



CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA E COMPORTAMENTAL DE PIAUS *LEPORINUS PIAU* AGRUPADOS E SUBMETIDOS A RESTRIÇÃO ALIMENTAR

E.M. Soares

M.C. Aarão; L.M. Ide

Universidade Federal de São João del - Rei, Departamento de Ciências Naturais, Laboratório de Ecofisiologia, Campus Dom Bosco, Praça Dom Helvécio, nº 74, Bairro Fábricas, 36.301 - 160, São João del - Rei, MG, Brasil. Telefone: (32) 3379 2460 elisasoares_22@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O piauí, *Leporinus piau* (Fowler, 1941), é um peixe de hábito alimentar preferencialmente herbívoro que se reproduz em cativeiro mediante desova induzida. Apresenta o corpo prateado com três manchas escuras nos seus flancos e nadadeiras ligeiramente douradas. Relatam - se tamanhos de 40cm e 2kg, mas os padrões são espécimes bem menores. É nativo da bacia do rio São Francisco, uma das mais importantes do Brasil, irrigando os estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (Sato & Godinho, 1999).

Esta espécie apresenta hábito territorial e durante o agrupamento estabelece nítida hierarquia de dominância através de constantes e intensas interações sociais, caracterizadas por comportamentos agonísticos, assinalados principalmente por ameaças e confrontos laterais (Lara & Ide, 2005). Piaús apresentam hábitos diurnos de atividade, em que o momento da alimentação coincide com o horário de maior atividade natatória dessa espécie (Barbosa Júnior & Ide, 2004). Os peixes que apresentam a substância de alarme são principalmente da Superordem Ostariophysi, incluindo o *Leporinus piau*, que produz a substância de alarme e apresentam reação a esta, confirmado pela existência de células *club* na epiderme desses animais e pelas respostas comportamentais de alarme apresentadas pelos animais testados, sendo a resposta variável em condições de manutenção em agrupamento ou isolamento, em laboratório (Magalhães *et al.*, ., 2003). A substância de alarme é involuntariamente liberada quando a pele é mecanicamente danificada, durante o ataque ou quando capturado por um predador. Essa substância, quando liberada na água, induz reações de alarme ou respostas defensivas antipredatórias em co - específicos ou hétero - específicos. Na natureza, o tipo e a duração da resposta das presas aos predadores está associada aos hábitos das espécies e a condições ambientais (Pfeiffer, 1985) e podem variar dependendo do grau de ameaça (risco de predação) ou vulnerabilidade. Wisenden & Smith (1997) demonstraram em *Pimephales promelas* que a quantidade de alimento altera a densidade de células *club* em

animais mantidos em cardume.

Peixes sociais podem organizar - se hierarquicamente quando ocorre escassez de algum recurso no ambiente. O tamanho do animal é descrito como o principal fator para a definição do dominante, principalmente porque, em muitos dos estudos, a taxa de crescimento individual é diretamente proporcional ao grau hierárquico do animal no grupo, ou seja, o dominante cresce muito mais rápido que os submissos, o que reforça, por sua vez, a sua posição de dominância. A definição do status hierárquico em peixes tem sido descrita como tendendo a estabelecer - se num período de tempo bem curto e os estudos ocorrem em média em menos de um dia a no máximo quatorze dias (Sloman & Armstrong, 2002).

OBJETIVOS

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de relacionar o estado de motivação nutricional e condições de manutenção em agrupamento de piaús alevinos no contexto de risco predatório, investigando a influência da alimentação sobre a taxa de crescimento, a organização hierárquica e a morfometria do tecido epitelial de piaús *Leporinus piau* agrupados.

MATERIAL E MÉTODOS

Sujeitos Experimentais

Foram utilizados 206 piaús juvenis, sem distinção de sexo, mantidos em aquários de vidro, contendo cascalho recobrindo o fundo, água de cloração, aerada e continuamente filtrada (conteúdo de oxigênio variando de 7,0 a 10,0mg/l), a temperatura em torno de 23,5^oC e fotoperíodo de 08h00 a 20h00, com intensidade luminosa durante a fase de claro de 58 lx. Os peixes foram adquiridos da GM Alevinos, de Contagem-MG, mantidos no Laboratório de Ecofisiologia do campus Dom Bosco da Universidade Federal de São João

del - Rei e alimentados diariamente às 10h30, com 3% da biomassa de ração comercial específica para peixes.

