hierarquia b, c e d não pode ser realizada nesta análise. As retas de crescimento dos animais dominantes nas diferentes cores estão apresentadas na figura 4.3.

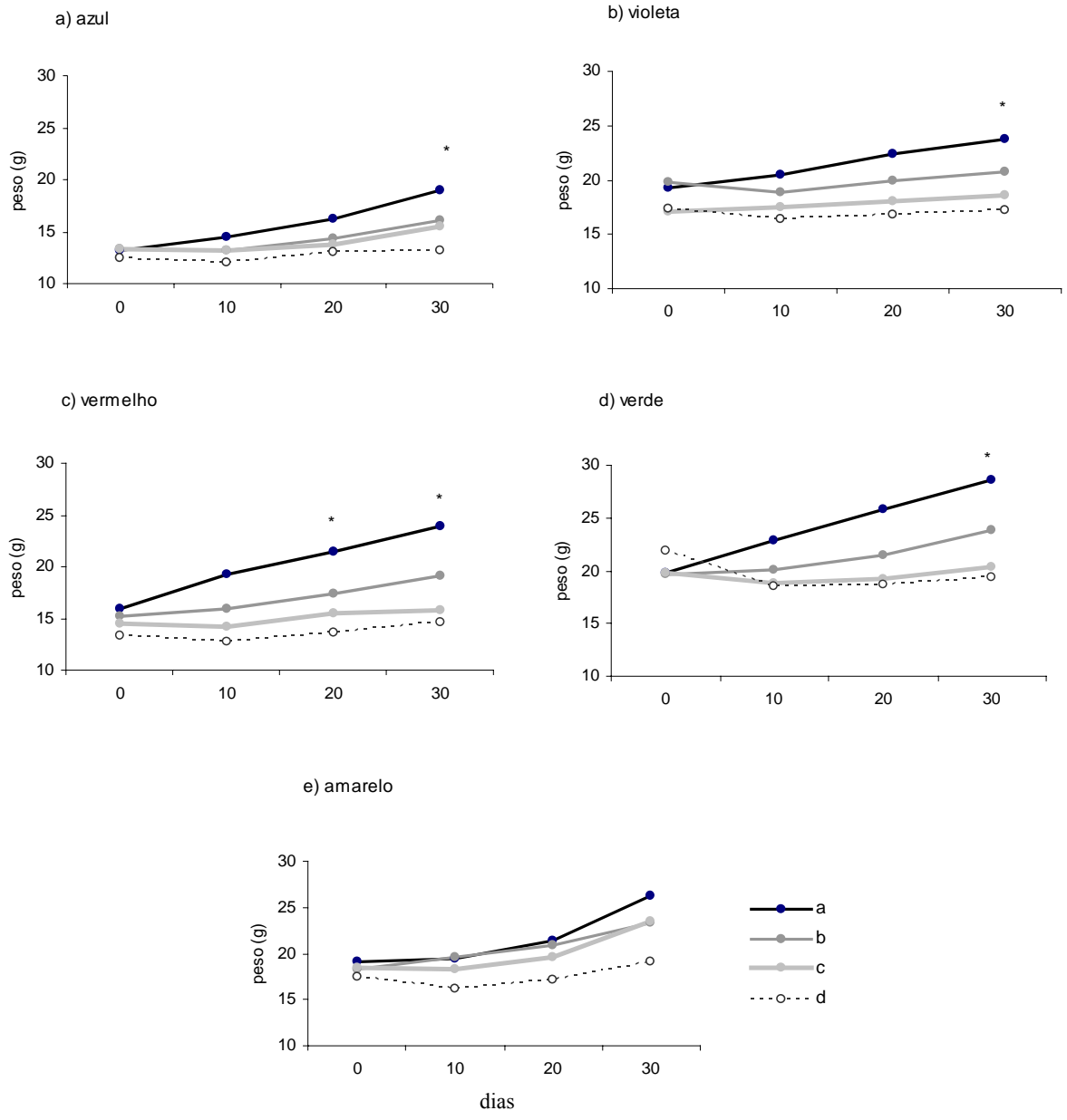


Figura 4.1. Curva de crescimento dos animais agrupados (*a*, *b*, *c*, *d*) em cada coloração ambiental. Cada grupo era formado por quatro peixes que foram classificados de *a* (maior) a *d* (menor) de acordo com o tamanho final (cm). \* significa diferença estatística entre os animais de diferentes classes hierárquicas no mesmo período de observação (Anova,  $p < 0,05$ ).

A coloração ambiental não afetou a taxa de crescimento dos indivíduos apenas nos grupos submetidos à coloração amarela (Anova;  $F=0,73$ ;  $p=0,54$ ). O crescimento dos dominantes nas outras colorações ambientais foi sempre superior aos submissos, afetando assim a homogeneidade de crescimento dentro do grupo (Anova: azul  $F=5,67$ ,  $p=0,01$ ; violeta  $F=22,0$ ,  $p=0,0001$ ; vermelho  $F=0,53$ ,  $p=0,004$ ; verde  $F=5,79$ ,  $p=0,007$ ). Ressaltamos que no início do experimento os animais de cada grupo tinham tamanhos iguais entre si, porém, ao longo dos 30 dias os animais de hierarquias diferentes cresceram com as taxas mais diferenciadas nas cores verde e vermelha, inclusive com taxa negativa de crescimento específico (fig. 4.2b), enquanto que na cor amarela essas taxas foram positivas e similares entre si.

Tabela 4.1. Ganho de peso (g) dos peixes submetidos às diferentes cores.

Hierarquia	Coloração Ambiental				
	Azul	Violeta	Vermelho	Verde	Amarelo
a	1,0±0,36a	0,88±0,25a	1,42±0,60a	1,06±0,24a	1,17±1,04
b	0,55±0,38ab	0,42±0,12b	0,67±0,45b	0,52±0,19a	0,84±1,06
c	0,28±0,26b	0,20±0,15b	0,22±0,31bc	0,30±0,19b	0,66±1,09
d	0,0±0,48b	-0,08±0,25c	0,0±0,51c	-0,16±0,67b	0,30±0,80

Média ( $\pm$  dp) do ganho de peso dos animais após 30 dias sob condição experimental. Cada grupo dentro das condições experimentais era composto por 4 animais, que após 30 dias haviam estabelecido suas hierarquias sociais (a = dominante; b = submisso 1; c = submisso 2; d = submisso 3). Letras diferentes significam diferença estatística entre as hierarquias (coluna) na mesma coloração ambiental (Anova,  $p<0,05$ ). A comparação da mesma hierarquia entre diferentes cores (linha) não mostrou diferença significativa (Anova,  $p>0,05$ ).

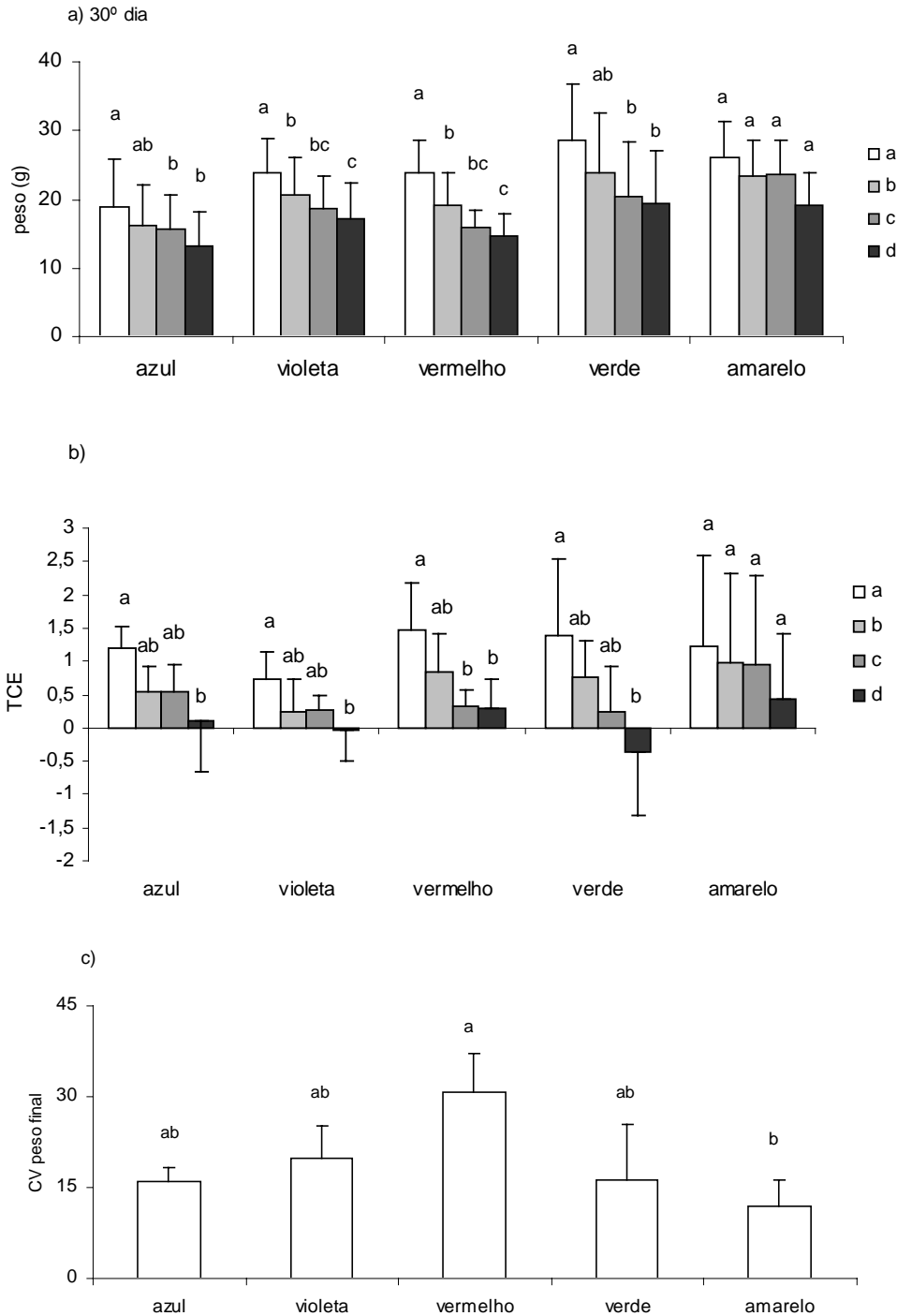


Figura 4.2. a) peso final dos animais do grupo de tilápias-do-Nilo mantidos sob diferentes colorações ambientais, b) taxa de crescimento específico (TCE) dos peixes nos grupos e c) coeficiente de variação do peso final. Os dados estão apresentados como médias de seis aquários, e as barras de erro são desvio padrão. Cada grupo continha quatro peixes que foram classificados de a (maior) a d (menor), de acordo com o tamanho final. Letras diferentes indicam diferença estatística dentro do grupo na mesma coloração ambiental: a) e b) Anova, e c) Kruskal-Wallis;  $p < 0.05$ . Não houve diferença no ganho de peso entre os animais de mesmo grau social(a, b, c ou d) nas diferentes cores.



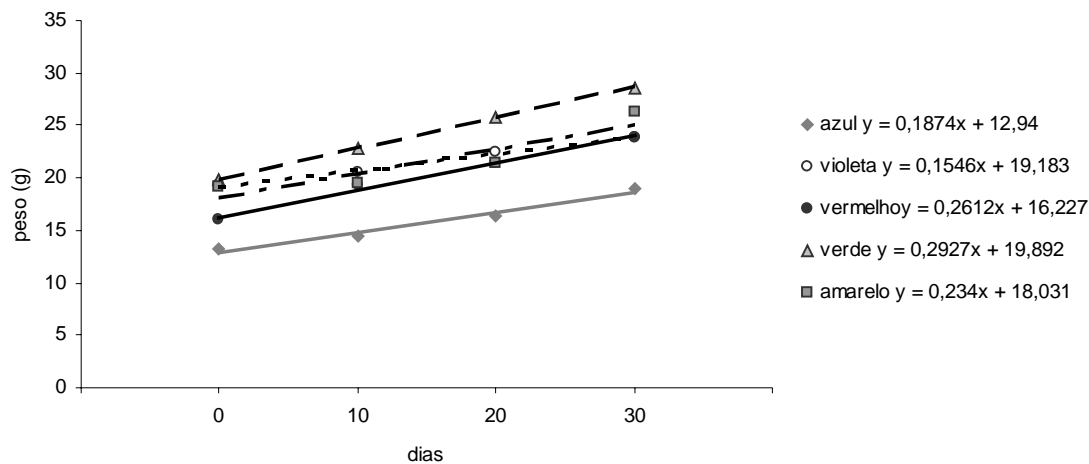


Figura 4.3. Curva de incremento médio no peso dos animais dominantes na hierarquia social estabelecida em grupos de 4 animais mantidos sob as colorações ambientais azul, violeta, vermelho, verde e amarelo durante 30 dias. Houve semelhança estatística entre as retas (Ancova,  $p > 0,05$ ).

### 3.4. Discussão

No presente estudo observamos o efeito de diferentes colorações ambientais em padrões de crescimento na tilápia-do-Nilo. O grupo de animais sob ambiente vermelho apresentou maiores diferenças de crescimento entre os indivíduos, caracterizando o crescimento heterogêneo (chet). As cores azul, verde e violeta induziram diferenças de crescimento, porém mais notórias no último dia de coleta de dados. No entanto, o grupo de animais mantidos sob coloração amarela apresentou taxa de crescimento semelhante entre os indivíduos de diferentes graus hierárquicos, sendo diminuída a heterogeneidade. É relevante lembrar que a cor de preferência da tilápia-do-Nilo é a cor amarela, possivelmente devido a sua sensibilidade visual e às características do espectro de luz presentes em seu ambiente natural (Luchiari, 2003; Luchiari et al., 2006), coloração esta que parece ter homogeneizado o crescimento dos animais do grupo.

O crescimento heterogêneo (chet) é resultado do agrupamento em tilápia-do-Nilo, e esse padrão de crescimento pode aparecer devido a diversos mecanismos, incluindo fatores

intrínsecos do organismo, causas genéticas (Kinghorn, 1983) ou características comportamentais que conferem diferentes performances entre indivíduos (Fraser et al., 2001). Alternativamente, fatores extrínsecos ao organismo (causas ambientais) também podem provocar diferenças de crescimento em um grupo (Pfister, 2003).

Viver em grupos pode reduzir o crescimento individual por competição explorativa de um recurso limitado ou por interações negativas para o estabelecimento de hierarquias sociais (Eklöv, 1992). As interações dominante–submisso existentes entre indivíduos (Koebele, 1985) podem provocar alterações fisiológicas, como resposta de estresse (taxas de adrenalina e cortisol e níveis de glicose sanguínea aumentadas) (Brown, 1946), diferenças na aquisição de alimento (Magnuson, 1962) e alterações na atividade natatória (Knights, 1987) entre os indivíduos do grupo. Esses são alguns dos fatores propostos como envolvidos no aparecimento de diferentes tamanhos nos grupos de animais.

Outras variáveis ambientais como disponibilidade de alimento (Ryer & Olla, 1996), qualidade e quantidade de alimento (Goldan et al., 1998) e densidade do grupo (Huang & Chiu, 1997), também podem interferir nos mecanismos comportamentais que causam crescimento heterogêneo. Smith & Fuimana (2003) mostram que o fator alimento tem efeito significativo no chet e que níveis de variações neste fator podem mudar o grau social dos indivíduos do grupo ou mesmo diminuir disparidades entre as classes hierárquicas. Quando o alimento é oferecido em um determinado local, o animal dominante torna-se mais efetivo em monopolizar o recurso (Magnuson, 1962; Ryer & Olla, 1996), o que aumenta a taxa de crescimento do animal dominante e diminui o crescimento dos outros animais do grupo, que têm dificuldades em adquirir alimento. Embora não seja novidade que o aumento na disponibilidade de alimento aumente também a sobrevivência e o crescimento, estudos têm mostrado que maior quantidade de alimento pode diminuir o chet em peixes por amplificar a probabilidade de ingestão de todos os animais do grupo (Smith & Fuimana, 2003). No entanto, em nosso estudo a oferta de alimento ocorreu de maneira uniforme e em quantidade suficiente para que todos os animais do grupo tivessem oportunidade de ingestão, impedindo que este fosse o fator determinante no aparecimento do chet.

