



FERNANDA KELEY SILVA PEREIRA NAVARRO

**EFEITO DO FOTOPERÍODO NA
ATIVIDADE LOCOMOTORA E PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM FÊMEAS DE LAMBARI
(*Astyanax bimaculatus*)**

**LAVRAS-MG
2011**

FERNANDA KELEY SILVA PEREIRA NAVARRO

**EFEITO DO FOTOPERÍODO NA ATIVIDADE LOCOMOTORA
E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM FÊMEAS DE LAMBARI**

(Astyanax bimaculatus)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Luis David Solis Murgas

Coorientadores

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto

LAVRAS - MG

2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Navarro, Fernanda Keley Silva Pereira.

Efeito do fotoperíodo na atividade locomotora e parâmetros fisiológicos em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*) /

Fernanda Keley Silva Pereira Navarro. – Lavras : UFLA, 2010.

58 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Luis David Solis Murgas.

Bibliografia.

1. Reprodução. 2. Maturação gonadal. 3. Cortisol. 4. Glicose. 5. Regime de luz. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 639.3752041823

FERNANDA KELEY SILVA PEREIRA NAVARRO

**EFEITO DO FOTOPERÍODO NA ATIVIDADE LOCOMOTORA
E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM FÊMEAS DE LAMBARI**

(Astyanax bimaculatus)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de dezembro de 2010.

Dra. Mônica Rodrigues Ferreira

UFLA

Dr. Daniel Okamura

UFLA

Dr. Rodrigo Fortes da Silva

UNIFENAS

Dr. Luis David Solis Murgas

Orientador

LAVRAS - MG

2010

A Deus, aos anjos e a minha linda família que sempre estiveram junto a mim, e foram minhas estrelas guias diante de uma trilha muitas vezes obscura e escorregadia...

Ao “Mo” (Rodrigo) a sua presença sempre constante na minha vida... a sua energia iluminada que me contagiou de amor, garra, força e perseverança nos momentos de angústia, tristeza...

A minha Filha (Ana Katharina) a cada olhar, a cada sorriso radiante, a cada gesto puro de afeto e descoberta... que me fizeram esquecer do cansaço e me energizaram durante todo meu caminhar ...

Aos meus pais, João Batista e Maria das Dores, e aos meus irmãos Bruno, Emanuele, que mesmo distantes, acredito que estiveram torcendo pela minha conquista.

A minha sogra Piedade, a Nem, a Nanata pela amizade, positividade e clareza espiritual.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS e aos anjos pela proteção, força e luz guia durante todo meu caminhar neste período de minha vida.

À FAPEMIG pela bolsa concedida durante todo o projeto. À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Medicina Veterinária, pelo acolhimento.

À Universidade Federal de Viçosa e ao professor desta instituição, Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, por ter me concedido os animais do presente estudo.

À professora Luciana Sonne, do laboratório de patologia clínica da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília por ter me permitido realizar as análises histológicas.

Ao professor Luis David Solis Murgas e à professora Laura Cristina Jardim Pôrto, pela orientação.

Ao funcionário do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do DMV/UFLA, Willian César Cortez por estar sempre prestativo nos momentos solicitados.

Ao técnico de laboratório, José Rodrigues Alves Almeida e Silva, do setor de patologia do departamento de Medicina Veterinária da UFLA, pela participação no processamento das lâminas histológicas.

Aos doutores Daniel Okamura e Rodrigo Fortes da Silva e Mônica Rodrigues Ferreira por se disponibilizarem a fazerem parte da banca.

A meu marido Rodrigo Diana Navarro pelo enorme apoio e participação no decorrer de toda minha jornada.

Aos colegas Viviane de Oliveira Felizardo Francisco, Estefânia Andrade, Galileu Crovatto Veras e Raquel de Andrade Mello pelos auxílios durante a execução do projeto.

Enfim, a todos que contribuíram para minha formação e para execução desse projeto...

“... A Sabedoria de Deus sempre me orienta em direção à segurança e à prosperidade.”

Masaharu Taniguchi

“Muitas coisas na vida pessoal e profissional são iguais ao bambu chinês. Você trabalha, investe tempo, esforço, faz tudo o que pode para nutrir seu crescimento, e às vezes, não se vê nada por semanas, meses ou anos. Mas se tiver paciência para continuar trabalhando, persistindo e nutrindo, o seu quinto ano chegará, e com ele virão um crescimento e mudanças que você jamais esperava...”

Stephen Covey

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito do fotoperíodo na atividade locomotora e parâmetros fisiológicos em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*). Cento e vinte lambaris adultos foram mantidos em aquários de 20 litros cada um, em delineamento inteiramente ao acaso, com três tratamentos (T1 = 0Luz:24Escuro, T2 = 12L:12E, T3 = 24L:0E) e quatro repetições. A atividade locomotora diária dos lambaris foi registrada durante 15 dias por meio de uma fotocélula infravermelha. Posteriormente, foram coletadas amostras de sangue através de punção caudal para as dosagens de glicose, cortisol e LH. Os peixes foram pesados, medidos e tiveram suas gônadas retiradas. Os ovários foram pesados e imersos em solução fixadora de Bouin por 24 horas e em seguida foram mantidos em álcool 70% até o processamento do material. Foram feitos cortes de 5 μ m de espessura, em micrótomo. As preparações obtidas foram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina. A partir deste material, foi analisado o estágio de desenvolvimento dos ovócitos. No presente estudo, as fêmeas de lambaris apresentaram um ritmo de atividade locomotora diurna. Lambaris submetidos aos fotoperíodos 12L:12E e 24L:0E apresentaram maiores ($p < 0,05$) níveis de cortisol e atividade locomotora, além de menor taxa de sobrevivência em relação ao regime de 0L:24E. A concentração de glicose e o crescimento dos peixes submetidos a 24L:0E foi significativamente menor ($p < 0,05$) em relação aos outros tratamentos. Os diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação ao peso final, peso da gônada, índice gonadossomático (IGS), índice hepatossomático (IHS) e níveis do hormônio luteinizante (LH). Em todos os tratamentos as fêmeas de lambari apresentaram ovários em maturação com a prevalência de ovócitos vitelogênicos. Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a luz desempenha um importante papel no comportamento e bem-estar de fêmeas de lambaris. Além disso, os dados evidenciaram que os peixes submetidos a períodos longos de luz ficam mais ($p < 0,05$) estressados e agressivos em relação ao período de escuridão contínua. Porém, o fotoperíodo não influenciou os níveis de LH e a maturação ovariana em fêmeas de lambari.