Inicialmente, cerca de 150 piasus foram mantidos agrupados em 6 aquários de vidro por no mínimo 30 dias para aclimação às condições laboratoriais (dimensões: 44x22x26cm; volume de água: 18l). Posteriormente, foram anestesiados com benzocaína a 0,18 g.l⁻¹ e marcados com lantejoulas de cores variadas (diâmetro: 6mm), presas na porção anterior da nadadeira dorsal com fio de náilon, para possibilitar sua identificação no cardume. Quatro dias após implantação das marcações, 100 piasus foram divididos em 20 subgrupos contendo 5 piasus, com comprimento padrão similares, e transferidos para aquários de vidro (dimensões: 30x15x20cm; volume de água: 5,4l; n=20). Todas as paredes, exceto a anterior, foram revestidas externamente com papel opaco para isolamento visual de outros peixes e do experimentador.

Modelo experimental de restrição alimentar

Para testar a influência da alimentação sobre a hierarquia social, taxa de crescimento e morfologia de epiderme, os animais foram submetidos a modelo experimental de restrição alimentar. No primeiro dia de experimento os animais foram apenas pesados, medidos (peso corporal e comprimento padrão de 3,53 ± 0,80g e 5,45 ± 0,39cm, respectivamente) e agrupados em cardumes com cinco indivíduos. Seu comportamento foi então registrado durante 10min previamente à introdução do alimento e 11min durante e após a introdução do alimento, totalizando 21min de monitoramento (Etapa 1). Durante esses 15 primeiros dias de experimento (Fase 1-Linha de base), os cardumes foram alimentados com 3% da biomassa de ração. A primeira etapa experimental foi finalizada com a tomada de medidas após o segundo registro comportamental, no 16^o dia (Etapa 2). No 17^o dia (início da Fase 2 - Experimental), os cardumes foram diferenciados em grupos controle (n=10) e restrição (n=10) e, a partir daí, o primeiro continuou a receber 3% da biomassa de ração e o outro grupo foi alimentado com 1%. No 31^o dia, realizou - se o registro comportamental e foram tomadas as medidas dos animais (Etapa 3).

Sistema de registro

Todos os animais foram monitorados durante 21min com uma filmadora, e o comportamento dos cinco animais de cada cardume dos dois grupos experimentais foi analisado através da observação das fitas VHS, para identificação e quantificação dos dados comportamentais.

Comportamentos agonísticos

Para avaliar se o tamanho do animal está relacionado com a posição hierárquica e estes com a morfometria da epiderme, foram identificados e quantificados os comportamentos agonísticos. A escala de dominância foi calculada com base no número de interações agonísticas emitidas por um peixe foco menos o número de vezes em que ele foi o alvo de uma interação emitida por outro peixe (O'Connor *et al.*, 2000). As seguintes categorias comportamentais foram utilizadas para determinação da hierarquia de dominância: confronto caudal, confronto frontal, confronto lateral, confronto posterior, confronto paralelo, confronto paralelo duplo, ameaça, perseguição, perda postural (modificado de Lara & Ide, 2005).

Análise morfométrica da epiderme

Ao final do experimento, no 31^o dia, os animais foram decapitados para a retirada de amostras de pele de ambas as faces do corpo, nas proximidades da linha lateral (cerca de 1cm² por amostra). Essas amostras foram fixadas em formalina a 10% e processadas histoquimicamente com ácido periódico-reativo de Schiff e contracoradas com hematoxilina de Harris para análise de espessura de epiderme, identificação dos tipos celulares, dimensões e localização na epiderme.