Por outro lado, após o estabelecimento de hierarquias e o aparecimento de diferenças de tamanho entre os animais, o fator alimento pode ter contribuído para acentuar o chet. Smith & Fuimana (2003) e Goldan et al. (1997) sugerem que a vantagem de peixes grandes sobre

pequenos aumenta rapidamente com o tempo, surgindo oportunidades de alimentação desigual entre eles. Uma das desigualdades parece ser relativa à manipulação mais eficiente das partículas alimentares por peixes de maior tamanho, sendo que os peixes menores gastam mais tempo manipulando-as, o que gera vantagem energética dos animais maiores sobre os menores, exacerbando ainda mais o chet. Esta condição pode ter sido uma das causas de maior disparidade de crescimento dos animais sob coloração vermelha, mas não a causa inicial, pois os animais eram de mesmo tamanho no início do experimento, podendo ter ocorrido vantagens no ganho energético após o período em que os animais já apresentavam diferenças de tamanho.

Embora nosso método de alimentação possa não ter afetado diretamente o chet, a frequência de interações agressivas podem ter sido uma das causas. O chet pode ser promovido, entre outros fatores, pelo estresse social imposto pelo animal dominante sobre os submissos. Embora possa reduzir o desempenho de alguns indivíduos, conflitos de interesse fazem parte da vida em grupo (Buston, 2003), e o estresse causado pelo comportamento agressivo dos animais dominantes pode alterar a quantidade de energia disponível para o crescimento dos subordinados, levando a diferenças de ganho de peso entre os indivíduos de um grupo (Fernandes & Volpato, 1993).

Neste estudo pudemos perceber que houve estabelecimento de hierarquia de dominância, já que um dos animais do grupo cresceu mais (menos sob ambiente amarelo) e que outro teve o crescimento bastante prejudicado, possivelmente o animal mais submisso na hierarquia. Essa característica de heterogeneidade no crescimento foi ainda mais clara sob coloração vermelha, sendo notável após os 20 primeiros dias de agrupamento.

Se a oferta de alimento foi a mesma, sugerimos que o fator agressividade e estresse social tenham sido marcantes para o aparecimento do chet neste estudo. Além disso, a agressividade tem sido também abordada em outros estudos como conferindo vantagens na determinação da dominância (Ryer & Olla, 1996). Evidências recentes sugerem que a predisposição de dominar outros indivíduos agressivamente pode também ser associada com maior taxa metabólica (Metcalf, 1994), determinada geneticamente (Magnunson, 1962). Outro fator que pode afetar a dominância, porém não intrínseco ao animal, são as situações prévias experienciadas durante a vida, ou seja, animais que confrontaram coespecíficos e tiveram sucesso nos combates tornam-se mais aptos a ganhar confrontos futuros do que

aqueles que já experienciaram derrotas (Chase et al., 1994). Além disso, diferenças de tamanho derivadas de dominância que são estabelecidas cedo na história de vida podem persistir e também ser amplificadas (Pfister, 2003). No entanto, ainda é debatido se o tamanho do corpo, por si só, causa dominância em peixes, ou se maior tamanho do corpo é uma consequência de maior crescimento devido à dominância e agressividade (Huntingford et al., 1990).

De qualquer forma, a variabilidade entre indivíduos pode alterar o ambiente competitivo, pois variações de uso de recurso dentro do grupo tornam-se determinantes do sucesso individual (Pfister, 2003). Diferenças no tamanho também afetam a ocorrência de canibalismo, de predação e eventual capacidade reprodutiva do animal no grupo, sendo o risco de agressão suficiente para diminuir o forrageio dos animais submissos (Pfister, 2003), o que caracteriza o estresse social. Por exemplo, maiores larvas e juvenis de *red drum* (*Sciaenops ocellatus*) podem ser muito agressivos e até praticar canibalismo (Fuiman, 1994). Mesmo na ausência de agressões físicas, esses animais formam hierarquias de dominância que acentuam o crescimento heterogêneo (Smith & Fuimana, 2003).

Assim, animais maiores têm efeito negativo sobre o crescimento e sobrevivência dos menores, podendo a variabilidade entre animais até mesmo afetar a estimativa populacional de resposta a risco de extinção (Uchmanski, 2000; Kendall & Fox, 2002). Se os processos que controlam a mortalidade de peixes são freqüentemente dependentes do tamanho, variações no tamanho absoluto podem ser informativos para se estimar a taxa de sobrevivência dentro de hierarquias (Smith & Fuimana, 2003). Assim, fatores que diminuem o chet, como a coloração ambiental aqui abordada, são de interesse.

No sentido contrário, Buston (2003) discute a importância da manutenção de diferenças entre os animais de um grupo. Diferenças de tamanho podem resolver conflitos entre os membros do grupo porque os subordinados não se tornam ameaça a seus dominantes e estes não se apresentam excessivamente agressivos para com os submissos, sendo o tamanho do corpo uma forma de sinalização do grau social (Buston, 2003). Desta forma, Buston (2003) sugere que o tamanho diferenciado dos indivíduos de um grupo de peixes-palhaço (*Amphiprion percula*) pode ser uma resposta estratégica em seus ambientes sociais, pois cada animal mantém sua classe social e conhece o grau hierárquico dos outros animais do grupo, o que previne conflitos. No entanto, este autor utilizou um animal pouco agressivo

comparativamente ao nosso animal foco, a tilápia-do-Nilo, animal que também utiliza características visuais, como a coloração do corpo (O'Connor et al., 1999) e coloração do olho (Volpato et al., 2003), para sinalizar seu grau hierárquico e diminuir o número de confrontos. Porém, essa sinalização ocorre após diversos confrontos físicos, os quais podem causar prejuízos irreparáveis ao animal subordinado antes mesmo de ser estabelecida qualquer hierarquia. Portanto, a manutenção de diferenças de tamanho em grupos de tilápia-do-Nilo pode ser vista como fator que incidirá em maior taxa de agressão, estresse social e exacerbação do chet, minimizando a viabilidade dos animais não dominantes do grupo.

Buscando soluções para diminuir diferenças de tamanho e assim a agressividade entre os membros de um grupo, Smith & Fuimana (2003) propõem que a diminuição da oferta de alimento reduz o crescimento da maioria dos indivíduos e permite menor número de animais muito agressivos e menor número de animais que crescem mais. No entanto, diminuir a taxa de crescimento não é um fator interessante nem para a produção de pescado e nem para a própria biologia do animal, pois animais pequenos tornam-se mais vulneráveis a predadores e competidores e podem não conseguir acumular energia suficiente para a reprodução e resposta imunológica.

Alguns estudos têm sido endereçados a discutir efeitos da coloração ambiental em peixes. Por exemplo, Downing & Litvak (1999) e Tamazouzt et al. (2000) mostram efeitos benéficos de ambientes brancos para o crescimento e sobrevivência de *haddock* (*Melanogrammus aeglefinus*) e perca (*Perca fluviatilis*), respectivamente. Por outro lado, Howell (1979) mostrou maior resposta de estresse da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e enguias européias (*Anguilla anguilla*) em tanques pretos do que em brancos. Stefansson & Hansen (1989) estudaram o salmão, *Salmo salar*, mantido em tanques cinza e mostraram características de preparo para migração (*smoltificação*) enquanto em tanques verdes isso não ocorreu. Porém, o crescimento do salmão não foi diferente nas duas cores.

No entanto, ainda são escassos os estudos com colorações implicando comprimento de ondas e não apenas ambientes brancos e pretos. Os poucos trabalhos que podemos citar mostram que o ambiente verde e azul parece estimular o crescimento de animais isolados. Radenko & Alimov (1991) e Ruchin et al. (2002) mostram que a taxa de crescimento de larvas da carpa prateada e carpa cruciana aumenta na luz verde. Também o crescimento de carpa cruciana, *rotans* (*Perccottus glenii*) e *guppies* (*Poecilia reticulata*) é maior sob luz verde e

azul e menor em amarelo e vermelho (Ruchin, 2004). Essa autora sugere que pode haver mudanças no metabolismo energético, em taxas hormonais ou outras mudanças bioquímicas e fisiológicas relativas a taxa de crescimento. Ainda Gaignon et al. (1993) revelam efeito negativo da coloração amarela sobre atividade da  $\text{Na}^+, \text{K}^+ - \text{ATPase}$  em salmão.

Apesar desses resultados mostrarem claramente que há diferenças de efeito das cores em diferentes espécies, pode haver elementos comuns no efeito da cor ambiental na fisiologia e comportamento de peixes. Por exemplo, o efeito prejudicial da coloração vermelha, observado tanto em nosso estudo como em outros (Ruchin et al., 2002, Ruchin, 2004), e mesmo o comportamento de evitar este ambiente observado em tilápia-do-Nilo (Luchiari et al., 2006) e em truta arco-íris (Luchiari & Pirhonen, submetido). É interessante observar que a cor vermelha é também a cor considerada sinal de alerta entre vários animais (Randall et al., 2002). Isso indica que a cor do ambiente afeta a vida dos animais, de forma que a reação a elas foi evolutivamente moldada. Embora os dados do presente estudo ainda não permitam uma generalização mais ampla sobre esse fenômeno, a busca da compreensão das leis que o regem é extremamente pertinente e merece maiores investigações.

Neste estudo mostramos o efeito da coloração ambiental em peixes mantidos em grupos de 4 indivíduos. Assim como os dados acima citados a respeito da coloração vermelha sendo nociva para o crescimento, aqui mostramos que grupos sob coloração vermelha apresentam crescimento bastante heterogêneo, e o animal dominante cresce muito mais do que os outros, prejudicando o crescimento do grupo. Assim, a coloração vermelha parece estimular o chet. Também observamos chet nas cores verde, azul e violeta, porém, menos acentuadamente do que no vermelho. No entanto, é interessante destacar que a coloração amarela diminuiu o chet. Os indivíduos cresceram tanto quanto os outros animais nas outras cores, porém os 4 animais do grupo não diferiram em suas taxas de crescimento, sugerindo assim o efeito do amarelo na prevenção do chet, que pode ter ocorrido devido a diminuição das interações agressivas dentro do grupo sob coloração amarela. Como já sugerido por Goldan et al. (1997), interações sociais têm papel importante no desenvolvimento de variações de tamanho.

A tilápia-do-Nilo apresenta preferência pelo ambiente de coloração amarela (Luchiari, 2003; Luchiari et al., 2006). No entanto, mesmo que os testes de preferência indiquem o ambiente preferido de um animal, é válido se saber se este ambiente está relacionado com

aquele onde a espécie apresenta melhor desempenho. Nesse sentido, sugerimos que o ambiente amarelo deve ser benéfico para a manutenção de grupos de tilapia-do-Nilo, pois minimiza variações de tamanho ao longo do tempo, permitindo que indivíduos compartilhem características similares relacionadas ao forrageio e promove homogeneidade de crescimento dentro do grupo. Desta forma, este estudo contribui para o conjunto relativamente limitado de conhecimento sobre efeitos da coloração ambiental sobre padrões e mecanismos de variação individual em grupos de peixes, além de sugerir a aplicabilidade de um recurso simples, como manipulação da coloração ambiental, nas criações de peixes.

#### **4.5. Conclusões**

A coloração ambiental amarela limita a ocorrência de crescimento heterogêneo e pode ser considerado um ambiente adequado para a criação de tilápias-do-Nilo, enquanto o ambiente vermelho acentua a variabilidade de crescimento entre os animais.

#### 4.6. Referências

- Barreto RE, Luchiari AC, Marcondes AL. 2003. Ventilatory frequency indicates visual recognition of an allopatric predator in naive Nile tilapia. *Behav Proc* 60, 235-239.
- Bohus B, Koolhaas JM, Nyakas C, Steffens AB, Fokkema DS, Scheurink AJW. 1987. Physiology of stress: a behavioural view. *In*: Wiepkema, PR & Van Adrichem, PWM (editors). *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Martinus Nijhoff Publishers, Boston, 258 pp.
- Brown ME. 1946. The growth of brown trout (*Salmo trutta* Linn.). I. Factors influencing the growth of trout fry. *J Exp Biol* 22, 118–129.
- Brown ME. 1957. *The Physiology of Fishes*. vol. II. Academic Press: NY.
- Buston P. 2003. Size and growth modification in clownfish. *Nature* 424, 145-146.
- Carter CG, Purser CJ, Houlihan DF, Thomas P. 1996. The effect of decreased ration on feeding hierarchies in groups of greenback flounder (*Rhombosolea tapirina*: Teleostei). *J MarBiol Ass UK* 76, 505–516.
- Ceccarelli PS, Senhorini JA, Volpato GL. 2000. *Dicas em Piscicultura: Perguntas & Respostas*. Santana Gráfica Editora: Botucatu.
- Chase ID, Bartolomeo C, Dugatkin LA. 1994. Aggressive interactions and inter-contest interval: how long do winners keep winning? *Anim Behav* 48, 393-400.
- Delco EA, Byers RJ. 1963. Reduced metabolic rates of two cyprinid fishes. *Copeia* 176–178.
- Downing G., Litvak MK. 1999. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquacult Int* 7, 369–382.
- Eklöv P. 1992. Group foraging versus solitary foraging efficiency in piscivorous predators: the perch, *Perca fluviatilis*, and pike, *Esox lucius*, patterns. *Anim Behav* 44, 313–326.
- Fanta E. 1995. Influence of background color on the behavior of the *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *Braz Arch Biol Technol* 38, 1304-1316.
- Fernandes MO, Volpato GL. 1993. Heterogeneous growth in the Nile tilapia: Social stress and carbohydrate metabolism. *Physiol Behav* 54, 319-323.
- Fraser DF, Gilliam JF, Daley MJ, Le AN, Skalsk GT. 2001. Explaining leptokurtic movement distributions: Intrapopulation variation in boldness and exploration. *Am Nat* 158, 124–135.
- Fuiman LA. 1994. The interplay of ontogeny and scaling in the interactions of Fish larvae and their predators. *J Fish Biol* 45, 55-79.



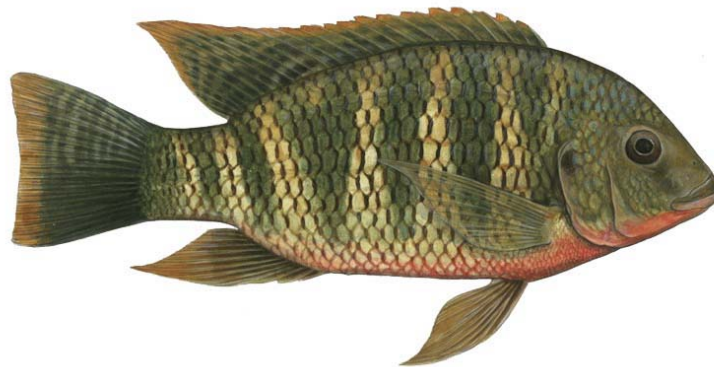
- Gaignon IL, Quemener L, Roux A. 1993. Effects de la diminution de la photoperiode sur la smoltification precoce obtenue en environnement controle chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). B Fr Peche Piscic 66, 307-315.
- Goldan O, Popper D, Karplus I. 1997. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*). I: Particle size and frequency of feeding dry and live food. Aquaculture 152, 181-190.
- Goldan O, Popper D, Kolkovski S, Karplus I. 1998. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*) II. Dry food type and live/dry food ratio. Aquaculture 165, 313–320.
- Howell BR. 1979. Experiments on the rearing of larval turbot, *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture 18, 215–225.
- Huang WB, Chiu TS. 1997. Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. Aquacult Res 28, 165–173.
- Huntingford FA, Metcalfe NB, Thorpe JE, Graham WD, Adams CE. 1990. Social dominance and body size in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. J Fish Biol 36, 877–881.
- Jobling M, Reinsnes TG. 1986. Physiological and social constraints on growth of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.: an investigation of factors leading to stunting. J Fish Biol 28, 379–384.
- Jobling M, Wandsvik A. 1983. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. J Fish Biol 22, 577-584.
- Jobling M. 1985. Physiological and social constraints on growth of fish with special reference to Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. Aquaculture 44, 83–90.
- Kendall BE, Fox GA. 2002. Variation among individuals and reduced demographic stochasticity. Cons Biol 16, 109–116.
- Kinghorn BP. 1983. A review of quantitative genetics in fish breeding. Aquaculture 31, 283–304.
- Knights B. 1987. Agonistic behaviour and growth in the European eel, *Anguilla anguilla* L., in relation to warm-water aquaculture. J Fish Biol 31, 265-276.
- Koebele BP. 1985. Growth and the size hierarchy effect and experimental assessment of three proposed mechanisms; activity differences, disproportional food acquisition, physiological stress. Env Biol Fishes 12, 181–188.
- Levine JS, Macnichol Jr EJ. 1982. Color vision in fishes. Sci Am 216, 108-117.