Palavras-chave: Fotoperíodo. Parâmetros fisiológicos. Fêmea de lambari. Atividade locomotora.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of photoperiod on locomotive activity, physiological parameters in female lambari (*Astyanax bimaculatus*). One hundred and twenty adults lambaris were kept in tanks of 20 liters each, in a completely randomized design with three treatments (T1 = 0Luz: 24Escuro, T2 = 12L: 12D, T3 = 24L: 0D) and four replications. The locomotor activity was recorded daily lambari for 15 days through an infrared photocell. Subsequently, blood samples were collected through caudal puncture for assay of glucose, cortisol and LH. The fish were weighed, measured and had their gonads removed. The ovaries were weighed and immersed in Bouin's fixative for 24 hours and then were kept in 70% alcohol until processing of the material. Sections were made of 5 μm thick with a microtome. The preparations obtained were subjected to staining with hematoxylin-eosin. From this material, we analyzed the developmental stage of oocytes. In this study, females showed a lambaris diurnal rhythm of locomotor activity. Lambaris subjected to photoperiods of 12L: 12D and 24L: 0D had higher ($p < 0,05$) cortisol levels and locomotor activity, and lower rate of survival in relation to the scheme 0L: 24E. The concentration of glucose and growth of fish subjected to 24L: 0D was significantly lower ($p < 0,05$) compared to other treatments. The different treatments showed no significant differences ($p > 0,05$) in relation to the final weight, weight of gonad, gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and levels of luteinizing hormone (LH). In all treatments, females had ovaries in maturation with the prevalence of vitellogenic oocytes. The results of this study showed that light plays an important role in behavior and welfare of female smelt. Moreover, the data showed that fish subjected to long periods of light are more ($p < 0,05$) stressed and aggressive towards continual darkness. However, photoperiod did not affect the levels of LH and ovarian maturation in female lambari.

Keywords: Photoperiod. Physiological parameters. Female lambari. Locomotor activity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Fotoperíodo em peixes	15
2.2	Fotoperíodo e crescimento	16
2.3	Fotoperíodo e reprodução	19
2.4	Fotoperíodo e bem-estar	23
2.5	Fotoperíodo e atividade locomotora	25
2.6	Espécie estudada	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Animais e instalação	28
3.2	Experimento I: “Efeito de diferentes fotoperíodos no crescimento, atividade locomotora e bem-estar em fêmeas de lambari (<i>Astyanax bimaculatus</i>)”	30
3.2.1	Atividade locomotora	30
3.2.2	Procedimentos de coleta e análises bioquímicas	30
3.2.3	Análises estatísticas	31
3.3	Experimento II: “Efeito de diferentes fotoperíodos nos níveis plasmáticos de LH e na maturação gonadal de fêmeas de lambari (<i>Astyanax bimaculatus</i>)”	32
3.3.1	Procedimentos de coleta e análises bioquímicas	32
3.3.2	Histologia	33
3.3.3	Análises estatísticas	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	34

4.1	Experimento I: “Efeito de diferentes fotoperíodos no crescimento, atividade locomotora e bem-estar em fêmeas de lambari (<i>Astyanax bimaculatus</i>)”	34
4.2	Experimento II: “Efeito de diferentes fotoperíodos nos níveis plasmáticos de LH e na maturação gonadal de fêmeas de lambari (<i>Astyanax bimaculatus</i>)”	41
5	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Os movimentos de rotação e translação da terra fazem com que os organismos que nela habitam sejam submetidos a mudanças cíclicas dos fatores ambientais. Todas as formas de vida respondem aos ciclos do sol, da lua e das estações, sendo denominados de relógio biológico ou ritmo circadiano. A maioria dos eventos bioquímicos, fisiológicos e comportamentais dos seres vivos são rítmicos. Os fatores externos ao relógio de natureza rítmica que influenciam nos ritmos biológicos chamam-se sincronizadores ou “zeitgebers”. Os ciclos de fotoperíodo e a temperatura são os principais sincronizadores dos ritmos diários e anuais.

O efeito de variáveis ambientais sobre o crescimento, sobrevivência e as respostas fisiológicas dos peixes têm sido extremamente estudadas. Alguns estudos científicos e investimentos estão sendo aplicados na área de piscicultura, com a finalidade de minimizar o estresse dos peixes decorrente de diversos fatores como manejo, estado nutricional, qualidade da água, temperatura, fotoperíodo, salinidade.

A iluminação corresponde a um dos diversos estímulos ambientais que, em condições de criação, pode ser facilmente manipulada nos sistemas de recirculação de água a fim de alterar aspectos fisiológicos, crescimento, sistema neuro-hormonal, reprodução, comportamento. A diversidade de respostas à luz entre os peixes pode ser reflexo de adaptações específicas ao seu ambiente, onde a luz pode variar em termos de quantidade (intensidade), qualidade (espectro) e duração (fotoperíodo).

O cortisol, o principal glicocorticóide sintetizado no tecido interrenal de peixes, possui um importante papel na resposta ao estresse, comportamento, osmorregulação, metabolismo, crescimento, reprodução e função imune. Em peixes teleósteos, a elevação plasmática de cortisol e glicose são reconhecidas

como as principais respostas ao estresse, sendo amplamente utilizadas como indicadores dessa resposta. O cortisol é utilizado para caracterizar a resposta primária, e a glicose a resposta secundária do estresse em peixes.

No que se refere aos ritmos de comportamento, as espécies de peixes têm sido classificadas como diurnas, noturnas ou crepusculares, de acordo com a hora do dia em que se tem o pico de sua atividade. O fotoperíodo é um fator chave na sincronização da atividade locomotora em peixes. Em *Solea senegalensis* foi verificada uma maior atividade locomotora desta espécie durante a noite, com 84,3% da atividade total neste período do dia. *Oryzias latipes* apresentou maior atividade diurna no verão em relação a outras estações, independente do estrato aquático.

Além disso, os processos reprodutivos normalmente apresentam ritmos endógenos disparados por sinais ambientais, de modo que encaixam o período da reprodução em uma época ambiental favorável ao desenvolvimento das larvas e alevinos.