Taxa de crescimento

Para estudar a influência da alimentação na taxa de crescimento de piasus agrupados (cinco animais em cada aquário), foi avaliada a taxa de crescimento dos cinco animais agrupados dos dois grupos experimentais pelo cálculo da taxa de crescimento específico por peso (%) (O'Connor *et al.*, 2000). Utilizamos a seguinte fórmula: $T_x = 100(\ln M_2 - \ln M_1) / (t_2 - t_1) - 1$

Representação dos resultados e análise estatística

Os dados obtidos foram expressos como média e EPM e analisados empregando - se o teste estatístico não-paramétrico de Mann - Whitney (para dois grupos independentes) ou de Wilcoxon (para 2 amostras dependentes) (Sigma Stat). Um nível de significância de 0,05 foi adotado em todos os testes efetuados.

RESULTADOS

Durante a fase em que as condições de manutenção/oferta de alimento foram semelhantes não houve diferença significativa entre os grupos quanto à taxa de crescimento (T=103,0; p=0,910, Teste de Mann - Whitney). Após a alteração da dieta, animais submetidos à restrição alimentar apresentaram taxa de crescimento significativamente menor do que a apresentada na linha de base (W= - 55,0; p=0,002, Teste de Wilcoxon) e do que a apresentada pelos animais do grupo controle na fase experimental (T=155,0; p ≤ 0,001, Teste de Mann - Whitney). Na quantificação de ataques emitidos, o grupo restrição apresentou valor significativamente maior que o grupo controle na Etapa 3 (T=71,0; p=0,011).

Em 90% dos cardumes do grupo controle o animal considerado dominante, mesmo que não fosse o maior do grupo, era sempre maior que o animal considerado submisso. Já no grupo restrição, tal observação deu - se em apenas 40% dos cardumes formados, ou seja, nem sempre o dominante era maior do que o submisso como observado no grupo controle. Possivelmente a escassez de alimento aumentou a competição entre os animais do cardume desestabilizando a hierarquia social vigente, o que sugere que a alta frequência de comportamentos agonísticos observado pode estar relacionada à manutenção do status hierárquico. Nossos resultados reforçam a hipótese de que o tamanho do animal seria mais uma consequência e não a causa de dominância, uma vez que piasus dominantes mantiveram o *status* de dominância em 60% dos grupos, independente da dieta. Comparando - se a taxa de crescimento e a agressividade em animais submetidos a diferentes dietas, verificou - se que piasus submetidos à restrição alimentar apresentaram menor taxa de crescimento e são mais agressivos que co - específicos sob condições normais de dieta, que pode ser verificado pelo

aumento significativo dos comportamentos agonísticos exibidos pelos animais.

Os animais do grupo controle apresentaram a epiderme significativamente mais espessa do que os do grupo restrição ($T=1015,00$; $p \leq 0,001$, Teste de Mann - Whitney).

A densidade de células *club* foi significativamente maior no grupo controle ($1,21$ por $100 \mu\text{m}^2$) do que no grupo restrição ($0,75$ por $100 \mu\text{m}^2$) ($T=1084,00$; $p \leq 0,001$, Teste de Mann - Whitney). Estes resultados corroboram os obtidos por Wisenden & Smith (1997), que demonstraram que animais submetidos a grande quantidade de alimento exibem maior densidade de células *club* do que animais submetidos a pequena quantidade de alimento. Entretanto, a quantidade de alimento parece não influenciar na quantidade de células mucosas, que se mantêm constantes. Os pesquisadores sugerem uma relação de “custo - benefício”, em que as vantagens na ocorrência de células *club* produtoras da substância de alarme são menores que os custos na diferenciação e manutenção deste tipo celular (Wisenden & Smith, 1997). Relação similar foi verificada na espécie marinha *Asterropteryx semipunctatus*, que habita regiões de recife e que apresenta células especializadas na epiderme análogas às células *club* dos peixes Ostariophysi (McCormick & Larson, 2008).

Comparando - se as variáveis morfométricas da epiderme e a organização hierárquica em animais submetidos a diferentes dietas, os dominantes do grupo controle apresentaram espessura de epiderme significativamente maior ($26,78 \pm 0,70 \mu\text{m}$) do que os dominantes do grupo restrição ($20,76 \pm 1,21 \mu\text{m}$) ($T=136,50$; $p=0,019$). Quanto à densidade de células *club*, esta foi significativamente maior nos dominantes do grupo controle em relação ao restrição ($T=143,00$; $p=0,005$) e também nos submissos do grupo controle em relação ao restrição ($T=136,50$; $p=0,019$).