- Li HW, Brocksen RW. 1977. Approaches to the analysis of energetic costs of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Biol 11, 329–341.
- Luchiari AC, Duarte CRA, Freire FAM, Nissinen K. 2006. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J Ethol (*in press*)
- Luchiari AC. 2003. Coloração ambiental e bem estar em peixes. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Magnuson JJ. 1962. An analysis of aggressive behaviour, growth, and competition for food and space in Medaka (*Oryzias latipes*) (Pisces, Cyprinodontidae). Can J Zool 40, 313–363.
- McCarthy ID, Carter CG, Houlihan DF. 1992. The effect of feeding hierarchy on individual variability in daily feeding of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Fish Biol 41, 257–263.
- Metcalf NB. 1994. The role of behaviour in determining salmon growth and development. Aquacult Fish Manag 25, 67–76.
- Mommsen TP. 2001. Paradigms of growth in fish. Comp Biochem Physiol 129, 207-219.
- Nijaguna GM, Reddy SR, Shakuntala K. 1986. Combined effects of feeding frequency and population density on the food utilization of *Poecilia reticulata* (Peters). Pol Ach Hydrobiol 33, 221–228.
- O'Connor KI, Metcalfe NB, Taylor AC. 1999. Does darkening signal submission in territorial contests between juveniles Atlantic salmon, *Salmo salar*? Anim Behav 58, 1269-1276.
- Parker Jr FR. 1973. Reduced metabolic rates in fishes as a result of induced schooling. Trans Am Fish Soc 102, 125–131.
- Peuhkuri N, Ranta E, Juvonen SK, Lindstrom K. 1995. Schooling affects growth in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. J Fish Biol 46, 221–226.
- Pfister CA. 2003. Some consequences of size variability in juvenile prickly sculpin, *Cottus asper*. Env Biol Fish 66, 383–390.
- Pires-de-Campos S. 1993. Alterações das funções digestivas em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em condições de agrupamento e em relação ao grau hierárquico. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed. London: Chapman & Hall.
- Pottinger TG, Pickering AD. 1992. The influence of social interaction on the acclimation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to chronic stress. J Fish Biol 41, 435-447.

- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. Vop Ikhtiol 31, 655-663.
- Randall D, Burygren W, French K. 1938. Eckert Animal Physiology: mechanisms and adaptations. 5<sup>a</sup> ed. W. H. Freeman and Company, NY, USA, 2002.
- Rubenstein DI. 1981. Individual variation and competition in the Everglades pygmy sunfish. J Anim Ecol 50, 337–350.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. J Ichthyol 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. Fish Physiol Biochem 30, 175–178.
- Ryer CH, Olla BL. 1996. Growth depensation and aggression in laboratory reared coho salmon: the effect of food distribution and ration size. J Fish Biol 48, 686–694.
- Schreck CB. 1981. Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. In: Pickering, AD. (editor). Stress and Fish. Academic Press, London, 421pp.
- Smith MJ, Fuimana LA. 2003. Causes of growth depensation in red drum, *Sciaenops ocellatus*, larvae. Env Biol Fish 66, 49–60.
- Sogard SM, Olla BL. 1994. The potential for intracohort cannibalism in age-0 walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, as determined under laboratory conditions. Env Biol Fish 39, 183–190.
- Sogard SM, Olla BL. 2000. Effects of group membership and size distribution within a group on growth rates of juvenile sablefish *Anoplopoma fimbria*. Env Biol Fish 59, 199–209.
- Sohn JJ. 1977. Socially induced inhibition of genetically determined maturation in the platyfish, *Xiphophorus maculatus*. Science 14, 199-201.
- Stefansson O, Hansen T. 1989. Effects of tank colour on growth and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture 81, 379-386.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. Lakhdar. Aquaculture 182, 85–90.
- Uchmanski J. 2000. Individual variability and population regulation: An individual-based model. Oikos 9, 539–548.

- Valerio M, Barlow GW. 1986. Ontogeny of young Midas cichlids: a study of feeding, filial cannibalism and agonism in relation to differences in size. *Biol Behav* 11, 16–35.
- Volpato GL, Duarte CRA, Luchiari AC. 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. *Braz J Med Biol Res* 37, 479-483.
- Volpato GL, Luchiari AC, Duarte CRA, Barreto RE, Ramanzini GC. 2003. Eye color as indicator of social rank in the fish Nile tilapia. *Braz J Med Biol Res* 36, 1659-1663.
- Volpato GL, Barreto RE. 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz J Med Biol Res* 34, 1041- 1045.
- Volpato GL, Camacho RD. 1998. Coloração ambiental, agressão e crescimento em alevinos de matrinxã. *Anais da XII Reunião da FeSBE, Caxambu-MG*, p. 241-242.
- Wheeler TG. 1982. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. *Brain Res Rev* 4, 177-235.
- Yokoyama S. 2000. Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Prog Retin Eye Res* 19, 385-419.

**5. Crescimento e digestibilidade aparente em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1958, Perciforme, Cichlidae) mantidas isoladas sob diferentes colorações ambientais**



## **Abstract**

In this study we examined the influence of different light colours on growth and digestibility in adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). For this, Nile tilapia were reared in isolation for 30 days under different ambient colours (blue, red, yellow, green and violet; c. 100 lx, n=6). The fish were fed everyday to excess with food prepared with chromium oxide and uneaten food was removed. Fish length and weight were measured every 10 days and faeces were collected during the last 15 days. Growth parameters and dry matter and protein percentage in faeces were analysed. Animals under all colours showed weight gain, except the ones under red colour environment. Specific growth rate and food conversion were not different between colours. Dry matter did not differ between colours but protein digestibility was higher under yellow, white and violet colours and lower under blue light. Therefore, although weight gain variations may not be totally explained by nutrients digestibility, it seems that red colour is not favourable for Nile tilapia growth.

## Resumo

Neste estudo avaliamos a influência de diferentes colorações ambientais no crescimento e digestibilidade de nutrientes de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) adultas. Os peixes foram mantidos em isolamento por 30 dias em aquários nas cores azul, vermelho, amarelo, verde e violeta (c. 100 lx, n=6). Cada grupo foi alimentado diariamente em excesso com alimento contendo marcador óxido de cromo, e a comida restante no aquário foi retirada. A cada 10 dias os animais foram pesados e medidos. Nos últimos 15 dias de experimento, as fezes dos animais foram coletadas para análise de digestibilidade. Foram analisados porcentagem de matéria seca e porcentagem de proteína nas fezes dos animais, ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e coeficiente de variação do peso final dos animais nas diferentes cores. A digestibilidade de matéria seca foi igual para os animais nas diferentes cores, mas a digestibilidade de proteína foi maior nos peixes sob coloração amarela, branca e violeta e menor no ambiente azul. Houve ganho de peso nos animais sob coloração azul, verde, amarela, branca e violeta, mas não sob coloração vermelha. A taxa de crescimento específico e a conversão alimentar não diferiram entre as cores. Assim, embora a digestibilidade de nutrientes não possa explicar diretamente o ganho de peso, sugerimos que a coloração vermelha é desfavorável para o crescimento da tilápia-do-Nilo.

## 5.1. Introdução

A principal característica da luz é a composição do espectro. Na água, raios de luz de diferentes comprimentos de onda atingem diferentes profundidades, dependendo das barreiras que encontram na coluna d'água, como a presença de microorganismos e partículas inorgânicas, formando ambientes de varias colorações (Levine & MacNichol, 1982). Muitas espécies de peixes possuem a visão bem desenvolvida e são bastante sensíveis às diversas colorações que compõem o ambiente aquático.

Os peixes possuem substratos fisiológicos para discriminação de cores (Brown, 1957; Wheeler, 1982; Pitcher, 1993), e diversos estudos são indicativos dos efeitos que a coloração ambiental pode ter sobre processos fisiológicos e comportamentais nesses animais. Por exemplo, larvas de *haddock* (*Melanogrammus aeglefinus*) têm maior sobrevivência sob luz azul e verde (Downing, 2002), a coloração laranja é melhor para o desenvolvimento de ovos de salmonídeos (Heichenbach-Klinke, 1982) e ainda carpas prateadas (*Hypophthalmichthys molitrix*) e carpas comuns (*Cyprinus carpio*) crescem mais sob luz verde (Radenko & Alimov, 1991; Ruchin et al., 2002). Dessa forma, o estudo dos parâmetros físicos que podem modificar a sobrevivência, o desenvolvimento e o crescimento de peixes é essencial para se desenvolver protocolos que maximizem a produtividade desses animais em pisciculturas.

Alguns fatores fisiológicos também têm recebido atenção dos cientistas por afetarem de modo significativo o sucesso dos animais em condição de cultivo. Por exemplo, a taxa de crescimento de grupos de peixes pode ser influenciada pela capacidade digestiva (Bendiksen et al., 2003), e assim, o estudo da digestibilidade de nutrientes e da velocidade de trânsito dos mesmos pode estar relacionado com a taxa de crescimento. O desenvolvimento de peixes pode ser prejudicado quando a formulação da dieta não atinge os quesitos necessários para uma nutrição balanceada (Lucas & Southgate, 2003) ou quando, por algum motivo, o aproveitamento dos nutrientes da dieta não é eficiente, havendo perda de material não digerido nas fezes. Além de prejudicar o crescimento pelo fato da dieta não estar sendo bem aproveitada, a grande quantidade de material rejeitado diminui a qualidade da água, sendo outro fator que influencia o crescimento de peixes (Lucas & Southgate, 2003). A digestibilidade indica o aproveitamento dos nutrientes da dieta e sua intersecção com o crescimento pode indicar a capacidade de conversão do alimento em energia pelo animal.



Desta forma, avaliamos neste estudo a digestibilidade de nutrientes, em dieta balanceada propícia para crescimento de peixes, conjugada a efeitos da coloração ambiental sobre os parâmetros de crescimento. A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, foi o animal de interesse por sua crescente utilização em atividades de piscicultura e por apresentar taxa de crescimento e ganho de peso relativamente altos.

## 5.2. Metodologia

Antes do início do experimento, os peixes foram mantidos nas mesmas condições de biotério descritas no estudo 4. Após a transferência para o laboratório, os animais foram mantidos individualmente em aquários de 40x25x20 cm sob condição de coloração. A coloração do ambiente foi imposta por papel gelatina colorido disposto sobre o aquário de cada animal. Camadas adicionais de papel gelatina foram usadas para se homogeneizar a intensidade luminosa (160 lux) entre as diferentes cores (azul, amarelo, verde, vermelho, branco e violeta), sob incidência de luz fluorescente branca.

Os animais foram mantidos isolados para podermos avaliar a taxa de ingestão individual e para que a coleta de material excretado fosse precisa. Além disso, o período de aclimação foi de 10 dias para garantirmos ajuste do animal à ração oferecida e completa limpeza do trato a resíduos do alimento ingerido durante o período no biotério. Após o período de ajuste, os animais foram acompanhados por 30 dias. Foram registrados o tamanho (cm) e o peso (g) dos animais antes do início do período experimental e a cada 10 dias. Foram realizadas 6 réplicas para cada uma das cores em estudo.

Antes do início do experimento, foi elaborada uma dieta com níveis balanceados de nutrientes. Este procedimento foi realizado no laboratório do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp – Botucatu, sob coordenação da professora Margarida Maria Barros Ferreira Lima.

A ração foi formulada para satisfazer as taxas de proteína, carboidrato e lipídeos requeridos pela tilápia-do-Nilo. Óxido de cromo foi usado como marcador inerte, incorporado na ração formulada na proporção de 1g Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para cada 1000g de material seco.

Quinze dias antes do final do experimento, as fezes dos animais foram coletadas diariamente do fundo do aquário por meio de sucção com mangueira. As fezes foram secas

separadamente em estufa de ventilação forçada a 55 °C e acondicionadas para posterior análise dos componentes.

O material coletado foi analisado quanto à presença e quantidade de óxido de cromo, matéria seca e proteína bruta. O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi calculado pela medida da relação entre nutriente e indicador na ração e no material coletado (fezes):  $CDA (\%) = 100 - 100 \times [(\% Cr_2O_3 \text{ na ração} / \% Cr_2O_3 \text{ nas fezes}) \times (\% \text{ nutriente nas fezes} / \% \text{ nutriente na ração})]$ , como descrito por Bendixsen et al. (2003).

O crescimento foi analisado em termos de ganho de peso, taxa de crescimento específico, coeficiente de variação do peso final e eficiência de conversão alimentar. Ao final da coleta, os dados foram comparados por meio de Anova, visando-se identificar a influência das cores no crescimento e na digestibilidade aparente em cada coloração ambiental.

### 5.3. Resultados

O primeiro passo deste estudo foi a formulação de uma ração balanceada para peixes, incluindo os nutrientes necessário para em uma boa dieta para a tilápia-do-Nilo, um animal herbívoro. Os ingredientes e proporções da ração utilizada estão na tabela 5.1.

No início do experimento o peso dos animais nas diferentes colorações ambientais não apresentou diferença estatística (Anova;  $F=1,87$ ;  $p=0,12$ ). A ingestão de alimento foi estatisticamente semelhante entre os animais em todas as cores: 3% do peso corporal ( $2,58 \pm 0,7g$ ) por dia.

Após 30 dias nas cores, o peso entre os animais não teve diferença estatística ( $F=0,45$ ,  $p=0,80$ ). No entanto, os peixes mantidos sob ambiente azul, violeta, verde, amarelo e branco aumentaram o peso significativamente do início para o final do experimento (azul  $F=3,33$ ,  $p=0,05$ ; violeta  $F=18,33$ ,  $p=0,01$ ; verde  $F=19,21$ ,  $p=0,01$ ; amarelo  $F=18,96$ ,  $p=0,01$ ; branco  $F=7,01$ ,  $p=0,01$ ), enquanto os animais sob coloração vermelha não apresentaram diferença estatística no ganho de peso (RM Anova  $F=0,19$ ,  $p=0,89$ ) (fig. 5.1a). De acordo com a análise do coeficiente de variação do peso final dos peixes em cada cor, observamos que o ambiente amarelo produziu a maior variação ( $CV=29,82$ ), enquanto os animais no ambiente vermelho tiveram a menor variação de peso ( $CV=15,99$ ) (fig. 5.1b).

Tabela 5.1. Ingredientes da ração utilizada para Tilápia-do-Nilo.

INGREDIENTES	QUANTIDADES (%)
Farelo de soja	48,20
Glúten de milho	10,56
Fubá de milho	11,50
Farelo de trigo	14,46
Quirera de arroz	4,69
L-Lisina	1,32
DL-Metionina	0,57
Triptofano	0,03
Treonina	0,62
Óleo de soja	2,00
Fosfato bicálcico	5,50
Vitamina C	0,08
Sal comum	0,10
Premix vitaminas/minerais	0,25
BHT	0,02
Óxido de crômio	0,10*
TOTAL	100,00

\*presença de oxido de crômio para marcação da ração

A taxa de crescimento específico (TCE) e a eficiência de conversão alimentar (ECA) não foram significativamente diferentes entre as cores testadas (TCE: Anova,  $F=0,27$ ,  $p=0,92$ ; ECA: Anova,  $F=0,45$ ,  $p=0,80$ ) (fig. 5.2).

Quanto aos parâmetros indicativos de digestibilidade, os dados são apresentados na figura 5.3. A quantidade de óxido de crômio nas fezes dos animais sob diferentes colorações ambientais foi utilizada para o cálculo da digestibilidade aparente. Em relação a matéria seca nas fezes, nenhuma diferença foi encontrada (Anova,  $F=2,28$ ,  $p=0,07$ ). A digestibilidade de proteína, dada pela diferença entre a quantidade de proteína oferecida na ração e a quantidade encontrada nas fezes, foi maior nas colorações violeta, amarela e branca e menor na coloração azul (Anova,  $F=2,90$ ,  $p=0,03$ ).