Embora inúmeros fatores ambientais, tais como temperatura, fotoperíodo, precipitação, alimentação e feromônios, têm sido implicados como possíveis influenciadores da atividade reprodutiva de diferentes espécies, o fotoperíodo é, provavelmente, responsável pelo tempo de reprodução da maioria dos peixes. O fotoperíodo, fator importante na maturação gonadal de peixes, exerce ação direta no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal dos peixes teleósteos, estimulando ou inibindo a produção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), de hormônios pituitários (FSH e LH) e outros hormônios que modulam a reprodução e a maturação dos gametas.

Alterações no regime de luz são detectadas por receptores específicos, transmitidas ao cérebro e após, para o hipotálamo (ou diretamente para o hipotálamo), alterando a produção e liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O GnRH estimula a liberação das gonadotrofinas (FSH

e LH) pela adeno-hipófise, que estimula a liberação das gonadotrofinas pela adeno-hipófise. O hormônio folículo estimulante (FSH) estimula o crescimento gonadal, a gametogênese e a entrada de vitelogenina no oócito enquanto que o hormônio luteinizante (LH) é importante para a maturação final dos oócitos e desova. A influência da gonadotropina sobre a gônada varia ao longo do processo de maturação, de modo que a gônada pode ser mais ou menos receptiva a gonadotropina, cujo efeito também varia ao longo do desenvolvimento gonadal.

O manejo das condições ambientais pode ser uma excelente ferramenta de manipulação para indução da maturação gonadal. Como exemplo disso, a manipulação do fotoperíodo está sendo usado na aquicultura para alterar várias funções fisiológicas em diferentes espécies de peixes, como reprodução e maturação gonadal, crescimento, e época de desova.

Assim, tornam-se necessários maiores investimentos e pesquisas dentro desta linha científica, a fim de contribuir com desenvolvimento da piscicultura brasileira. O Brasil possui alto potencial para piscicultura devido às suas condições ambientais favoráveis à elevada diversidade de espécies nativas com potencial para corte e para ornamentação, além da vasta disponibilidade de recursos hídricos. Entre as espécies mais cultivadas, estão as de origem exóticas, como a carpa (*Cyprinus carpio*), a tilápia (*Oreochromis niloticus*) e a truta (*Onchorhynchus nykiss*). Entretanto, dentro da ampla diversidade da fauna aquática brasileira, são encontradas espécies que se adequam perfeitamente ao cultivo, como o pacu, o tambaqui, o piavuçu, lambari, entre outros.

Com base nos relatos anteriores, acrescido ao significativo valor comercial e ecológico da espécie nativa *Astyanax bimaculatus*, a sua possibilidade de manejo em laboratório, aos poucos estudos referentes a esta espécie brasileira com manipulação do fotoperíodo e a possível utilização do

lambari como espécie modelo para outras espécies de peixes no emprego de novas biotecnologias, o lambari de rabo amarelo foi utilizado neste estudo.

Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fotoperíodos na atividade locomotora e parâmetros fisiológicos em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A organização temporal de um ser vivo pode ser expressa como reação a estímulos ambientais, que apresentam efeitos importantes sobre a expressão dos ritmos endógenos, promovendo ajustes através de mecanismos biológicos específicos e dentro de limites bem definidos para cada espécie (FÁLCÓN et al., 2010).

2.1 Fotoperíodo em peixes

O fotoperíodo, que corresponde à duração do tempo de luz ao longo do dia, mantém-se constante ao longo dos anos e reflete a sazonalidade dependendo da latitude. Nas regiões tropicais o ciclo 12Luz/12Escuro exibe notável estabilidade (MARTINEZ-CHAVEZ et al., 2008), enquanto que em regiões temperadas a fase é ajustada ao longo do ano (ZIV et al., 2005).

O fotoperíodo, juntamente com outros sincronizadores como temperatura, disponibilidade de alimentos, de chuva ou água e salinidade, podem moldar os ritmos circadianos e/ou anuais. Segundo Biswas e Takeuchi (2002), o fotoperíodo, dentre outros fatores e fenômenos ambientais, é o que apresenta maior influência sobre o biorritmo dos animais afetando o ganho de peso, a ingestão de alimentos, o gasto de energia, a atividade de locomoção, assim como outros parâmetros fisiológicos.

A diversidade de repostas a luz entre os peixes pode ser reflexo de adaptações específicas ao seu ambiente, onde a luz pode variar em termos de quantidade (intensidade), qualidade (espectro) e duração (fotoperíodo). Para acompanhar as variações de luminosidade, os peixes possuem um relógio endógeno, constituído de fotorreceptores sensíveis à luz e de sistemas humorais e neurais que informam a todo o organismo o estado de iluminação ambiental (FÁLCÓN et al., 2010).

A informação neural da retina e glândula pineal é transmitida ao diencéfalo ventral através do trato retino hipotalâmico e pineal, respectivamente. Esta mensagem gera uma indicação do comprimento do dia assim como variações na iluminação do ambiente (FALCÓN et al., 2010). A informação humoral é marcada pela liberação de melatonina cujo ritmo de liberação e intensidade de produção sinalizam ao organismo o comprimento do dia e estação do ano.

A melatonina é um hormônio que apresenta picos de liberação durante a noite e apresenta-se a níveis basais durante o dia. Este hormônio pode atuar diretamente sobre o hipotálamo, modulando a produção de fatores liberadores da glândula hipofisária, como também agir diretamente sobre a hipófise regulando a produção hormonal e sobre os tecidos periféricos (gônadas, fígado entre outros). Dessa forma, a melatonina pode influenciar na reprodução, crescimento, atividade locomotora e metabolismo dos peixes (FALCÓN et al., 2010).

2.2 Fotoperíodo e crescimento

Fatores extrínsecos são particularmente importantes no crescimento de vertebrados ectotérmicos, como os peixes teleósteos, que dependem da temperatura, fotoperíodo e disponibilidade de alimentos para os processos iniciais de desenvolvimento (TAYLOR et al., 2005). A manipulação do fotoperíodo com o interesse de melhorar o crescimento dos peixes tem se tornado uma área de interesse dentro da produção comercial de várias espécies (TAYLOR; MIGAUD, 2009). O fotoperíodo ótimo para o crescimento dos peixes pode variar em relação à espécie, idade ou fase de desenvolvimento, estação e temperatura ambiente (BANI et al., 2009).