Comparando - se as variáveis morfométricas da epiderme e o tamanho dos animais submetidos a diferentes dietas, constatamos que a epiderme é mais espessa nos animais maiores e menores do grupo controle em relação às classes respectivas do grupo restrição ($T=135,50$; $p=0,023$; $T=133,00$; $p=0,038$, respectivamente). Comparando - se ambos os grupos experimentais, a densidade de células *club* foi maior nos animais maiores ($T=152,00$; $p \leq 0,001$) e menores ($T=142,00$; $p=0,006$) do grupo controle em relação ao restrição. No entanto, a densidade de células *club* variou significativamente entre os animais maiores e menores apenas no grupo controle ($T=135,00$; $p=0,026$). Animais maiores apresentaram dimensão das células *club* significativamente maior em relação aos animais menores do grupo controle ($T=74,00$; $p=0,021$)

CONCLUSÃO

Piaus submetidos à restrição alimentar apresentam menor taxa de crescimento e são mais agressivos que co - específicos sob condições normais de dieta. Nem sempre os maiores emitem maior número de comportamentos agonísticos, reforçando a hipótese de que o tamanho do animal seria mais

uma consequência e não a causa de dominância. Animais dominantes e submissos ou maiores e menores submetidos a restrição alimentar apresentam menor espessura da epiderme e menor densidade de células *club*. E quanto à dimensão dessas células somente observou - se diferença significativa entre animais maiores e menores do grupo controle. No entanto, a densidade de células mucosas se mantém constante, independente do status hierárquico ou tamanho dos animais e suas dimensões não apresentam diferenças significativas.

(Agradecimentos a UFSJ-CNPQ pelo financiamento).

REFERÊNCIAS

- Barbosa Júnior, A.; Ide, L.M.** Ritmo circadiano da atividade locomotora e reação de alarme em piau *Leporinus piau*. In: III Congresso de Produção Científica da Universidade Federal de São João del - Rei, São João Del - Rei, MG. **Resumos...UFSJ**, 2004. 1 CD - ROM.
- Lara, A.A.; Ide, L.M.** Comportamentos apresentados por *Leporinus piau* no estabelecimento de hierarquia de dominância. In: IV Congresso de Produção Científica - XIII Seminário de Iniciação Científica, São João Del - Rei. **Anais...São João Del - Rei: UFSJ**, 2005. 1 CD - ROM.
- Maccormick, M. I.; Larson, J. K. 2008.** Effect of hunger on the response to, and the production of, chemical alarm cues in a coral reef fish. *Anim. Behav.*, **75**:1973 - 1980.
- Magalhães, E.J.; Hoffmann, A.; Ide, L.M.** Alarm reaction in a south American teleost fish. In: XXXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia e XXI Congresso da Associação Latino - Americana de Ciências Fisiológicas, Ribeirão Preto, **Resumos...São Paulo**, 2003. p.315.
- O'Connor, K.I.; Metcalfe, N.B.; Taylor, A.C. 2000.** The effects of prior residence on behavior and growth rates in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Behav. Ecol.*, **11**: 13 - 18.
- Pfeiffer, W.; Waltz, U.; Wolf, R.; Mangold - Wernado, U. 1985.** Effects of steroids hormones and other substances on alarm substance cells and mucous cells in the epidermis of the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (L.), and other Ostariophysi (Pisces). *J. Fish Biol.*, **27**: 553 - 570.
- Sato, Y.; Godinho, H.P. 1999.** Peixes da bacia do rio São Francisco. In: Lowe - McConnell, R.H. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. São Paulo: EDUSP, p. 401 - 413.
- Sloman, K.A.; Armstrong, J.D. 2002.** Physiological effects of dominance hierarchies: laboratory artefacts or natural phenomena? *J. Fish Biol.*, **61**: 1 - 23.
- Wisenden, B.D.; Smith, J.F. 1997.** The effect of physical condition and shoalmate familiarity on proliferation of alarm substance cells in the epidermis of fathead minnows. *J. Fish Biol.*, **50**: 799 - 808.