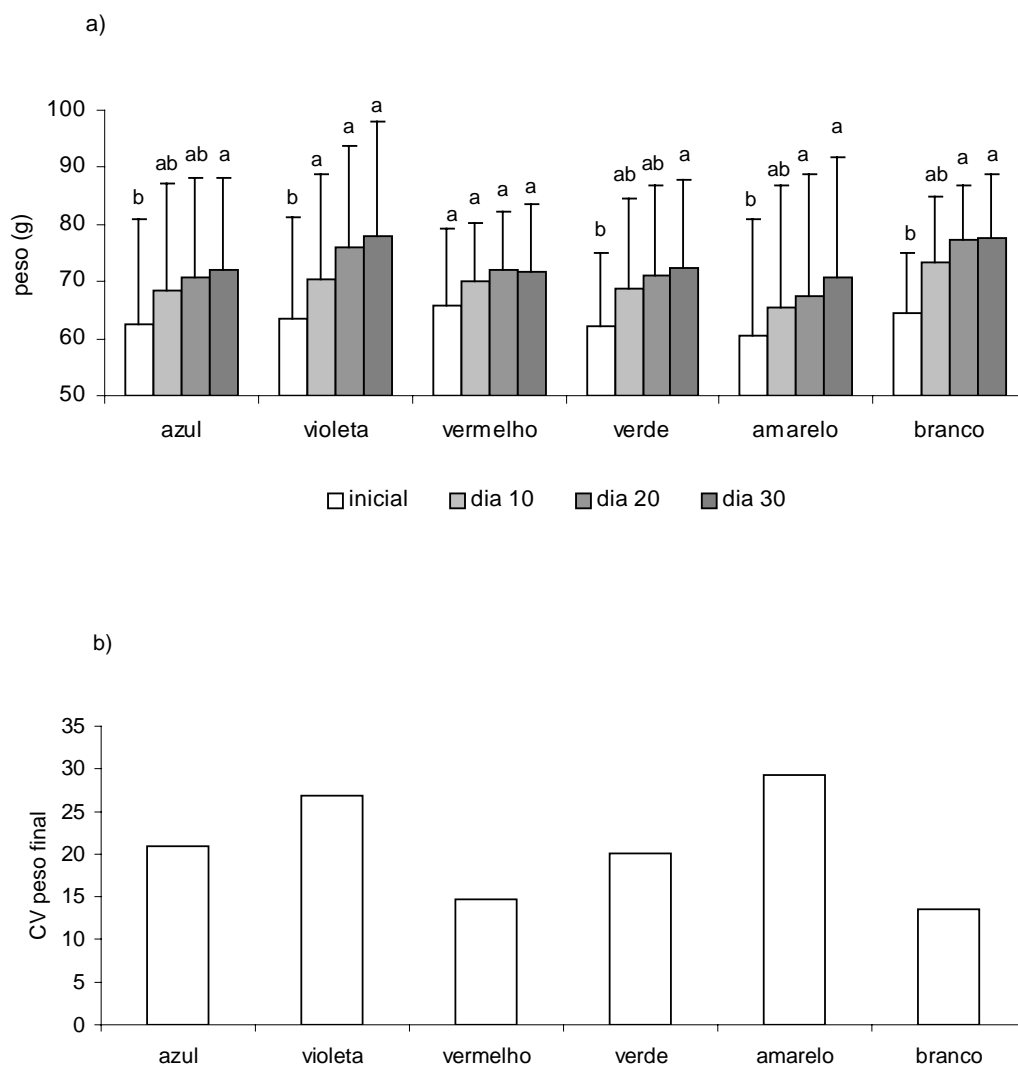


Figure 5.1. a) Peso e b) coeficiente de variação do peso final de tilápias-do-Nilo mantidas individualmente sob diferentes colorações ambientais (n=6). a) Letras diferentes indicam diferença estatística entre os dias de amostragem em cada coloração ambiental (Anova medidas repetidas,  $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre as cores no mesmo dia de amostragem (Anova,  $p > 0,05$ ).

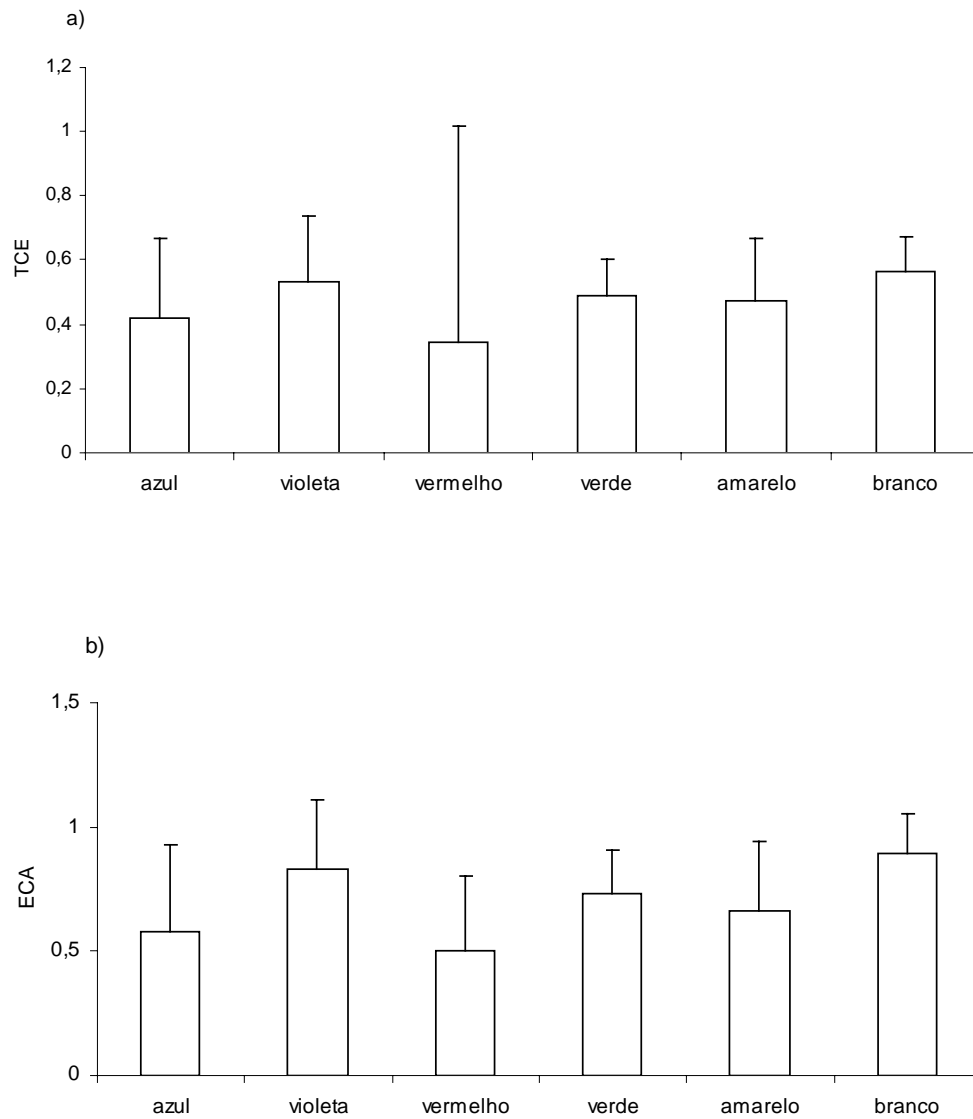


Figure 5.2. a) taxa de crescimento específico (TCE) (dados são a média de quarto dias de pesagem) e b) eficiência de conversão alimentar (ECA) de tilápias-do-Nilo mantidas individualmente sob diferentes colorações ambientais (n=6). Não houve diferença entre os peixes nas diferentes cores. (Anova,  $p > 0,05$ ).

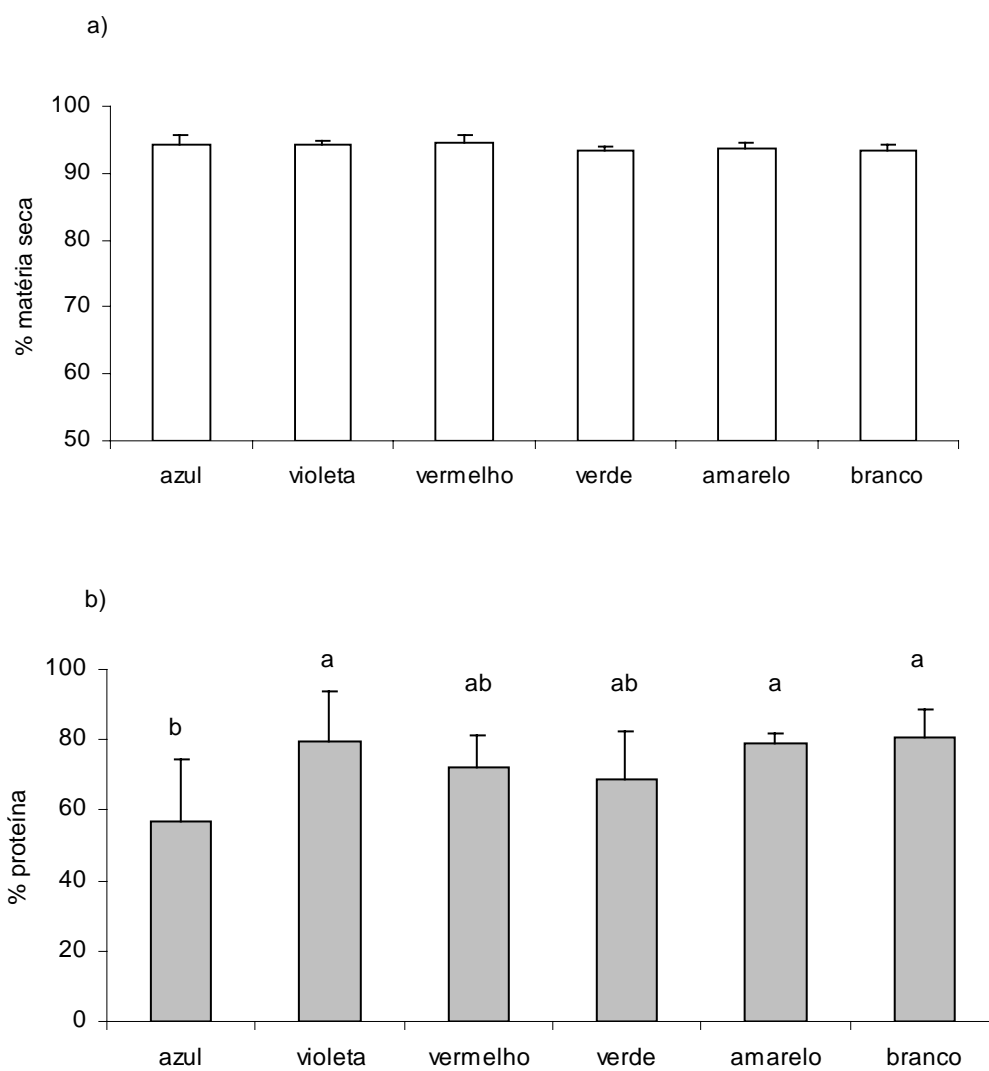


Figura 5.3. Digestibilidade de a) matéria seca e b) proteína de tilápias-do-Nilo mantidas individualmente sob diferentes colorações ambientais (n=6). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os as amostras das diferentes cores (Anova,  $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre os valores de matéria seca das fezes dos animais nas diferentes cores.

#### 5.4. Discussão

Neste estudo observamos o efeito da coloração ambiental sobre o ganho de peso e a digestibilidade da tilápia-do-Nilo. O crescimento dos animais não foi influenciado pela coloração a que foram submetidos, porém houve ganho de peso do início para o final do período experimental nos animais sob coloração azul, violeta, verde, amarela e branca, mas não sob coloração vermelha. Além disso, a coloração azul alterou a digestibilidade de proteína quando comparada ao ambiente amarelo, branco e violeta.

A ingestão de alimentos é um componente comportamental muito associado ao ajuste do animal no ambiente. É comum a constatação de que peixes translocados para ambientes novos demorem alguns dias para início da aceitação de alimento. Fatores ambientais estressantes são classicamente descritos como inibidores da ingestão em peixes (Pickering, 1992; FSBI, 2002). No entanto, apesar da ingestão de alimento ter sido igual para todos os animais em estudo, houve diferença na utilização deste alimento. Os animais sob condição de coloração vermelha não apresentaram ganho de peso significativo comparativamente aos animais nas outras cores, apesar do peso final dos animais não ter diferido entre as colorações (figura 5.1). Além disso, os dados de coeficiente de variação do peso final dos animais indica que o crescimento foi diminuído no ambiente vermelho e branco (menores valores).

De fato, a diminuição na taxa de crescimento, juntamente com a ausência de reprodução e a deficiência imunológica, é um dos primeiros processos a ser afetado na presença de estressores (FSBI, 2002), caracterizando o estado de distresse (Moberg, 1999). Mesmo assim, o efeito das cores sobre o crescimento não foi observado pela análise da taxa de crescimento específico (TCE) e pela eficiência de conversão alimentar (ECA) na tilápia, o que pode significar que esses parâmetros não foram sensíveis o suficiente para as condições deste estudo (figura 5.2).

Mesmo não tendo havido diferença de crescimento entre os animais nas colorações testadas, possivelmente pelo curto período (30 dias) sob condição de coloração a que foram submetidos, há indícios do efeito negativo da coloração vermelha: a ausência de crescimento significativo dos animais entre o primeiro e o trigésimo dia de experimento (figura 5.1a). Assim, sendo que a taxa de crescimento é indicativo de boa qualidade para o desenvolvimento

dos animais, podemos sugerir que o ambiente vermelho deve ser prejudicial ao crescimento e induzir gasto energético maior para o animal, pela ausência de ganho de peso.

Outros estudos já têm mostrado a influência da cor e da luz do ambiente em parâmetros de crescimento em peixes. Papoutsoglou et al. (2000), Tamazoutz et al. (2000) e Peña et al. (2005) mostram que o crescimento de peixes é prejudicado em tanques pretos comparativamente a brancos. Downing & Litvak (1999) também reportam que a combinação de tanques pretos e pouca luz resultam em diminuição do crescimento de larvas de *haddock* e Gilles & Le Bail (1999) mostram que ambientes com alta intensidade luminosa são estressantes e até mesmo letais para peixes. Além disso, peixes mantidos sob ambiente preto apresentam altos níveis de cortisol plasmático e baixas taxas de crescimento específico (Papoutsoglou et al., 2000).

Alguns estudos mostram o efeito das cores verde e azul, além de preto e branco, em peixes. Papoutsoglou et al. (2000) mostram que a coloração verde induz crescimento intermediário entre aqueles observados em preto e branco, e Papoutsoglou et al. (2005) concluem que a coloração azul é semelhante à branca em termos de crescimento e ganho de peso em trutas (*Oncorhynchus mykiss*). Outros autores investigam o efeito de diversas colorações ambientais, e mostram efeitos positivos da coloração verde no crescimento de carpa prateada e carpa comum (Radenko & Alimov, 1991; Ruchin et al., 2002), bem como maiores taxas de crescimentos do *guppy* (*Poecilia reticulata*) e *chinese sleeper* (*Perccottus glenii*) sob coloração azul (Ruchin, 2004).

No entanto, em nosso estudo não pudemos detectar predominância de uma determinada cor sobre o crescimento da tilápia-do-Nilo. Stefansson & Hansen (1989) e de Downing (2002) não encontraram efeitos de cores no padrão de crescimento de peixes adultos (salmão e *haddock*), sugerindo que para essas espécies o crescimento seja independente do comprimento de onda da luz. Porém, pudemos perceber neste estudo que a coloração vermelha exerce influência negativa sobre os peixes, dado a ausência de ganho de peso ao longo do tempo. Resultados negativos da coloração vermelha também foram encontrados por Ruchin (2004) sobre o crescimento de três diferentes espécies de peixes. Esta autora sugere que a coloração vermelha deve alterar o metabolismo energético, liberação de hormônios e outros parâmetros bioquímicos e fisiológicos. De fato, é interessante observar que a cor vermelha é a cor considerada sinal de alerta entre vários animais (Randall et al., 2002). Porém, a ausência



de maior número de estudos relativos aos efeitos da coloração ambiental, e principalmente do ambiente vermelho, nos impede de entender com maior profundidade a atuação do comprimento de onda sobre o crescimento e mesmo sobre outros parâmetros fisiológicos e comportamentais em peixes.

O crescimento de peixes tem sido aceito como resultado de complexos processos bioquímicos, envolvendo entre outros, muitas interações neuro-hormonais (Papoutsoglou et al., 2000), dentre elas o cortisol tem sido enfatizado. Este hormônio é reconhecido como uma das substâncias críticas envolvidas na avaliação do bem estar (Pickering, 1992) e foi demonstrado que a cor azul previne aumento do cortisol plasmático em resposta a estressor de confinamento (Volpato & Barreto, 2001) e aumenta o investimento reprodutivo na tilápia-do-Nilo (Volpato et al., 2004), sugerindo efeito benéfico do ambiente azul.

Embora a variação de peso entre os animais nas cores aqui testadas não tenha sido estatisticamente diferente, algumas observações sobre o efeito dessas cores foram feitas. De acordo com os dados de digestibilidade aparente obtidos, a coloração azul diminui a taxa de aproveitamento de proteínas, que pode ter ocorrido devido ao aumento na velocidade de trânsito intestinal e assim menor tempo disponível para quebra e absorção, ou pela diminuição do volume de enzimas proteolíticas produzidas pelo animal. No entanto, pelos dados aqui obtidos podemos apenas levantar hipóteses, ainda pouco conclusivas.