Em geral, as larvas precisam de um limiar mínimo de intensidade de luz para se desenvolverem e crescerem normalmente. Peixes adultos (marinhos e

espécies de salmonídeos) também reagem às manipulações de fotoperíodo; geralmente dias longos estimulam o crescimento de espécies de peixes diurnas (FALCÓN et al., 2010).

A luz pode induzir efeitos sobre o crescimento de várias espécies de peixes. Em salmonídeos, o fotoperíodo atua diretamente sobre o crescimento, através de sua influência sobre ritmos endógenos (ENDAL et al., 2000) e por intermédio de fotoestimulação direta do eixo somatotrófico (FÁLCÓN et al., 2010). Sabe-se que GH e IGF-1, particularmente, são potentes estimuladores do crescimento muscular. Rápidos aumentos dos níveis circulantes de GH e IGF-1 têm sido relacionados com altas temperaturas e dias longos (TAYLOR; MIGAUD, 2009).

O tratamento com luz contínua, produziu efeitos pequenos, mas significativos no crescimento muscular durante o ciclo de produção de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (JOHNSTON et al., 2004).

Estudos com juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) submetidos à fotoperíodo de 18L:6E sugerem uma estimulação direta sobre o crescimento devido ao aumento do nível plasmático de IGF-1 em relação aos peixes submetidos ao fotoperíodo natural e ao regime de 6L:18E (TAYLOR et al., 2005). Melhor ganho de peso e crescimento foram observados nesta espécie exposta a luz contínua (TAYLOR; MIGAUD, 2009). No entanto, Cruz e Brown (2009), apesar de verificarem uma tendência de aumento da taxa de crescimento específico tanto em massa quanto em comprimento de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a 16L:8E em relação a 8L:16E, não constataram relação entre o nível de transcrição de IGF-1 hepático e duração da fase de luz.

Biswas et al. (2008b, 2010) demonstraram que o desempenho de crescimento de *Pagrus major* submetidos a 24L: 0E foi estimulado com aumento significativo da ingestão alimentar em relação aos demais fotoperíodos.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudo com *Sparus aurata* onde foi verificado aumento da ingestão alimentar em peixes submetidos à luz contínua e aumento do ganho de peso em fotoperíodos longos (16L:8E e 24L:0E) em relação ao grupo controle (GINÉS et al., 2004). Imsland et al. (2006, 2009) observaram que *Hippoglossus hippoglossus* cresceram melhor nos fotoperíodos longos (20L:4E e 24L:0E) em relação ao fotoperíodo natural e quando expostos a luz contínua durante diferentes períodos do ciclo produtivo, respectivamente. Resultados semelhantes foram verificados em pesquisas com 3 juvenis de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) sob luz contínua (IMSLAND et al., 2008; TARANGER et al., 2006).

Em tilápia do Nilo, as melhores taxas de crescimento e conversão alimentar também foram observadas durante fotoperíodos de 18L: 6E e 24L: 0E, que pode ter sido atribuída à diminuição da perda de energia e da taxa metabólica (conservação de energia) desta espécie durante esses longos fotoperíodos (EL-SAYED; KAWANNA, 2007). Estes resultados corroboram com o estudo de Rad et al. (2006), que ao trabalhar com a mesma espécie, mostraram um melhor crescimento sob regime de 24L:0E, durante o estágio de alevinos. Mendonça et al. (2009) demonstraram que os maiores fotoperíodos (24L:0E e 18L:6E) influenciaram de forma positiva sobre o desempenho produtivo dos alevinos de tambaqui.

Tilápias submetidas a diferentes fotoperíodos (0, 8, 12, 16, 24 horas de luz e 12,5 horas de luz natural) apresentaram maior crescimento dos alevinos quando comparado à ausência de luz (BEZERRA et al., 2008).

O desempenho do crescimento de *Oplegnathus fasciatus* foi estimulado quando submetidos a diferentes fotoperíodos (6L:6E, 12L:12E, 16L:8E e 24L:0E), porém a exposição a 12L:12E resultou em menor estímulo em relação aos demais tratamentos. Um melhor crescimento sob manipulação do

fotoperíodo pode ser atribuído à melhora no apetite, maior ingestão e conversão alimentar (BISWAS et al., 2008a).

Nos estudos resultados de Almazán-Rueda et al. (2005) foram observados um aumento do comprimento e menor atividade de agressividade e estresse em bagre africano (*Clarias gariepinus*) sob 6L:18E e 0L:24E em relação a 18L:6E e 12L:12E. A enguia Européia (*Anguilla anguilla*) apresentou maior crescimento e uma melhor conversão alimentar na ausência de luz em relação a 12L:12E (RODRIGUES; CASTELLO-ORVAY; GISBERT, 2009).

Bani et al. (2009), estudaram o efeito de diferentes fotoperíodos (24L:0E, 0L:24E, 18L:6E e 12L:12E) sobre o crescimento de juvenis de esturjão (*Huso huso*) e não observaram diferença significativa no crescimento entre os diversos tratamentos. O comprimento e peso de pós larvas de piracanjuba também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (14L:10E, 10L:14E, 24L:0E e 0L:24E), porém foi observada uma maior heterogeneidade entre as pós-larvas cultivadas com maior período de escuridão (REYNALTE-TATAJE et al., 2002).

2.3 Fotoperíodo e reprodução

O manejo das condições ambientais pode ser uma excelente ferramenta de manipulação para indução da maturação gonadal. O fotoperíodo é responsável pela maturação gonadal, por exercer ação direta no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal dos peixes teleósteos, estimulando ou inibindo a produção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), de hormônios hipofisários (FSH e LH) e outros hormônios que modulam a reprodução e a maturação dos gametas (AMANO et al., 2004). Bromage, Porter e Randall (2001) relataram que os níveis de melatonina são fortemente correlacionados com o fotoperíodo em salmonídeos, resultando no avanço ou atraso do tempo de desova, sugerindo que

a melatonina atua como um regulador do comportamento reprodutivo. Além disso, Amano et al. (2000) relataram que a melatonina também influencia nos sinais de fotoperíodo no controle do desenvolvimento gonadal em salmão (*Oncorhynchus masou*), e que essas mudanças no fotoperíodo são traduzidas pelos ritmos de melatonina que transferi esta informação para o cérebro-hipófise-gonadal.