A maneira como o animal utiliza os nutrientes da dieta tem recebido atenção crescente nos últimos anos (McNamara et al., 2000). Por exemplo, no sentido de se reduzir os gastos com dietas em pisciculturas, numerosos estudos de nutrição enfatizam o uso de fontes vegetais de proteína (Moyano et al., 1992; Gomes et al., 1995; Storebakken et al., 1998; Storebakken et al., 2000). Porém, as vantagens de se mudar o valor nutricional da dieta a fim de se obter baixos custos de produção pode levar a resultados não satisfatórios, particularmente se o ingrediente utilizado não for digerido e absorvido devidamente. Um aspecto que vem tendo crescente preocupação diz respeito a perdas de alimento para o ambiente, as chamadas “dietas poluentes”, que são desprezadas tanto nas fezes como pela não ingestão (Lucas & Southgate, 2003; Schneider et al., 2004).

Ainda pouco se sabe a respeito do aproveitamento de diferentes fontes de proteína por peixes teleósteos (Medale et al., 1998). Alguns estudos mostram que tanto dietas a base de peixe como a base de proteína vegetal não influenciam a digestibilidade aparente de proteína

em tilápia-do-Nilo, porém dietas vegetais mostram-se economicamente superiores (El-Saidy & Gaber, 2003). Nesse sentido, a seleção de ingredientes e diminuição dos custos de manufatura podem influenciar no preço de mercado, diminuindo custos de produção e aumentando lucros para aqüicultura (Tacon, 1990). Embora o presente estudo não discuta a formulação de dietas e a qualidade das mesmas, já que nossos dados mostram alterações na digestibilidade de uma mesma dieta, abordamos um outro aspecto - coloração ambiental - que parece influenciar no produto final desta discussão, o aproveitamento dos nutrientes.

Apesar de não termos encontrado influência das cores na porcentagem de matéria seca fecal, os animais submetidos ao ambiente azul mostraram maiores perdas de proteína nas fezes, comparativamente aos peixes sob condição amarela, branca e violeta (figura 4.3). A partir dos dados aqui apresentados, sugerimos que a coloração azul deve influenciar de maneira negativa o aproveitamento da dieta da tilápia-do-Nilo, sendo que as outras colorações testadas parecem não ter efeito significativo neste parâmetro, quando o animal é testado em isolamento social. Nossos resultados contradizem os estudos de Volpato & Barreto (2001), com tilápia-do Nilo, e Ruchin (2004), com *guppy* e *chinese sleeper*, em relação ao efeito da coloração azul, que mostram efeito benéfico na redução do cortisol após estresse e aumento do crescimento, respectivamente.

As discrepâncias relatadas acima reforçam que o efeito das colorações ambientais parecem ser espécie-específicas, sendo muitas vezes discordantes. Isso corrobora a dificuldade tanto em se elaborar definições de bem estar animal quanto de se estabelecer quais são os fatores promotores desta condição, mas reforça também a necessidade de mais estudos para soluções menos arbitrárias, mostrando como os animais respondem a diversos fatores ambientais e como isso pode ser usado para oferecer condições de bem estar a eles. Ainda, não devemos deixar de nos preocupar em estudar maneiras de melhorar a nutrição de peixes porque este fator, somado aos efeitos do ambiente, pode ter impacto positivo no desempenho animal, trazendo benefícios para a piscicultura.

## **5.5. Conclusão**

A coloração ambiental influencia o crescimento da tilápia-do-Nilo, sendo que o ambiente vermelho prejudica o ganho de peso ao longo do tempo. Porém, as alterações de ganho de peso não podem ser totalmente explicadas por variações na digestibilidade de nutrientes da dieta.

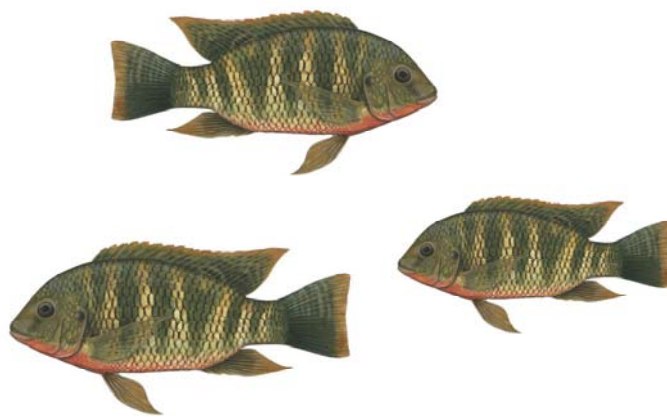
## 5.6. Referências

- Bendiksen E, Berg OK, Jobling M, Arnesen AM, Masoval K. 2003. Digestibility, growth and nutrient utilization of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) in relation to temperature, feed fat content and oil source. *Aquaculture* 224, 283-299.
- Brown ME. 1957. *The Physiology of Fishes*. vol. II. Academic Press: NY.
- Downing G, Litvak MK. 1999. The effects of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquacult Int* 7, 369-382.
- Downing G. 2002. Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. *Aquacult Int* 33, 251-259.
- El-Saidy DMS, Gaber MA. 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. *Aquacult Res* 34, 1119-1127.
- FSBI. 2002. *Fish Welfare Briefing Paper 2*, Fisheries Society of the British Isles, Granta Information Systems, 82A High Street, Sawston, Cambridge.
- Gilles B, Le Bail PY. 1999. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture* 177, 129-152.
- Gomes EF, Rema P, Kaushik SJ. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130, 177-186.
- Heichenbach-Klinke HDH. 1982. *Enfermedades de los peces*. Acribia, Madrid.
- Levine JS, MacNichol Jr EJ. 1982. Color vision in fishes. *Scientific American*, 216: 108-117.
- Lucas, J & Southgate, P. 2003. *Aquaculture: farming aquatic animals and plants*. Fishing News Books, 544 pp.
- McNamara JP (Editor), France J, Beever D, Beever DE. 2000. *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. CABI Publishing, 1<sup>st</sup> ed, 418 pp.
- Medale F, Boujard T, Valee F, Blanc D, Mambrini M, Roem A, Kaushik SJ. 1998. Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquat Living Resour* 11, 239-246.
- Moberg GP. 1999. When does stress become distress? *Lab Anim* 28, 22-26.

- Moyano FJ, Cardenete G, De la Higuera M. 1992. Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat Living Resour* 5, 23–29.
- Papoutsoglou SE, Mylonakis G, Miliou H, Karakatsouli N, Chadio S. 2000. Effects of background color on growth performance and physiological response of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacult Eng* 22, 309-318.
- Papoutsoglou SE, Karakatsouli N, Chiras G. 2005. Dietary L-tryptophan and tank colour effect on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles reared in a recirculating water system. *Aquacult Eng* 32, 277-284.
- Peña R, Dumas S, Trasviña A, García G, Pliego-Cortéz H. 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult Res* 36, 1239-1242.
- Pickering AD. 1992. Rainbow-trout husbandry - management of the stress response. *Aquaculture* 100, 125-139.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed. London: Chapman & Hall.
- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Voprosy Ikhtiologii* 31, 655-663.
- Randall D, Burygren W, French K. 1938. *Eckert Animal Physiology: mechanisms and adaptations*. 5<sup>a</sup> ed. W. H. Freeman and Company, NY, USA, 2002.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. *J Ichthyol* 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol Biochem* 30, 175–178.
- Schneider O, Amirkolaie AK, Vera-Cartas J, Eding EH, Schrama JW, Verreth JAJ. 2004. Digestibility, feces recovery, and related carbon, nitrogen and phosphorus balances of five feed ingredients evaluated as fish meal alternatives in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquacult Res* 35, 1370-1379.
- Stefansson O, Hansen T. 1989. Effects of tank colour on growth and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 81, 379-386.

- Storebakken T, Shearer KD, Roem AJ. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 161, 365–379.
- Storebakken T, Shearer KD, Baeverfjord G, Nielsen BG, Asgard T, Scott TM, De Laporte A. 2000. Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture* 184, 115–132.
- Tacon AGJ. 1990. The essential nutrients. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. Kuwait, 177 pp.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. Lakhdar. *Aquaculture* 182, 85–90.
- Volpato GL, Barreto RE. 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz J Med Biol Res* 34, 1041- 1045.
- Volpato GL, Duarte CRA, Luchiari AC. 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. *Braz J Med Biol Res* 37, 479-483.
- Wheeler TG. 1982. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. *Brain Res Rev* 4, 177-235.

**6. Efeito da coloração ambiental sobre o crescimento e atividade enzimática intestinal e pancreática em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1958, Perciforme, Cichlidae) mantidas em grupos**



## Abstract

In this study we examined the influence of different light colours on growth and activity of intestinal and pancreatic enzymes in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) held in groups. For this, Nile tilapia were reared in groups (3 fish) for 30 days under different ambient colours (blue, red, yellow, green and violet; c. 100 lx, n=6). The fish were fed everyday to excess and uneaten food was removed. Fish length and weight were measured every 10 days. On the 30<sup>th</sup> day, fish were killed and intestine and pancreas collected. Growth parameters, maltase and sucrase from intestine and trypsin and chymotrypsin from pancreas were analysed. Animals under all colours showed weight gain, except the most submissive fish from blue and violet environment. Specific growth rate was different only among fish from the group under blue light. Although proteases were not different between animals, maltase was higher in fish under yellow and lower in fish under blue and violet ambient, and sucrase was higher in dominant animals under yellow and lower in dominant fish under green colour. Disaccharidases presented by animals from the yellow colour, beside the weight gain, indicate that this colour may be profitable for Nile tilapia cultivation, while weight gain, specific growth rate and disaccharidase levels from fish under blue and violet colour indicates that these colours are not good for this species.

## Resumo

Neste estudo avaliamos a influência de diferentes colorações ambientais no crescimento e na atividade enzimática de dissacaridases e proteases de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) juvenis mantidas em grupos. Os peixes foram agrupados (3 animais) por 30 dias em aquários nas cores azul, vermelho, amarelo, verde e violeta (c. 100 lx, n=6). Cada grupo foi alimentado diariamente em excesso e a comida restante no aquário foi retirada. A cada 10 dias os animais foram pesados e medidos. No 30º dia, os peixes foram sacrificados e foram coletados o intestino e o pâncreas para análise de maltase e sacarase intestinais e tripsina e quimiotripsina pancreáticas. Foram também analisados ganho de peso, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso final dos animais agrupados nas diferentes cores. Os animais mantidos nas diferentes colorações apresentaram ganho de peso no final do experimento, exceto o animal mais submisso dos grupos sob coloração azul e violeta. A taxa de crescimento específico diferiu apenas entre os animais mantidos no ambiente azul. Embora as proteases não tenham apresentado diferenças entre os animais, a maltase intestinal foi maior nos animais mantidos no ambiente amarelo, e menor nos animais da coloração azul e violeta, e a sacarase foi maior apenas nos animais dominantes no ambiente amarelo e menor nos dominantes da coloração verde. A taxa de maltase e sacarase apresentadas pelos animais do ambiente amarelo, junto ao ganho de peso indicam que esta coloração pode ser benéfica para o cultivo da tilápia, enquanto o ganho de peso, o crescimento específico e a presença e quantidade de dissacaridases indicam que o ambiente azul e violeta são os menos indicados para cultivo desta espécie.



## 6.1. Introdução

A alimentação é a principal fonte de energia que mantém as funções fisiológicas essenciais dos animais. A disponibilidade de energia possibilita ainda o crescimento e ganho de peso, a reprodução e a manutenção da resposta imunológica. Essa energia é oriunda dos nutrientes que os animais adquirem de suas dietas através de processos de digestão e absorção. Esses processos ocorrem em locais apropriados da parede e ao longo do lúmen do trato gastrointestinal e dependem da presença e quantidade de enzimas intestinais e pancreáticas, que podem variar de acordo com a dieta, a frequência de ingestão alimentar e o local específico ao longo do intestino (Cockson & Bourne, 1972; Sabapathy & Teo, 1993; Tengjaroenkul et al., 2000).

Muitas enzimas estão envolvidas nos processos digestivos em peixes. Tengjaroenkul et al. (2000) observaram a presença de amilase, pepsina, tripsina, esterases e fosfatases alcalinas no trato gastrintestinal da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Embora saibamos que esse animal é capaz de utilizar diversas fontes de alimento - larvas aquáticas, insetos, algas, macrófitas e ervas daninhas - como fonte de energia (Lowe-McConnel, 1975), a tilápia apresenta maior atividade de carboidrases do que proteases e menor atividade de lipases do que podemos observar em peixes carnívoros e onívoros (Das & Tripathi, 1991).

As enzimas encontram-se distribuídas de maneira variada ao longo do intestino, atuando em locais específicos do trato para maximizar os processos digestivos e absorptivos. Por exemplo, na região anterior do intestino da tilápia-do-Nilo encontram-se principalmente enzimas digestivas, enquanto a maior parte da área superficial dada pelo longo comprimento de seu intestino relaciona-se com a absorção de nutrientes (Tengjaroenkul et al., 2000). Características como o longo comprimento intestinal, que permite grande área absorptiva, e a presença e distribuição de enzimas possibilitam o aproveitamento de grande variedade de nutrientes e alta taxa de crescimento e ganho de peso, como observado em diversos peixes (Tengjaroenkul et al., 2000).

Alguns autores têm relacionado a taxa de crescimento de peixes com suas capacidades digestivas, principalmente pela atividade de enzimas proteolíticas no intestino. De fato, a ação de tripsina e quimiotripsina, secretadas na porção anterior do intestino e nos cecos pilóricos de robalo (*Morone saxatilis*) e bacalhau do atlântico (*Gadus morhua*) permite melhor eficiência

de conversão alimentar e maior taxa de crescimento (Dabrowski, 1983; Baragi & Lovell, 1986; Lemieux et al., 1999). Além disso, Lemieux et al. (1999) sugerem que a capacidade digestiva é limitada pela quantidade de tripsina produzida pelo pâncreas, e Blier et al. (2002) relacionam a presença desta enzima com a taxa de crescimento e eficiência de conversão alimentar em peixes. Desta forma, sendo que a eficiência de conversão alimentar explica parte significativa da taxa de crescimento em peixes, a presença e quantidade de enzimas ao longo do intestino podem modificar os padrões de crescimento em grupos de peixes sob condição de piscicultura.

Em ambientes de produção é bastante comum encontrarmos peixes com diferentes tamanhos e pesos, apesar de mesma idade. Esse padrão de crescimento desigual observado em peixes sob condição de agrupamento, denominado crescimento heterogêneo (chet), tem sido atribuído a fatores genéticos, competição por alimento, estresse social, grau hierárquico dos indivíduos e alterações nos processos metabólicos e digestivos (Rubenstein, 1981; Sogard & Olla, 1994; Ryer & Olla, 1996). As relações dominante-submisso decorrentes das hierarquias sociais implicam em ocorrência de estresse social e competição alimentar, levando a diferentes padrões de crescimento: animais subordinados são geralmente bem menores do que os dominantes (Huntingford et al, 1990).

Os animais submissos crescem menos, pois além de gastarem mais energia devido ao estresse social que enfrentam, têm dificuldade em adquirir alimento por causa da competição com os dominantes (Volpato & Fernandes, 1994). Além disso, o estresse decorrente das interações sociais provocam alterações no apetite (Volpato & Fernandes, 1994), modificações nos processos digestivos e aproveitamento de nutrientes (Jobling & Wandsvick, 1983) e alterações no trânsito intestinal (Pires-de-Campos, 1993), aumentando ainda mais as disparidades de crescimento e ganho de peso entre os animais de diferentes graus hierárquicos de um grupo.

Diversos parâmetros ambientais já foram estudados para se tentar minimizar diferenças de crescimento de animais mantidos em grupos, como por exemplo, temperatura (Nunn et al., 2003), luminosidade (Kestemont et al., 1998), densidade (Sogard & Olla, 2000) e qualidade de alimento (Bowen et al., 1995). No entanto, apesar de ainda pouco explorada, a manipulação da coloração ambiental tem recebido crescente interesse dos pesquisadores. Embora diversos autores abordem efeitos das cores no crescimento de peixes, os estudos encontrados na

literatura dizem respeito apenas a animais isolados. Por exemplo, a coloração ambiental violeta parece diminuir o crescimento e até mesmo pode ser letal para ovos de salmonídeos (Heichenbach-Klinke, 1982), a cor verde parece ser benéfica para o crescimento de matrinxã, *Brycon cephalus* (Volpato, 2000), sob coloração laranja há melhor desenvolvimento de ovos de salmonídeos (Heichenbach-Klinke, 1982) e ainda a coloração ambiental vermelha prejudica o crescimento do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, e da tilápia (Luchiari, 2003). As cores azul e verde aumentam o crescimento e a taxa de sobrevivência de larvas de *haddock*, *Melanogrammus aeglefinus* (Downing, 2002), e a taxa de crescimento da carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix*, e da carpa comum, *Cyprinus carpio*, é maior sob luz verde (Radenko & Alimov, 1991; Ruchin et al., 2002). No entanto, apenas nosso estudo sobre crescimento heterogêneo (capítulo 4) diz respeito aos efeitos de cores sobre o crescimento de peixes em agrupamento.

É fato que os peixes têm capacidade de discriminar cores (Brown, 1957, Wheeler, 1982; Pitcher, 1993) e os estudos de manipulação da coloração ambiental têm mostrado resultados interessantes na mediação de diversos parâmetros biológicos além do crescimento, como reprodução (Volpato et al., 2004), agressão (Fanta, 1995), estresse (Volpato & Barreto, 2001), atividade ATPase (Gaignon et al., 1993), entre outros. Desta forma, se a coloração ambiental pode alterar a resposta de peixes a tantos fatores, e modular o crescimento e o aproveitamento de nutrientes (como mostrado nos estudos anteriores), e ainda a presença e quantidade de enzimas têm sido relacionadas com os padrões de crescimento em peixes, objetivamos aqui testar o efeito da coloração ambiental sobre a atividade enzimática intestinal e pancreática durante o crescimento de tilápias-do-Nilo sob condição de agrupamento.

## **6.2. Metodologia**

Este estudo consistiu em avaliar a presença de enzimas digestivas no intestino e no pâncreas de tilápias-do-Nilo mantidas em grupos sob diferentes colorações ambientais. Duas dissacaridases, maltase e sacarase, e duas peptidases, tripsina e quimiotripsina, foram analisadas.

Antes do período experimental, os peixes foram mantidos em condição de biotério, como descrito no estudo 4. Cinco dias antes do início do experimento, os animais foram

transferidos para o laboratório de Departamento de Fisiologia IBB-Unesp, sendo mantidos em grupos de 4 peixes de tamanhos e pesos semelhantes em aquários de 40x25x20 cm sob condição de coloração ambiental violeta, azul, verde, amarelo, vermelho e branco. A coloração dos aquários foi feita por cobertura com papel gelatina colorido e incidência de luz fluorescente branca (100 lux). Foram realizadas 6 réplicas para cada uma das cores em estudo.

Durante 30 dias os animais foram alimentados diariamente com a ração formulada para o estudo de digestibilidade (capítulo 5), porém sem adição de óxido de cromo. Foram registrados o tamanho (cm) e o peso (g) de cada animal do grupo antes do início do experimento e a cada 10 dias, totalizando 4 medições. No 30º dia, os peixes foram sacrificados por incisão cervical e foram coletados o intestino e o pâncreas. O intestino foi lavado para limpeza dos resíduos alimentares e posteriormente pâncreas e intestino foram separadamente macerados e homogeneizados para as análises de maltase (EC 3.2.1.20) e sacarase (EC 3.2.1.48) intestinais e tripsina (EC 3.4.4.4) e quimiotripsina (EC 3.4.4.5) pancreáticas.

Para determinação das enzimas maltase e sacarase intestinais (Dahlqvist, 1964), o intestino foi removido inteiramente e homogeneizado em 4 partes de água deionizada. Alíquotas do material homogeneizado foram incubadas com o substrato apropriado em tampão maleato a pH 6,4. A glicose liberada foi posteriormente determinada pelo método glicose-oxidase (CELM). A atividade enzimática foi expressa em unidades por g de mucosa, determinada segundo a metodologia de Lowry et al. (1951).

Nas análises de atividade de proteases, o pâncreas foi homogeneizado em 50 mM de tris HCl, pH 8, contendo ainda 50 mM de CaCl<sub>2</sub>. Para a determinação de tripsinogênio foi adicionada enteroquinase na solução após homogeneização para permitir a conversão da enzima em sua versão ativa, tripsina (de acordo com Kakade et al., 1974). A atividade da enzima tripsina foi então medida pela hidrólise de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilide em p-nitroalinine (DL-BAPNA) em pH 8,2. Uma metodologia similar foi utilizada na determinação de quimiotripsina (de acordo com Erlanger et al., 1966), sendo o DL-BAPNA substituído pelo N-glutaril-L-fenilalanina-p-nitroanilide (GAPNA). As reações foram interrompidas com solução de ácido acético 3%. As unidades foram expressas em nanomóis de p-nitroalinine liberadas por min por mg de proteína.

O crescimento dos animais do grupo foi analisado em termos de ganho de peso, taxa de crescimento específico e coeficiente de variação do peso final. Ao final de 30 dias, os dados de

crescimento e os dados de atividade enzimática foram comparados por teste t de Student (no caso de comparação entre duas médias) Anova e Kruskal-Wallis, dependendo da parametricidade.

### 6.3. Resultados

No início do experimento, o comprimento dos animais de cada grupo era idêntico entre si e o peso dos animais não apresentou diferenças estatísticas significativas entre as colorações (Anova,  $F=0,65$ ,  $p=0,66$ ). Os animais foram classificados em animal *a*, *b* e *c*, de acordo com o tamanho final, sendo *a* o maior animal e *c* o menor animal do grupo. De acordo com esta classificação e observações de Huntingford et al. (1990), consideramos o animal *a* dominante e os animais *b* e *c* submissos, nesta ordem de submissão.

Em todas as colorações houve ganho de peso do início para o final do experimento, com exceção do peixe mais submisso da hierarquia (peixe *c*) nas cores azul e violeta (tabela 6.1). Após 30 dias de agrupamento, observamos que não houve diferença de peso (Anova/Kruskal-Wallis) entre os animais *a*, *b* e *c* nos grupos: azul:  $F=0,14$ ,  $p=0,8$ ; violeta:  $H=1,2$ ,  $p=0,6$ ; vermelho:  $H=2,5$ ,  $p=0,3$ ; verde:  $F=0,7$ ,  $p=0,5$ ; amarelo:  $F=1,4$ ,  $p=0,3$ ; branco:  $H=1,5$ ,  $p=0,5$  (tabela 6.1). A taxa de crescimento específico (TCE) dos animais em cada coloração está apresentada na figura 6.1a e mostra as variações de crescimento observadas nos grupos. Apenas sob coloração azul houve diferença entre TCE dos animais nas diferentes hierarquias (Anova,  $F=4,6$ ,  $p=0,03$ ). Além disso, o coeficiente de variação mostra que não houve diferença de crescimento entre os animais do mesmo grupos nas diferentes cores (Anova,  $F=0,35$ ,  $p=0,87$ ) (figura 6.1b).



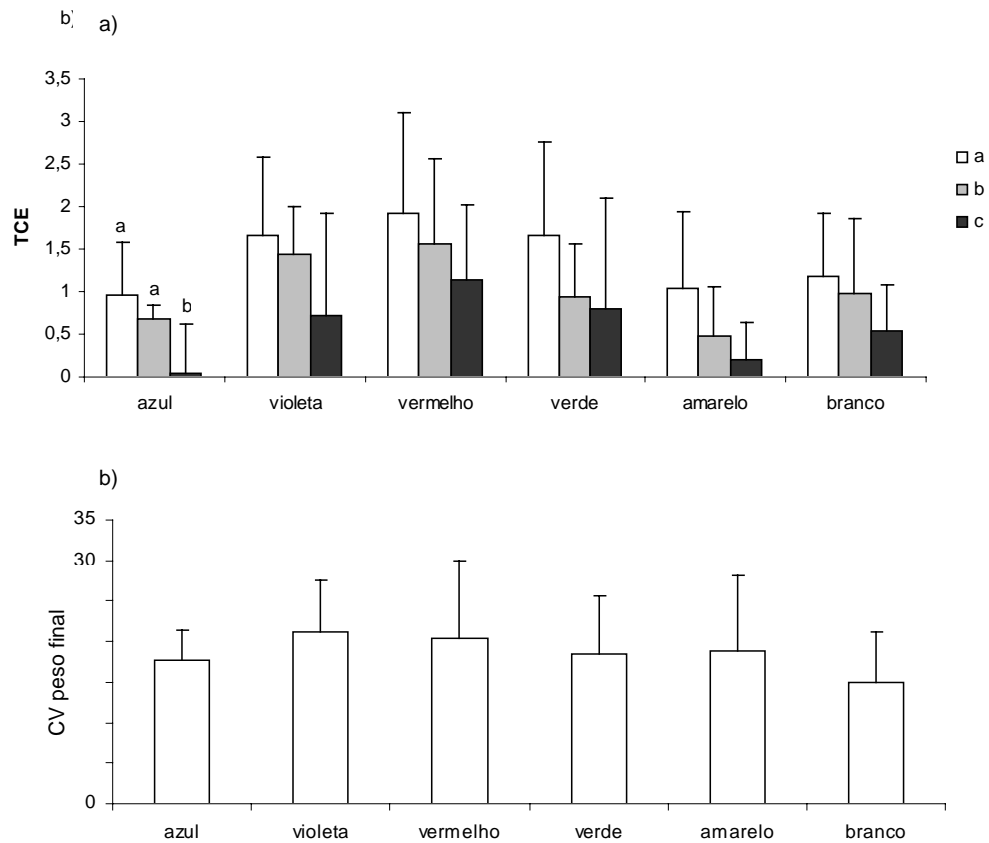


Figura 6.1. a) taxa de crescimento específico (TCE) e b) coeficiente de variação do peso final dos peixes nos grupos. Os dados são apresentados como médias de seis aquários, barras de erro indicam desvio padrão. Cada grupo tinha três peixes que foram classificados de *a* (maior) a *c* (menor) de acordo com o tamanho final. Houve diferença estatística apenas na análise da TCE. Letras diferentes indicam a diferença estatística (Anova,  $p < 0,05$ ).

A análise de dissacaridases intestinais nos permite observar diferenças quanto à quantidade de maltase entre os animais de diferentes hierarquias sob coloração azul (Anova,  $F=2,9$ ,  $p=0,09$ ), enquanto não ocorreu diferenças nos animais mantidos nas outras cores. Além disso, podemos notar que entre os animais dominantes (*a*) da hierarquia, aqueles mantidos sob coloração amarela apresentam maiores taxas de maltase do que os animais sob cor azul e violeta. Nos animais de hierarquia intermediária (*b*) a taxa de maltase nas colorações vermelha e amarela é comparativamente maior do que nos animais sob coloração violeta. Os animais mais submissos (*c*) nos ambientes verde e amarelo apresentaram taxa de maltase superiores aos animais no ambiente azul (figura 6.2a). Por outro lado, a sacarase intestinal foi apenas diferente entre os animais dominantes (Anova,  $F=1,72$ ,  $p=0,008$ ), sendo que aqueles sob coloração amarela apresentaram as maiores taxas comparativamente aos animais sob condição de coloração verde (figura 6.2b). Já a presença de peptidases pancreática na tilápia-do-Nilo não foi alterada em decorrência da coloração ambiental ou da hierarquia nos grupos (figura 6.3). A ausência de diferenças estatísticas pode ter ocorrido pela alta variabilidade dos dados.



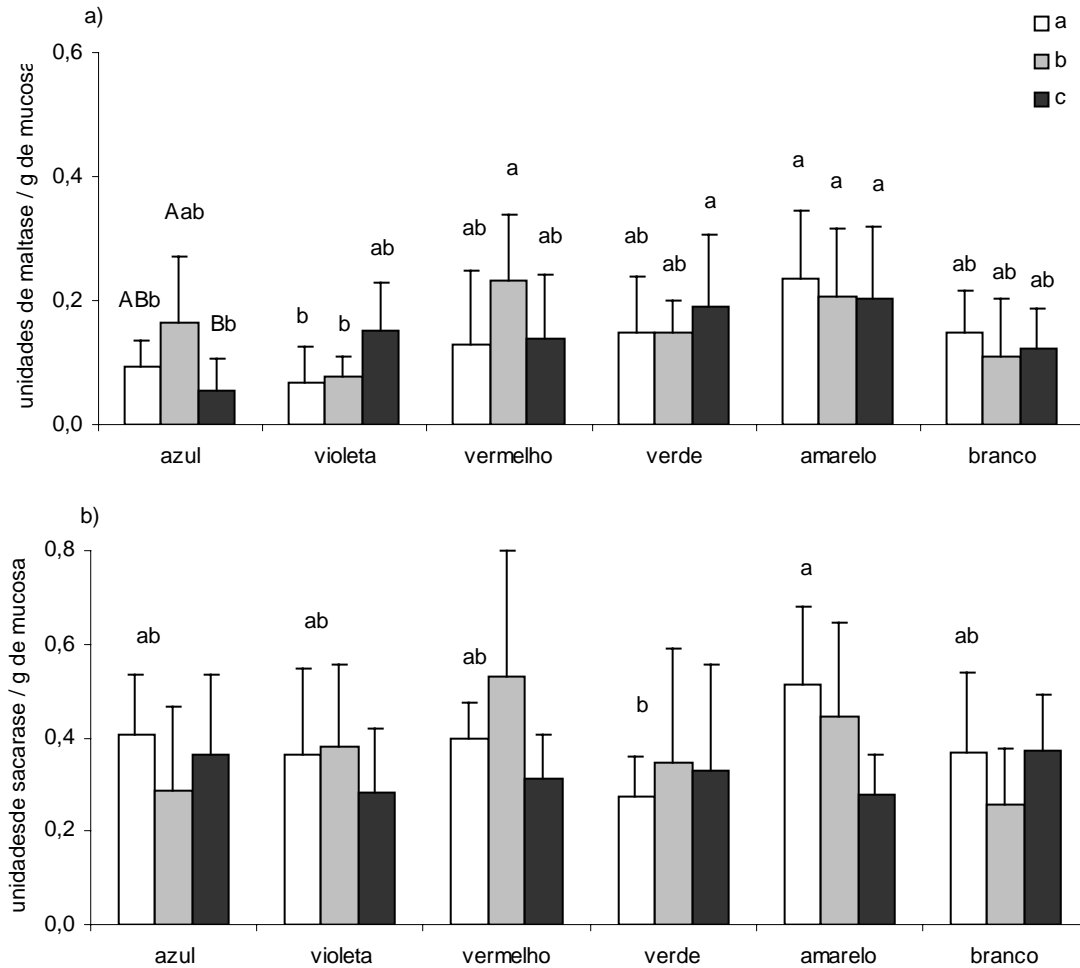


Figura 6.2. a) Maltase e b) sacarase intestinal de tilápias-do-Nilo mantidas em grupos sob diferentes colorações ambientais. As barras são os dados médios de seis aquários ( $\pm$  dp). Cada grupo foi constituído de 3 animais, classificados de acordo com o comprimento final ( $a$ = dominante;  $b$ = submisso 1;  $c$ = submisso 2). Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre animais  $a$ ,  $b$  e  $c$  sob mesma coloração ambiental. Letras minúsculas indicam diferença estatística entre animais de mesma hierarquia entre diferentes cores (Anova,  $p < 0,05$ ).

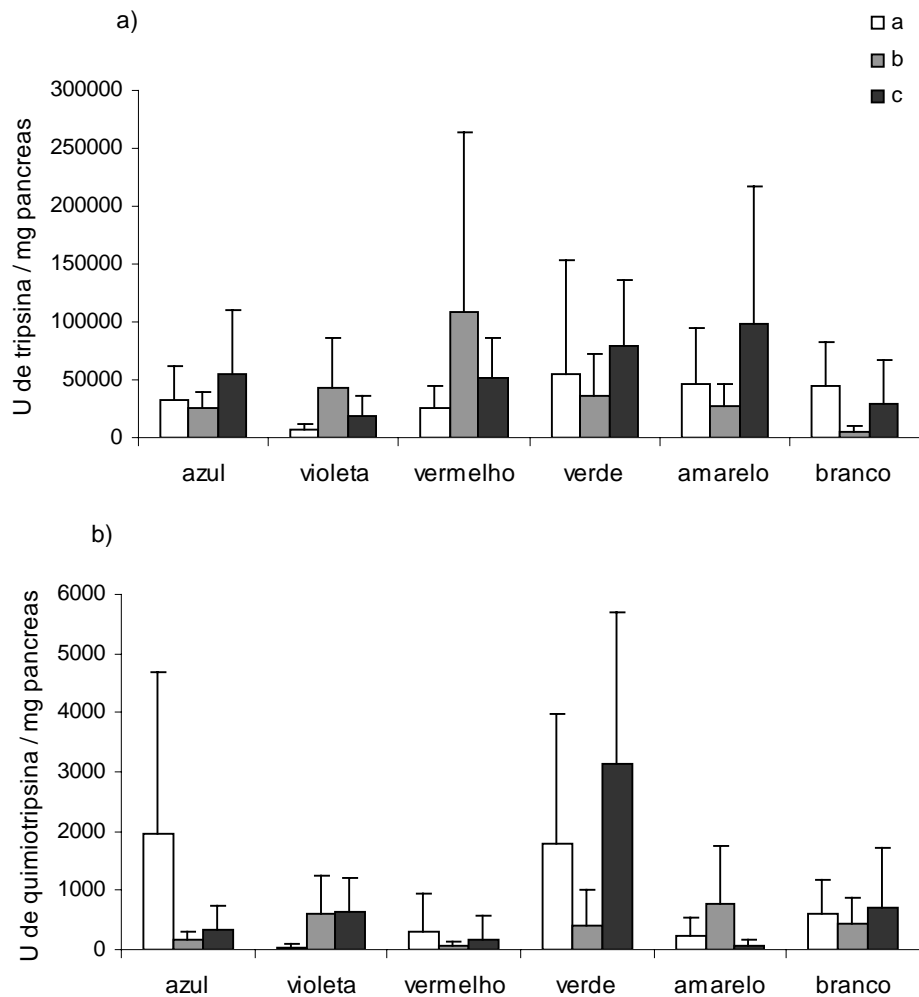


Figura 6.3. a) Tripsina e b) quimiotripsina pancreática de tilápias-do-Nilo mantidas em grupos sob diferentes colorações ambientais. As barras são os dados médios de seis aquários ( $\pm$  dp). Cada grupo foi constituído de 3 animais, classificados de acordo com o comprimento final ( $a$ = dominante;  $b$ = submisso 1;  $c$ = submisso 2). Não houve diferença estatística entre os dados (Anova,  $p > 0,05$ ).