A maturação dos gametas é regulada pelas gonadotropinas que estimulam as gônadas a sintetizar hormônios esteróides. Ao longo do processo de desenvolvimento gonadal, diferentes esteróides sexuais apresentam importância em cada fase, porém as gonadotropinas influenciam a produção de todos eles. A influência da gonadotropina sobre a gônada varia ao longo do processo de maturação, de modo que a gônada pode ser mais ou menos receptiva a gonadotropina, cujo efeito também varia ao longo do desenvolvimento gonadal, atuando na produção de esteróides distintos. A sensibilidade da gônada a esses esteróides também se altera ao longo do processo (HARVEY; CAROLSFELD, 1993; MENDONÇA et al., 2009).

A indução à desova através do manejo dos fatores e fenômenos ambientais foi testada, com sucesso, em algumas espécies de clima temperado, nas quais o manejo do fotoperíodo e da temperatura possibilitou desencadear o processo de maturação gonadal (LAM, 1983; MENDONÇA et al., 2009).

Harvey e Carolsfeld (1993) trabalhando com trutas perceberam que somente a manipulação do fotoperíodo é suficiente para desencadear, ou mesmo acelerar, a vitelogênese, porém com carpas a influência da temperatura é mais importante do que a do fotoperíodo. Segundo alguns autores, um aumento ou diminuição repentina do fotoperíodo pode provocar estresse causando a involução das gônadas e prejudicando o processo de reprodução (BALDISSEROTTO, 2002; MENDONÇA et al., 2009).

A pesquisa de Campos-Mendonça et al. (2004) mostrou que fotoperíodos longos (18L: 6E) ajudaram a melhorar alguns traços importantes da reprodução de alevinos de tilápia do Nilo ao elevar a fecundidade e sincronia de desova.

Taranger et al. (2006) verificaram, em experiência-piloto, o potencial de utilização de luz contínua para retardar o desenvolvimento das gônadas e maturação sexual de bacalhau em tanques marinhos. Este resultado corrobora com o estudo de Rad et al. (2006) com fêmeas de tilápia do Nilo. Menores valores de índice gonadossomático, média do tamanho dos oócitos e maior quantidade de oócitos pré-vitelogênicos foram observados em fêmeas mantidas sob regime de luz contínua em relação aos tratamentos de 20L:4E, 18L:6E e controle, que apresentaram maior proporção de oócitos em estágios mais avançados de desenvolvimento (vitelogênico e pós-vitelogênico).

O regime de luz contínua também suprimiu a maturação em fêmeas de salmão Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) de dois anos de idade (UNWIN et al., 2005). Uma redução dos níveis de esteróides e inibição da reprodução de machos e fêmeas de *Perca fluviatilis*, sob luz contínua, também foram observadas nas pesquisas de Migaud et al. (2003). Nenhum peixe maduro e nenhuma evidência de desenvolvimento gonadal e elevação dos níveis de esteróides foram observados em *Melanogrammus aeglefinus* em regime de luz contínua quando comparado ao regime natural (DAVIE et al., 2007).

A manipulação do fotoperíodo não influenciou a maturação de fêmeas de *Hippoglossus hippoglossus*, porém a proporção de machos maduros foi significativamente menor em grupos criados sob luz contínua (IMSLAND; JONASSEN, 2005).

Em bacalhau do atlântico (*Gadus morhua*) foi observado um aumento mais acelerado de hormônios esteróides em peixes submetidos a dias curtos, o que gerou um início mais precoce da maturação (SKJAERAASE et al., 2004).

Em contrapartida, o estudo de Miranda, Strüssmann e Somoza (2009) mostrou menores valores de IGS, redução da expressão do três tipos de GnRH (sGnRH, pjGnRH, cGnRH-II), de β -FSH e β -LH e dos níveis de estradiol em fêmeas mantidas sob fotoperíodo curto (8L:16E). Além disso, maior quantidade de ovócitos pré-vitelogênicos foi verificado nas fêmeas sob 8L:16E enquanto peixes sob 16L:8E apresentaram mais oócitos vitelogênicos. Também no estudo de Amano et al. (2004), as concentrações cerebrais de sGnRH em machos de linguado foram significativamente maiores no regime de 16L:08E em relação ao grupo mantido a 8L:16E. A exposição de carpa (*Catla catla*) ao regime de 16L:8E, durante a fase preparatória, resultou em significativo aumento nos valores de vitelogenina e na atividade de ambas as enzimas da esteroidogênese, mas não no peso do ovário e no número relativo a diferentes fases de oócitos (DEY; BHATTACHARYA; MAITRA, 2005).

Bayarri et al. (2004b) observaram que a exposição de robalo europeu macho (*Dicentrarchus labrax*) a fotoperíodo artificial (18L: 6E) suprimiu a concentração de melatonina circulante e o ritmo diário de produção e liberação de LH, porém nenhuma influência do fotoperíodo artificial foi constatado em relação as variações diárias nos níveis de T (testosterona) e 11 ketotestosterona (11KT) comparado ao fotoperíodo natural. No entanto, nas pesquisas de Fiszbein et al. (2010) com *Cichlasoma dimerus* verificaram-se efeitos inibidores de fotoperíodo curto sobre hormônios ligados a reprodução.

Ao nível do cérebro, macho de *Cichlasoma dimerus* mantido a fotoperíodo curto (8L:16E) demonstraram uma redução na densidade neuronal óptica de GnRH3, assim como nos níveis hipofisários de β -LH, PRL e GH, ao contrário das fêmeas que não apresentaram diferenças significativas no conteúdo de qualquer hormônio da hipófise submetidas a este regime de luz em relação a 14L:10E. Hellqvist et al. (2004) também observaram supressão significativa de

β -FSH e β -LH em machos de *Gasterosteus aculeatus* ao permanecerem no regime de 8L:16E em relação a 16L:8E.

Milla et al. (2009) verificaram uma inibição do ciclo reprodutivo de fêmeas de *Perca fluviatilis* em condições de fotoperíodo constante (12L:12E), que pode estar relacionada à menores níveis de esteróides sexuais e a uma inibição da regulação ovariana por gonadotrofinas (pelo menos LH), cessando a ovogênese antes da fase de vitelogênese.

2.4 Fotoperíodo e bem-estar

A permanência de peixes em ambientes onde fatores como manejo, estado nutricional, qualidade da água, temperatura, fotoperíodo, salinidade não estejam adequados, podem conduzi-los a uma situação de estresse que pode resultar em baixas taxas de sobrevivência e de crescimento, redução da capacidade reprodutiva, além de contribuir para a redução da eficiência do sistema imunológico (ADAMANTE, 2005).