#### 6.4. Discussão

A tilápia-do-Nilo é a segunda espécie mais importante de peixe exótico cultivada no Brasil, sendo que apenas no ano 2000 foram produzidas 40.000 toneladas de carne de tilápia (IBAMA, 2000). Esta espécie é predominantemente herbívora e capaz de produzir proteína de alta qualidade para o consumo humano (Jauncey & Ross, 1982). Diversos autores vêm estudando a tilápia em relação aos mecanismos de alimentação e digestão (Fish, 1951; Bowen, 1976; Olvera-Novoa et al., 1990), propriedades das proteases estomacais (Yamada et al., 1993), efeitos da salinidade sobre o aproveitamento de nutrientes (Fang & Chiou, 1989), distribuição de enzimas ao longo do intestino (Tengjaroenkul et al., 2000) e caracterização das enzimas intestinais e pancreáticas encontradas (El-Shemy & Levin, 1997).

Embora não tenha havido diferença entre o peso dos animais *a*, *b* e *c* no 30° dia, houve ganho de peso do início para o final do experimento em todas as cores, o que indica que a médio ou longo prazo poderá ocorrer diferença no peso final dos peixes submetidos às diferentes cores. A taxa de crescimento específico (TCE) dos animais de diferentes hierarquias sob coloração azul indica que este ambiente parece prejudicar o crescimento do animal submetido. Também observamos que as taxas de atividade de dissacaridases intestinais diferiram entre as cores, mas isto não foi observado quanto a atividade de proteases pancreáticas.

Os peixes utilizados neste estudo tinham cerca de dois meses de idade e comprimento entre 5 a 6 cm. Na fase inicial de desenvolvimento, a taxa de crescimento de peixes é bastante acentuada e os animais ganham mais peso do que quando adultos (Lucas & Southgate, 2003). Nossos resultados corroboram este paradigma, visto que houve ganho de peso nos animais durante a fase experimental (exceto nos animais submetidos no azul e violeta). No entanto, apenas sob coloração azul houve diferenças na TCE do grupo, o que indica que nesta fase de desenvolvimento os efeitos das colorações ambientais não são tão evidentes quanto demonstrado no estudo 4 para a tilápia-do-Nilo adulta.

Mesmo sem efeitos evidentes no ganho de peso e desenvolvimento dos animais no grupo, a coloração azul parece já ser prejudicial para estes animais. Também no

estudo 5 foi possível observar efeitos prejudiciais da coloração azul na digestibilidade de proteína. Além disso, foi apenas nesta coloração ambiental que encontramos diferenças nas taxas de maltase intestinal entre os animais de diferentes hierarquias. A análise de maltase intestinal indica que o animal mais submisso da hierarquia apresenta taxas reduzidas desta enzima, enquanto os outros animais mantêm níveis mais elevados de maltase, o que pode interferir na utilização do alimento ingerido e afetar a taxa de crescimento. A análise de maltase aponta ainda que existem diferenças nos níveis desta enzima nos animais de mesma hierarquia mantidos nas diferentes colorações ambientais, e as maiores taxas de maltase foram encontradas nos animais sob coloração amarela. Apesar do crescimento não ter sido influenciado pelas colorações testadas, diferenças na taxa de maltase intestinal podem ser um indício das diferenças na taxa de crescimento encontradas nos animais adultos mantidos em grupos no estudo 4.

A sacarase intestinal também apresentou diferenças, porém apenas presente nos animais dominantes da hierarquia. Novamente, as maiores taxas de sacarase foram encontradas nos animais dominantes sob coloração amarela em relação ao verde. Estas diferenças não se correlacionam com a taxa de crescimento destes peixes, porém variações nos níveis de sacarase podem ser mais marcantes na fase adulta e contribuir para as diferenças encontradas no crescimento no estudo em que utilizamos animais adultos (estudo 4).

Independente da fonte de carboidrato, a atividade de maltase é maior do que sacarase em peixes (Chuang & Shiau, 1993). Esses autores observaram que apesar do ganho de peso de tilápias (*O. niloticus* e *O. aureus*) alimentadas com amido ser maior do que aquelas alimentadas com dissacarídeos e glicose, a atividade das dissacaridases intestinais não é alterada pela fonte de carboidrato. Além disso, o aumento na atividade das enzimas da bordadura em escova do intestino é correspondente ao aumento da superfície do epitélio intestinal durante o desenvolvimento e crescimento de peixes (Cuvier-Péres & Kestemont, 2002). Desta forma, animais adultos, com maior superfície intestinal do que os animais utilizados neste estudo, podem apresentar diferenças mais evidentes nas taxas de maltase do que o que foi encontrado aqui, e assim, variações nas taxas de crescimento também podem ser mais notórias.

Outros estudos já mostraram efeitos da cor do tanque ou da coloração da luz ambiente nas taxas de crescimento de peixes (Stefansson & Hansen, 1989; Radenko & Alimov, 1991; Naas et al., 1996, Downing & Litvak, 1999; Tamazouzt et al., 2000; Ruchin et al., 2002; Ruchin, 2004), como discutido nos capítulos anteriores. Em nenhum destes estudos qualquer parâmetro digestivo foi analisado. No entanto as diferentes taxas de crescimento encontradas nas diferentes cores testadas podem indicar diferenças em parâmetros fisiológicos dependentes da espécie e da coloração ambiental.

As enzimas digestivas presentes no trato são controladas, entre outros fatores, pela ingestão de alimento. No entanto, em animais herbívoros como a tilápia, a presença de dissacaridases no intestino independe do tipo de alimento ingerido (Tengjaroenkul et al., 2000), já que a variação na dieta não é tão grande quanto em animais onívoros. A digestão de carboidratos nos peixes é rápida e os processos digestivos finais desses nutrientes ocorrem, em grande parte, nas áreas iniciais do trato digestivo, diminuindo à medida que avançam no trajeto ao reto, e incluem a ação de várias dissacaridases e oligossacaridases (Rotta, 2003). Estas enzimas são secretadas através dos enterócitos e permanecem associadas à borda em escova da mucosa intestinal, sendo encontradas em maior ou menor quantidade de acordo com a quantidade de alimento ingerido pelo peixe (Rotta, 2003). Este fator pode ter contribuído para as diferenças nas quantidades de dissacaridases encontradas neste estudo, pois apesar da ingestão alimentar do grupo ter sido a mesma entre as diferentes colorações ambientais, os animais dominantes podem ter ingerido quantidade ligeiramente maior de alimento do que os submissos. Mesmo esta variação não tendo sido registrada pela dificuldade em se estabelecer a quantidade de alimento ingerida por cada animal do grupo, e também não ter sido suficiente para afetar a taxa de crescimento dos animais, pode ter sido fator contribuinte para modificar a quantidade de enzimas encontradas no trato gastrointestinal.

Apesar das taxas de dissacaridases indicarem haver efeito das colorações e da hierarquia nos grupos de tilápia-do-Nilo, as enzimas proteolíticas pancreáticas foram estatisticamente semelhantes em todos os animais, apesar do grande desvio padrão da média. A tripsina é a enzima proteolítica predominante no intestino. Nos peixes que se alimentam de insetos entre outras fontes alimentares, o suco pancreático contém grande concentração de quitinases para quebrar a quitina existente no exoesqueleto desses

animais. Existem, provavelmente, outras proteases presentes no intestino dos peixes, incluindo exopeptidases, dipeptidases e a catepsina. No entanto, em peixes carnívoros a atividade das enzimas proteolíticas é maior quando comparada com os peixes herbívoros e onívoros, o que pode ter contribuído para a ausência de diferenças entre as proteases encontradas na tilápia. Além disso, a atividade de quimiotripsina pancreática apresenta aumento lento e contínuo durante a fase de desenvolvimento inicial da vida de peixes, sendo encontrada em maior quantidade na fase adulta (Kestemont et al., 1996; Cuvier-Péres & Kestemont, 2002). Assim, sugerimos que enzimas proteolíticas em tilápias-do-Nilo juvenis não são alteradas pelo estresse social ou pela coloração ambiental. Como o tamanho do animal pode ser determinante na quantidade de enzimas encontrada, este fator pode justificar o fato de termos encontrado diferenças nas quantidades de sacarase apenas nos indivíduos dominantes da hierarquia, os maiores em tamanho.

Entender como as diferentes colorações ambientais estão relacionadas às diferenças de crescimento em peixes pode contribuir para a utilização deste parâmetro ambiental em cultivo. O modo como as cores afetam o crescimento e quais suas relações com a ingestão de alimento e digestão contribuem para o conhecimento dos fatores que podem ser utilizados para se oferecer melhores condições para o desenvolvimento de peixes. Estes padrões de desenvolvimento podem ser utilizados como referência para determinar se mudanças nas condições de cultivo aceleram ou atrasam processos digestivos em peixes, influenciando assim o crescimento e o ganho de peso.

## **6.5. Conclusões**

O ganho de peso, a taxa de crescimento específico e a presença e quantidades de dissacaridases indicam que o ambiente azul e violeta são os menos indicados para cultivo da tilápia-do-Nilo, enquanto a taxa de maltase e sacarase apresentadas pelos animais do ambiente amarelo, além do ganho de peso, indicam que esta coloração pode ser benéfica a médio ou longo prazo para esta espécie de peixe.

## 6.6. Referências

- Baragi V, Lovell RT. 1986. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Trans Am Fish Soc* 115, 478-484.
- Blier PU, Lemieux H, Devlin RH. 2002. Is the growth rate of fish set by digestive enzymes or metabolic capacity of the tissues? Insight from transgenic coho salmon. *Aquaculture* 209, 379-384.
- Bowen SH, Lutz EV, Ahlgren MO. 1995. Dietary protein and energy as determinants of food quality: Trophic strategies compared. *Ecology* 76, 899-907.
- Bowen SH. 1976. Mechanism for digestion of detrital bacteria by Cichlid fish *Sarotherodon mossambicus* (Peters). *Nature* 260, 137–138.
- Brown ME. 1957. *The Physiology of Fishes*. vol. II. Academic Press: NY.
- Chuang JC, Shiau SY. 1993. Intestinal disaccharidase activity, plasma glucose level, body composition and growth of tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus* fed different carbohydrates. Special Publication, European Aquaculture Society.
- Cockson A, Bourne D. 1972. Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish. *Comp Biochem Physiol A* 41, 715-718.
- Cuvier-Péres A, Kestemont P. 2002. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish Physiol Biochem* 24, 279–285.
- Dabrowski K. 1983. Comparative aspects of protein digestion and amino acid absorption in fish and other animals. *Comp Biochem Physiol A* 74, 417-425.
- Dahlqvist A. 1964. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem* 7, 447-454.
- Das KM, Tripathi SD. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Aquaculture* 92, 21-32.
- Downing G., Litvak MK. 1999. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquacult Int* 7, 369–382.
- Downing G. 2002. Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. *Aquacult Int* 33, 251-259.
- El-Shemy MG, Levin RE. 1997. Characterization of affinity-purified trypsin from hybrid tilapia (*Tilapia nilotica / aurea*). *J Food Biochem* 21, 163–175.

- Erlanger BF, Edel F, Cooper AG. 1966. The action of chymotrypsin on two new chromogenic substrates. *Arc Biochem Bioph* 115, 206-210.
- Fang LS, Chiou SF. 1989. Effect of salinity on the activities of digestive proteases from the tilapia fish: *Oreochromis niloticus* in different culture environments. *Comp Biochem Physiol A* 93, 439-443.
- Fanta E. 1995. Influence of background color on the behavior of the *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *Braz Arc Biol Technol* 38, 1304-1316.
- Fish GR. 1951. Digestion in *Tilapia esculenta*. *Nature* 167, 900-901.
- Gaignon IL, Quemener L, Roux A. 1993. Effects de la diminution de la photoperiode sur la smoltification precoce obtenue en environnement controle chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). *Bull Fr Peche Piscicult* 66, 307-315.
- Heichenbach-Klinke HDH. 1982. Enfermedades de los peces. Acirbia, Madrid.
- Huntingford FA, Metcalfe NB, Thorpe JE, Graham WD, Adams CE. 1990. Social dominance and body size in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. *J Fish Biol* 36, 877-881.
- IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis): Estatística da Pesca 2000 Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação. Ministério do Meio Ambiente, Brazil, 2000.
- Jauncey K, Ross B. 1982. A Guide to Tilapia Feeds and Feeding. University of Stirling, Scotland: Institute of Aquaculture.
- Jobling M, Wandsvik A. 1983. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J Fish Biol* 22, 577-584.
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JG. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem* 51, 376-382.
- Kestemont P, Dabrowski K. 1996. Recent Advances in the aquaculture of Percid fish. *J Appl Ichthyol* 12, 137- 200.
- Kestemont P, Melard C, Houbart M, Fontaine P. 1998. An overview of major factors affecting growth heterogeneity and sibling cannibalism during early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture '98 Book of Abstracts*. 288 pp.



- Lemieux H, Blier P, Dutil J-D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiol Biochem* 20, 293-303.
- Lowe-McConnel RH. 1975. Fish communities in tropical freshwaters: their distribution, ecology and evolution. Longman Group Ltd., London, 337 pp.
- Lowry OH, Rosenbrough NR, Farr AL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265-275.
- Lucas J, Southgate P. 2003. Aquaculture: Farming Aquatic Animals and plants. Fishing News Books, 544 pp.
- Luchiari AC. 2003. Coloração ambiental e bem estar em peixes. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Naas K, Huse I, Iglesias J. 1996. Illumination in first feeding tanks for marine fish larvae. *Aquacult Eng* 15, 291-300.
- Nunn AD, Cowx IG, Frear PA, Harvey JP. 2003. Is water temperature an adequate predictor of recruitment success in cyprinid fish populations in lowland rivers? *Freshwater Biol* 48, 579-588.
- Olvera-Novoa MA, Campos S, Sabino M, Palacios CAM. 1990. The use of alfalfa leaf protein concentrate as a protein source in diets for Tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture* 90, 291-302.
- Pires-de-Campos S. 1993. Alterações das funções digestivas em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em condições de agrupamento e em relação ao grau hierárquico. Master's Thesis, Zoologia, IB, Botucatu, Unesp.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed. London: Chapman & Hall.
- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Voprosy ikhtiologii* 31, 655-663.
- Rotta M A. 2003. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. Corumbá, MS. Disponível em: <[http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq\\_pdf=DOC53](http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=DOC53)> Acesso em: 20 jun. 2005.

- Rubenstein DI. 1981. Individual variation and competition in the Everglades pygmy sunfish. *J Anim Ecol* 50, 337–350.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. *J Ichthyol* 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol Biochem* 30, 175–178.
- Ryer CH, Olla BL. 1996. Growth depensation and aggression in laboratory reared coho salmon: the effect of food distribution and ration size. *J Fish Biol* 48, 686–694.
- Sabapathy U, Teo LH. 1993. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *J Fish Biol* 42, 595-602.
- Sogard SM, Olla BL. 2000. Effects of group membership and size distribution within a group on growth rates of juvenile sablefish *Anoplopoma fimbria*. *Env Biol Fish* 59, 199–209.
- Sogard SM, Olla BL. 2000. Effects of group membership and size distribution within a group on growth rates of juvenile sablefish *Anoplopoma fimbria*. *Env Biol Fish* 59, 199–209.
- Stefansson O, Hansen T. 1989. Effects of tank colour on growth and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 81, 379-386.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. *Lakhdar. Aquaculture* 182, 85–90.
- Tengjaroenkul B, Smith BJ, Caceci T, Smith SA. 2000. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 182, 317–327.
- Volpato GL, Barreto RE. 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz J Med Biol Res* 34, 1041- 1045.
- Volpato GL, Duarte CRA, Luchiari AC. 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. *Braz J Med Biol Res* 37, 479-483.

- Volpato GL, Fernandes MO. 1994. Social control of growth in fish. *Braz J Med Biol Res* 27, 797-810.
- Volpato GL. 2000. Aggression among farmed fish. *Anais do Aqua 2000 (International Conference on Responsible Aquaculture in the New Millenium)*, Nice, France, p. 805.
- Wheeler TG. 1982. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. *Brain Res Rev* 4, 177-235.

## 7. Discussão final

Embora a indústria da aquicultura no Brasil venha crescendo nos últimos anos a uma taxa superior a 15% ao ano, o potencial para a expansão dessa atividade é pouco aproveitado (Naylor et al., 2000). Isso se deve, entre outras questões, à falta de uma política efetiva para organizar e promover o desenvolvimento da aquicultura como produtora de alimentos. Muito embora não se tenha um diagnóstico de ciência e tecnologia sobre a atividade, é possível inferir que as pesquisas no tema, além de dispersas territorialmente, caracterizam-se pela falta de integração entre os setores que compõem os diversos elos de sua cadeia produtiva (Naylor et al., 2000).

Um dos principais requisitos para o bom desenvolvimento da piscicultura é o conhecimento adequado da biologia da espécie utilizada no cultivo. Dentro deste tema, torna-se fundamental o entendimento da fisiologia desses peixes, que consiste no estudo do funcionamento dos diferentes sistemas do organismo, como eles interagem e como respondem às diversas alterações ambientais e métodos de criação, permitindo que se estabeleça as melhores condições para o cultivo de uma determinada espécie.

Os peixes, de modo geral, são capazes de enxergar cores no ambiente e apresentam variações no sistema visual que vai desde a presença de diferentes pigmentos visuais nas células fotossensíveis, até mudanças na organização dos mosaicos retinianos (Pitcher, 1993). Esta variabilidade permite que diferentes espécies de peixes tenham sensibilidade visual desigual, e que a responsividade de cada peixe às colorações ambientais também seja espécie-específica.

Neste estudo abordamos a sensibilidade visual e os efeitos de colorações ambientais em três espécies de peixes bastante diferentes: 1) *Sander lucioperca* (zander), um percídeo, dicromata, predador crepuscular e original da zona temperada norte, 2) *Oncorhynchus mikyss* (truta arco-íris), um salmonídeo, tetracromata, predador com variações entre hábito diurno e noturno, dependendo da estação do ano, e de distribuição geográfica que vai desde o pacífico leste e costa da Califórnia, até o leste da Sibéria, e 3) *Oreochromis niloticus* (tilápia-do-Nilo), um ciclídeo, tricromata, de hábito diurno, herbívoro e original do rio Nilo, na África.

As espécies mostraram respostas bastante diferentes nos testes realizados. O zander não apresentou preferência de cores no teste de preferência, apesar de possuir cones com pigmentos para o verde e vermelho, mas teve maior conversão alimentar e ganho de peso no ambiente vermelho (cap. 2). A truta, que possui cones azuis, verdes e vermelhos, tem preferência pelo verde e amarelo e seus melhores resultados de crescimento ocorreram no ambiente verde (cap. 3). Já a tilápia, que tem preferência pela coloração amarela, não apresenta diferenças de crescimento nas cores quando mantida individualmente, mas quando em grupo tem crescimento mais homogêneo na coloração amarela (cap. 4 e 5).

Até onde temos conhecimento da literatura, algumas cores parecem ter efeitos comuns para a maioria das espécies, como o ambiente verde. Diversos autores mostraram os benefícios desta coloração no crescimento de *haddock*, *Melanogrammus aeglefinus* (Downing, 2002), carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix* (Radenko & Alimov, 1991), carpa comum, *Cyprinus carpio* (Ruchin et al., 2002) e matrinxã, *Brycon cephalus* (Volpato & Camacho, 1998). Igualmente, mostramos aqui que a coloração verde também foi favorável ao crescimento de trutas arco-íris, além de ser a cor de preferência desta espécie. Estes dados indicam que a coloração verde deve proporcionar bem estar para estas espécies.

Por outro lado, algumas colorações são tidas como prejudiciais às espécies de peixes. Papoutsoglou et al. (2000), Tamazoutz et al. (2000) e Peña et al. (2005) encontraram efeitos negativos do ambiente preto para carpa comum, perca (*Perca fluviatilis*) e *spotted sand bass* (*Paralabrax maculatofasciatus*). Ruchin (2004) observou efeitos contraproducentes do ambiente vermelho para carpa cruciana (*Carassius carassius*), *guppy* (*Poecilia reticulata*) e *chinese sleeper* (*Perccottus glenii*). No entanto, pela primeira vez observamos efeitos benéficos da coloração vermelha, que aumentou o ganho de peso e a conversão alimentar do zander (cap.1).

Da mesma forma, enquanto Gaignon et al. (1993) encontraram efeitos negativos da luz amarela em salmão, *Salmo salar*, observamos aqui que grupos de tilápia-do-Nilo sob coloração amarela mostram menor variabilidade individual de crescimento (cap. 4) e maiores taxas de dissacaridases intestinais (cap. 6), além de ser a coloração de preferência desta espécie (Luchiari et al., 2006).

Portanto, fica claro que os efeitos da coloração ambiental são diferentes para cada espécie de peixe, e o estudo dos efeitos das cores sobre parâmetros fisiológicos pode ser indicativo do modo de atuação desses ambientes nos organismos. No entanto, uma generalização sobre este fenômeno ou mesmo a compreensão dos mecanismos pelos quais as cores afetam diferentemente as espécies ainda necessita de maiores investigações.

Um passo a mais para a compreensão dos efeitos das cores sobre peixes foi dado neste estudo, em que abordamos não apenas os efeitos sobre o crescimento, mas algumas conseqüências de diferentes colorações ambientais sobre o sistema digestório de tilápias. Embora, o ganho de peso não possa ser completamente explicado por variações na digestibilidade de nutrientes dos animais nas diferentes cores (cap. 5), a taxa de crescimento específico e a presença e quantidades de dissacaridases apontam que o ambiente azul e violeta são pouco indicados para cultivo de tilápias, enquanto a taxa de maltase e sacarase dos peixes do ambiente amarelo, além do ganho de peso, indicam que esta coloração pode ser benéfica a médio ou longo prazo para a espécie (cap. 6). No entanto, esses resultados ainda são pouco conclusivos para a elaboração de uma visão geral do efeito de ambientes coloridos sobre peixes.

Além dos efeitos das diferentes colorações sobre os de peixes, a própria preferência por determinado ambiente cromático difere entre as espécies. Muitas vezes podemos correlacionar a preferência com características do ambiente natural de cada peixe, mas o que os leva a preferir ou evitar certas colorações nos remete à questionar sobre quais são as vias visuais que guiam essas bases motivacionais nas diferentes espécies.

Os peixes, assim como outros animais, estão em constante interação com os estímulos do meio ambiente. Os estímulos podem levar a respostas imediatas ou fornecer informações que levem a mudanças a longo prazo. Para fazer uso destas informações, o animal deve ter detecção apropriada por um sistema receptor (órgãos dos sentidos), deve integrar e relacionar as informações e finalmente, ter um sistema efetor capaz de se adequar à nova condição.

Um dos estímulos freqüentes do meio é o ambiente fótico, e os peixes possuem sistema capaz de fotorrecepção. Assim, o órgão sensor e o sistema sensorial transmitem a

informação para áreas centrais, via conexões nervosas, onde há interpretação da informação para que haja resposta adequada. No cérebro dos peixes essas informações chegam a duas regiões: o telencéfalo e o mesencéfalo. O mesencéfalo é conhecido como lobo óptico, e compreende o tegumentum e o teto óptico, sendo este último o centro de integração de impulsos visuais com informações sensoriais vindas de outras áreas (Jobling, 1995).

O telencéfalo possui diversas funções, além de ser muito associado ao sistema olfativo. Em peixes, tem sido sugerido que as regiões medial e lateral do telencéfalo devem ser estruturas neurais homólogas à amígdala e ao hipocampo dos mamíferos, pois atuam na integração de estímulos sensoriais, ambientais e também estão envolvidas em alguns aspectos do aprendizado e da memória (Portavella & Vargas, 2005).

Os impulsos sensoriais dos olhos atingem o cérebro via nervo óptico, passam ao longo do trato óptico para os lobos ópticos, onde são processados, e caminham para as regiões do telencéfalo, onde são interpretados e respostas devidas são elaboradas. Desta forma, fatores externos e internos são integrados e podem ser interpretados pelo animal como agradáveis ou desagradáveis, entre outros. Durante a interpretação dos sinais, diversos neurotransmissores devem ser liberados nas áreas corticais, podendo possivelmente diferir se a situação é interpretada como desejável, agradável e provoca bem estar, ou desagradável e provoca desconforto. Por exemplo, a extinção de um estímulo estressor foi relacionada à liberação de serotonina e conseqüente supressão do comportamento agressivo em trutas arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Winberg et al., 2001).

O neurotransmissor serotonina (5-HT) vem sendo estudado em diversas espécies de peixes e parece estar intimamente relacionado ao comportamento agressivo e ansiedade, além de influenciar vários aspectos do comportamento alimentar como fome e regulação do peso corporal (Feldman et al., 1996). O bacalhau do atlântico (*Gadus morhua*), a truta arco-íris e o *grouper* (*Epinephelus coioides*) mostram diminuição no comportamento agressivo quando tratados com dietas contendo L-triptofano, precursor da serotonina (Wingerb et al., 2001; Hseu et al., 2003; Höglund et al., 2005). Além disso, este neurotransmissor foi mostrado estar relacionado com o estabelecimento de hierarquia de dominância, ingestão e crescimento em trutas sob condição de agrupamento (Winberg

et al., 1993). Já em grupos de peixes que não estabelecem hierarquia e não ocorre crescimento heterogêneo, a quantidade de 5-HT nas áreas corticais não apresenta diferença (Jobling et al., 1999).

Outro transmissor neural relacionado à interpretação do ambiente é o GABA. Mecanismos gabaérgicos no mesencéfalo parecem inibir a reação de defesa em peixes (Duarte et al., 2006). A presença desse neurotransmissor nos centros integrativos do sistema visual é relacionada com o controle motor e com a liberação de CRH (hormônio liberador de corticotropina), um dos principais hormônios ligados ao estresse (Clements & Schreck, 2001). O GABA, principal inibidor neural, tem papel crítico nos processos regulatórios da organização e controle comportamental (Feldman et al., 1996).

Como a visão e a percepção do ambiente são primeiro interpretados pelo córtex visual e sistema límbico dos animais, pode ser que estudos relativos aos efeitos das cores sobre a estimulação e inibição destas regiões cerebrais tragam novos conceitos sobre os efeitos do ambiente colorido em peixes. Desta forma, propomos que a interpretação ambiental deve levar primeiramente às mudanças na atividade neural, e assim, a presença de neurotransmissores como serotonina e GABA, entre outros (dopamina, glutamina, histamina), podem ser indicativos de como o animal entende o ambiente a sua volta, se este ambiente proporciona bem estar ou se é um ambiente desfavorável para o animal.

Esta necessidade de entendimento dos fatores que afetam o desenvolvimento, crescimento e produtividade de peixes se deve ao fato de que a piscicultura vem crescendo em ritmo acelerado nas últimas décadas e a qualidade do produto final depende em grande parte da qualidade ambiental imposta nas condições de cultivo. Sabemos que a produção de peixes gira em torno de 90 milhões de toneladas por ano, dentre os quais 30 milhões são para a produção de alimento para os próprios peixes (Naylor et al., 2000). Além disso, é estimado que a produção de alimento deve triplicar nos próximos 50 anos e isso terá que ocorrer de forma que não haja três vezes mais prejuízos para o meio ambiente.

A expansão da aquicultura a longo termo não é considerada sustentável. O contínuo crescimento dependerá de maior produção por volume de água além de tecnologia ambiental sustentável e responsabilidade ambiental (Lucas & Southgate, 2003). O melhoramento genético dos estoques, desenvolvimento da cultura de novas



espécies, formulação de dietas mais nutritivas e menos poluentes, controle de doenças e a manipulação das condições ambientais estão entre as áreas de pesquisa para se conseguir aumento na produtividade de peixes. Assim, tecnologias que aumentem a produção e possibilitem sustentabilidade ambiental incluem sistemas de aproveitamento de água, culturas conjugadas a hidroponia, novas formas de policultura ou mesmo o controle de fatores físicos que melhorem a produtividade sem danos ao meio, como é o caso da utilização de diversas colorações ambientais. No entanto, o emprego desses novos conceitos ainda requer muito estudo e investigação, o que torna a pesquisa com peixes um campo bastante excitante e dinâmico. Assim, a aqüicultura precisa expandir não apenas em termos de produção, mas também no desenvolvimento de novas pesquisas e metodologias para que possamos superar os desafios biológicos que impedem o crescimento sustentável e a conservação ambiental.

## 7.1. Referências

- Clements S, Schreck CB. 2001. The GABA<sub>A</sub> agonist muscimol enhances locomotor activity, but does not alter the behavioural effects of CRH in juvenile spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Fish Physiol Biochem* 24, 41-48.
- Downing G. 2002. Impact of spectral composition on larval haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L., growth and survival. *Aquacult Int* 33, 251-259.
- Duarte TT, Corrêa SAL, Santana UJ, Pereira ASF, Hoffmann A. 2006. Agonistic-like responses from the torus semicircularis dorsalis elicited by GABA<sub>A</sub> blockade in the weakly electric fish *Gymnotus carapo*. *Braz J Med Biol Res* 39, 945-955.
- Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. 1996. Principles of Neuropsychopharmacology. Sinauer Associates, 789pp.
- Gaignon IL, Quemener L, Roux A. 1993. Effects de la diminution de la photoperiode sur la smoltification precoce obtenue en environnement controle chez le saumon atlantique (*Salmo salar*). *Bull Franc Peche Piscicult* 66, 307-315.
- Höglund E, Bakke MJ, Øverlic Ø, Winberg S, Nilsson GE. 2005. Suppression of aggressive behaviour in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) by l-tryptophan supplementation. *Aquaculture* 249, 525– 531.
- Hseu JR, Lu FI, Su HM, Wang LS, Tsai CL, Hwang PP. 2003. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 218, 251–263.
- Jobling M, Koskela J, Winberg S. 1999. Feeding and growth of whitefish fed restricted and rations: influences on growth heterogeneity and serotonergic activity. *J Fish Biol* 54, 437–449.
- Jobling M. 1995. Environmental Biology of Fishes. Chapman & Hall, 436 pp.
- Lucas J, Southgate P. 2003. Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants. Fishing News Books, 544 pp.
- Luchiari AC, Duarte CRA, Freire FAM, Nissinen K. 2006. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Ethol (in press)*

- Naylor RL, Goldberg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H, Troell M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017-1024.
- Papoutsoglou SE, Mylonakis G, Miliou H, Karakatsouli N, Chadio S. 2000. Effects of background color on growth performance and physiological response of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacult Eng* 22, 309-318.
- Peña R, Dumas S, Trasviña A, García G, Pliego-Cortéz H. 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult Res* 36, 1239-1242.
- Pitcher TJ. 1993. Behaviour of teleost fishes. 2<sup>nd</sup> ed. Chapman & Hall, London, 715 pp.
- Portavella M, Vargas JP. 2005. Emotional and spatial learning in goldfish is dependent on different telencephalic pallial systems. *Eur J Neurosci* 21, 2800-2806.
- Radenko VN, Alimov IA. 1991. Importance of temperature and light to growth and survival of larval silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Voprosy ikhtiologii* 31, 655-663.
- Ruchin AB, Vechkanov VS, Kuznetsov VA. 2002. Growth and feeding intensity of young carp *Cyprinus carpio* under different constant and variable monochromatic illuminations. *J Ichthyol* 42, 191-199.
- Ruchin AB. 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol Biochem* 30, 175-178.
- Tamazouzt A, Chatain B, Fontaine P. 2000. Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* L. *Lakhdar Aquaculture* 182, 85-90.
- Volpato, GL & Camacho, RD. 1998. Coloração ambiental, agressão e crescimento em alevinos de matrinxã. *Anais da XII Reunião da FeSBE, Caxambu-MG*, p. 241-242.
- Winberg S, Carter CG, McCarthy ID, He Z-Y, Nilsson GE, Houlihan DF. 1993. Feeding rank and brain serotonergic activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Fish Biol* 179, 197-211.
- Winberg S, Øverli Ø, Lepage O. 2001. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary l-tryptophan. *J Exp Biol* 204, 3867-3876.