A resposta ao estresse corresponde a uma série de alterações fisiológicas. Os efeitos são divididos em primários, secundários e terciários. Entre os efeitos primários encontram-se os aumentos de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, e corticosteróides no plasma. Nos efeitos secundários, existem os efeitos metabólicos como as alterações na glicemia, no ácido láctico, e no glicogênio hepático e muscular, e os hematológicos, como alterações nos hematócritos e no número de linfócitos, além dos efeitos hidrominerais, como alterações na concentração plasmática de cloro, sódio, potássio, proteínas, e na osmolaridade do plasma. Os efeitos terciários são as quedas no desempenho produtivo e reprodutivo e na resistência às doenças (WENDELAAR BONGA, 1997; ADAMANTE, 2005).

Em peixes teleósteos, a elevação plasmática de cortisol e glicose são reconhecidas como as principais respostas ao estresse, sendo amplamente utilizada como indicador dessa resposta (ADAMANTE, 2005).

Segundo Pickering (1993), o eixo hipotalâmico-hipófise-interrenal (HHI) é estimulado em resposta a maioria das formas de estresse. O efeito catabólico do cortisol em estresse crônico é responsável pela supressão do crescimento. A elevação crônica do cortisol também é responsável pelo aumento da suscetibilidade a doenças e da inibição dos processos reprodutivos (STRANGE; SCHRECK; GOLDEN, 1977).

Em vários teleósteos o aumento do nível de cortisol foi associado às mudanças nos indicadores reprodutivos como níveis circulantes de esteróides gonadais, gonadotropinas e vitelogenina, além da perda de peso corporal, índice gonadossomático, tamanho de oócitos e concentração tecidual das gonadotropinas na hipófise (POTTINGER; YEOMANS; CARRICK, 1999; MENDONÇA et al., 2009). Em truta arco-íris, Pickering (1993) observou que o cortisol atua na hipófise, inibindo a secreção de gonadotropina e na gônada diminuindo a produção de esteróides. Em fêmeas, o cortisol atua no fígado, reduzindo o número de receptores hepáticos para o estradiol (MENDONÇA et al., 2009).

Em contrapartida, apesar da redução da maturação gonadal em peixes sob regime de 12L:12E e 24L:0E, a manipulação do fotoperíodo (12L:12E; 16L:8E e 24L:0E) não causou resposta de estresse significante em *Pagrus major* (BISWAS et al., 2010). Também, nenhuma resposta significativa durante estresse crônico e agudo foi observada em *Pagrus major* sob diferentes fotoperíodos (6L: 6E, 12L:12E, 16L:8E e 24L:0E) (BISWAS et al., 2006).

No estudo de Bani et al. (2009), os níveis de cortisol não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes fotoperíodos, porém a maior taxa de sobrevivência (89%) foi observada em período de 12L: 12E, onde os níveis de

lactato e cortisol como indicadores de estresse foram mínimos. No entanto, no trabalho de Almazán-Rueda et al. (2005), bagres africanos (*Clarias gariepinus*) apresentaram maiores níveis de cortisol e maior agressividade sob regime de 12L:12E e 18L:6E em relação aos períodos curtos de luz (6L:18E e 0L:24E).

2.5 Fotoperíodo e atividade locomotora

O ritmo diário em peixes tem sido estudado durante as últimas duas décadas, com especial ênfase nos ritmos de comportamento (locomotor, reprodutivo e alimentar) e nos ritmos de secreção de fatores neuroendócrinos (OLIVEIRA et al., 2009).

No que se refere aos ritmos de comportamento, as espécies de peixes têm sido classificadas como diurnas, noturnas ou crepusculares, de acordo com a hora do dia em que se tem o pico de sua atividade (OLIVEIRA et al., 2009). Esta preferência por maior atividade em determinadas horas do dia parece ser específica de cada espécie e pode estar associada com uma herança genética ou com adaptações aos habitats (disponibilidade de alimento, predação, etc.) ou depender de fatores sensoriais (dependência da visão para a captura de alimento) (OLIVEIRA et al., 2009).

O fotoperíodo é um fator chave na sincronização da atividade locomotora em peixes. Bayarri et al. (2004a) observaram, em *Solea senegalensis*, uma maior atividade locomotora destes peixes durante a noite, com 84,3% da atividade total neste período do dia. Yokota e Oishi (1992) observaram em *Oryzias latipes*, maior atividade diurna destes peixes no verão em relação a outras estações, independente do estrato aquático.

No experimento de Blanco-Vives e Sánchez-Vázquez (2009), com zebrafish (*Danio rerio* L.), o ritmo de atividade locomotora foi afetado tanto pelo período de alimentação quanto pelo fotoperíodo. O ritmo de atividade

diurna (74,4% da atividade total) diminuiu quando os peixes eram alimentados à noite (49,6%). Bagres africanos (*Clarias gariepinus*) sob fotoperíodos longos de luz apresentaram maior atividade natatória em relação à fotoperíodos curtos (ALMAZÁN-RUEDA et al., 2005).

Em peixes o relógio circadiano parece estar localizado na pineal, uma glândula fotossensível envolvida no controle da síntese de melatonina. Estudos *in vitro* sugeriram que a maioria das espécies de teleósteos possui osciladores endógenos intrapineais, que controlam o ritmo de produção da melatonina (OLIVEIRA et al., 2009).

O ritmo de atividade apresentado pelo peixe pode estar relacionado à produção de algumas substâncias e hormônios liberados. No robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), variações nos ritmos diários de concentração plasmática de cortisol, glicose e insulina foram observadas por Cerdá-Reverter et al. (1998), onde apresentou um ritmo diário diurno de concentração destas variáveis.

2.6 Espécie estudada



Figura 1 Lambari *Astyanax bimaculatus*

O lambari *Astyanax bimaculatus* é uma espécie nativa do Brasil, pertencente à família Characidae, e subfamília Tetragonopterinae. Esta espécie,

de pequeno porte, aceita alimentação artificial com bastante facilidade e apresenta bom potencial para a aquicultura, pois possuem grande importância comercial podendo ser utilizados como iscas em pesca esportivas, consumo humano e como peixes ornamentais (SATO et al., 2006). Conhecido também por tambuí, piabas no Nordeste e matupiris no Norte, possuem distribuição desde o Nordeste brasileiro até a bacia do Prata (AGOSTINHO; NARAHARA; GODINHO, 1982; REZENDE et al., 2005)

Além do interesse comercial, o lambari também possui grande importância ecológica. Estes peixes fazem parte da dieta de vários vertebrados como mamíferos aquáticos, diversas aves e até alguns anfíbios e répteis, além de serem dispersores secundários de sementes auxiliando na preservação das matas ciliares (FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2004).

Espécie de hábito alimentar onívoro, o lambari pode atingir tamanho de 10,9 cm, 42g e, dependendo das condições ambientais, pode apresentar desova total ou parcelada. (SATO et al., 2006). Em alguns tributários do rio Grande, este peixe pode reproduzir durante o ano todo. Isto demonstra ter a espécie uma alta capacidade reprodutiva. A atividade reprodutiva nesta espécie inicia-se a partir dos 5 cm de comprimento (VAZ; TORQUATO; BARBOSA, 2000). Pesquisadores estimaram em três anos a idade da primeira maturação sexual em condições ambientais e Silva, Andrade e Okano (1996) em quatro meses para espécie em cativeiro. Estudos constataram que a primavera é o período de reprodução do lambari, concluindo serem importantes medidas de proteção através da regulamentação da pesca (SATO et al., 2006). Neste trabalho, também se descreve uma diminuição da atividade alimentar, durante o período reprodutivo, sendo que a frequência de estômagos cheios foi mais elevada no outono. Na represa do Lobo, Estado de São Paulo, pesquisadores registraram desova do *A. bimaculatus* no período de setembro a dezembro (SATO et al., 2006). Por outro lado, outros autores trabalhando com a mesma espécie no rio

Ivaí, Paraná, relataram que a desova provavelmente é do tipo parcelado, ocorrendo de novembro a fevereiro e a maturação dos ovários iniciando-se em julho (VILELA; HAYASHI, 2001).

A fecundação desta espécie é externa e não há cuidado parental. O sucesso alcançado por populações dessa espécie se deve à grande gama de estratégias reprodutivas, que podem variar de acordo com as condições ambientais (SATO et al., 2006). A possível influência de fatores abióticos (como fotoperíodo, temperatura e nível pluviométrico) e bióticos (disponibilidade de alimento) sobre o processo reprodutivo de lambari tem sido também avaliada.

Os lambaris possuem grande adaptabilidade a habitats diferentes e são sensíveis a mudanças em seu ambiente natural, apresentando-se como um bom bioindicador de alterações ambientais (FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fisiologia e Farmacologia, do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras – UFLA entre o período de 25 de janeiro a 07 de março de 2010, com duração de 40 dias.

3.1 Animais e instalações

Foram utilizados 120 adultos de lambari, *Astyanax bimaculatus*, provenientes da estação de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa (UFV), com peso de $5,18 \pm 1,8$ g e comprimento de $6,5 \pm 0,8$ cm. Após 15 dias de aclimação, os peixes foram distribuídos em 12 aquários de 20 litros cada um, em delineamento inteiramente ao acaso, com três tratamentos e quatro

repetições. Os tratamentos diferenciaram nas simulações dos fotoperíodos emerais (horas de luz:escuro) que duraram T1= 0L:24E, T2 = 12L:12E, T3 = 24L:0E.

O controle das horas de luz fornecidas durante o experimento foi feito por “*timers*” automáticos que as luzes fluorescentes (20W) das bancadas durante os períodos estipulados. A intensidade da luz foi de 1173 lux, mensurado por meio de um luxímetro digital do modelo LDR-208. Os tratamentos foram isolados para evitar a incidência de luz proveniente de outras fontes luminosas durante o período de escuro de cada tratamento, a fim de padronizar a luz dentro de cada tratamento.

Os aquários experimentais foram mantidos em sistema fechado de recirculação de água. Foram mensurados, diariamente, os parâmetros de qualidade de água: oxigênio dissolvido, pH, temperatura. Os níveis de oxigenação foram mantidos com auxílio de aeradores, cuja vazão da água permaneceu em média de 640mL/min, e mensurados através de um oxímetro digital do modelo YSI. O pH e a temperatura foram medidos através de um medidor multiparâmetro digital.

Durante o manejo alimentar, foi utilizado uma ração comercial contendo 28% de PB e 3.100 kcal de ED/kg (Tropical NUTRON Hi-Fi). A quantidade de ração fornecida, diariamente, foi de 2% do peso vivo e foi dividida em duas refeições diárias; a primeira ração foi fornecida às 9 horas e a segunda às 16 horas. Após 15 minutos de cada refeição, as caixas foram sinfonadas para a retirada das sobras de ração.

3.2 Experimento I: Efeito do fotoperíodo na atividade locomotora e níveis plasmáticos de cortisol e glicose em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*)

3.2.1 Atividade locomotora

A atividade locomotora diária dos lambaris foi registrada durante 15 dias por meio de uma fotocélula infravermelha (Omron, modelo E3S-AD62, Japão) instalada na porção mediana externa de um aquário de vidro de 20 litros com 10 peixes, em cada tratamento. A fotocélula foi ativada pelos movimentos dos animais e os registros desses deslocamentos foram enviados e armazenados por um computador, diretamente conectado à fotocélula. A partir dos dados numéricos armazenados durante o período de avaliação, foi gerado um gráfico demonstrando a atividade locomotora diária média dos 15 dias, com uma linha de tendência a cada 10 minutos. A determinação do modelo de atividade locomotora diária (diurna, noturna ou crepuscular) foi realizada mediante a observação do período de maior atividade de movimentação dos peixes dentro do fotoperíodo (BLANCO-VIVES; SANCHEZ-VÁZQUEZ, 2009).

Durante o experimento, também foram feitas observações visuais do comportamento das fêmeas a fim de detectar, principalmente, os atos antagonísticos, em termos de agressividade.

3.2.2 Procedimentos de coleta e análises bioquímicas

Ao término do experimento, foram feitas coletas de sangue para mensuração de glicose sanguínea, com o objetivo de verificar indicadores de estresse nos peixes e diferenças causadas pelos diferentes fotoperíodos. Exemplos de peixes submetidos a jejum de 24 horas foram previamente

anestesiados com uma solução contendo 400mg/L de benzocaína para dar início aos procedimentos de coleta. Dados de peso, comprimento total referente a cada peixe dos diferentes tratamentos foram mensurados por meio de balança de precisão (0.001g). Foram utilizados 12 peixes de cada tratamento, sob jejum de 24 horas, para as coletas de amostras sanguíneas através de punção caudal, utilizando-se seringas de 1 mL.

Uma alíquota do sangue coletado foi utilizada para quantificar a glicose sanguínea através de aparelho digital de glicose: ACCU - CHEC SOFTCLICK - ESTADOS UNIDOS. A maior parte do sangue coletado foi depositada em tubos eppendorfs contendo heparina e deixada em gelo até que as amostras de todos os peixes fossem coletadas. O sangue coletado foi centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos, em uma centrifugadora eppendorf do modelo 5415C. Em seguida, o plasma heparinizado (sobrenadante) foi retirado com uma pipeta digital. O plasma coletado foi armazenado em eppendorfs e etiquetados para posteriores análises hormonais. Todo material plasmático foi congelado a -20°C até o momento da análise.

Para determinação do cortisol, o plasma foi analisado através da técnica ELISA (Kit CORTISOL 96T. ELISA – HUMAN).

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAS, sendo as médias comparadas pelo teste SNK com 5% de significância.

3.2.3 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAS, sendo as médias comparadas pelo teste SNK com 5% de significância.

3.3 Experimento II: Efeito de diferentes fotoperíodos nos níveis plasmáticos de LH e na maturação gonadal de fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*)

3.3.1 Procedimentos de coleta e análises bioquímicas

Exemplares de peixes submetidos a jejum de 24 horas foram previamente anestesiados com uma solução contendo 400mg/L de benzocaína para dar início aos procedimentos de coleta. Dados de peso final, peso da gônada, peso do fígado, referente a cada peixe dos diferentes tratamentos foram mensurados por meio de balança de precisão (0.001g). Foram utilizados 12 peixes de cada tratamento, sob jejum de 24 horas, para as coletas de amostras sanguíneas através de punção caudal, utilizando-se seringas de 1 mL.

Para o cálculo do índice hepatossomático (IHS), foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{IHS} = \text{PF/PC} \times 100, \text{ onde}$$

PF = peso do fígado

PC = peso corporal

O sangue coletado foi centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos, em uma centrífugadora eppendorf do modelo 5415C. Em seguida, o plasma heparinizado (sobrenadante) foi retirado com uma pipeta digital. O plasma coletado foi armazenado em tubos eppendorfs e etiquetados para posteriores análises hormonais. Todo material plasmático foi congelado a -20°C até o momento da análise.

Para a determinação do LH, foram realizados 4 pools plasmáticos para cada tratamento, sendo que para cada pool foram utilizados três peixes para

compor uma alíquota de 50µl de amostra, que foi analisada através da técnica ELISA (Kit LH DIALAB/GMBH ELISA, AUSTRIA).

3.3.2 Histologia

Ao término do experimento, exemplares de fêmeas de lambari, mantidos a jejum de 24 horas, foram retirados e anestesiados com benzocaína (400mg/L) para procedimento de análise histológica. Imediatamente após o abate, os peixes foram pesados e tiveram suas gônadas e pesadas em balança de precisão (0,001g). Em seguida, os ovários foram imersos em solução fixadora de Bouin por 24 horas e em seguida foram mantidos em álcool 70% a fim de armazenamento até o processamento do material que foi feito no laboratório de Patologia do departamento de Medicina Veterinária da UFLA.

Os ovários fixados foram desidratados numa série alcoólica crescente e xilol para inclusão em parafina histológica. Foram feitos cortes de 5 µm de espessura, em micrótomo Reichert-Jung Histocut 2045. As preparações obtidas foram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina.

No microscópio de luz Leica DM500, com um aumento de 400X, foram visualizados 10 campos das lâminas ovarianas de cada peixe dos diferentes tratamentos. Foram registrados, qualitativamente, os estádios de desenvolvimento gonadal através de observações das preparações em microscópio. Fotomicrografias digitais foram realizadas no microscópio Leica DM500, no laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (UnB). Os ovócitos foram classificados em quatro estádios, conforme descrito por Bazzoli e Rizzo (1990): 01 = ovócitos jovens, 02 = ovócitos pré-vitelogênicos, 03 = ovócitos com vesículas corticais e 04 = ovócitos com glóbulos de vitelo ou vitelogênicos). Além disso, através da análise histológica das gônadas, foi estabelecido quatro

estádios do ciclo reprodutivo das fêmeas com base na distribuição e desenvolvimento dos ovócitos, de acordo com Melo et al. (2005): estágio 1 = repouso, estágio 2 = em maturação e estágio 3 = desovado.

O cálculo do índice gonadosomático (IGS), que indica o estado de desenvolvimento gonadal do peixe, foi realizado utilizando-se a fórmula:

$$\text{IGS} = \text{PG/PC} \times 100, \text{ onde}$$

PG = peso da gônada

PC = peso corporal

3.3.3 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SAS, sendo as médias comparadas pelo teste SNK com 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I: Efeito do fotoperíodo na atividade locomotora e níveis plasmáticos de cortisol e glicose em fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*)

Durante o período experimental, valores médios obtidos de temperatura média de $28,67 \pm 0,73$; $6,65 \pm 0,68$ para pH; $5,23 \pm 0,85$ mg/L para oxigênio dissolvido, estiveram dentro das faixas consideradas aceitáveis para o cultivo de peixes (YOSHIMI et al., 2006).

O fotoperíodo é um fator chave na sincronização da atividade locomotora em peixes (BAYARRI et al., 2004a). Durante os 15 dias de monitoramento da atividade motora, os lambaris sob regime de 24L:0E

apresentaram uma intensa atividade natatória (Média: 2,838 atividade locomotora/min) no decorrer de todo período (Figura 1) enquanto que no tratamento 12L:12E os peixes mostraram uma maior atividade na fase de luz em relação a fase escura (Média: 2,918 atividade locomotora/min, sendo 4,254 atividade locomotora/min na fase de luz e 1,581 atividade locomotora/min na fase de escuro) (Figura 2). Já no tratamento de 0L:24E os lambaris apresentaram baixa atividade natatória durante quase todo período (Média: 1,605 atividade locomotora/min), com exceção do pico de atividade próximo as 8 horas (Figura 3).

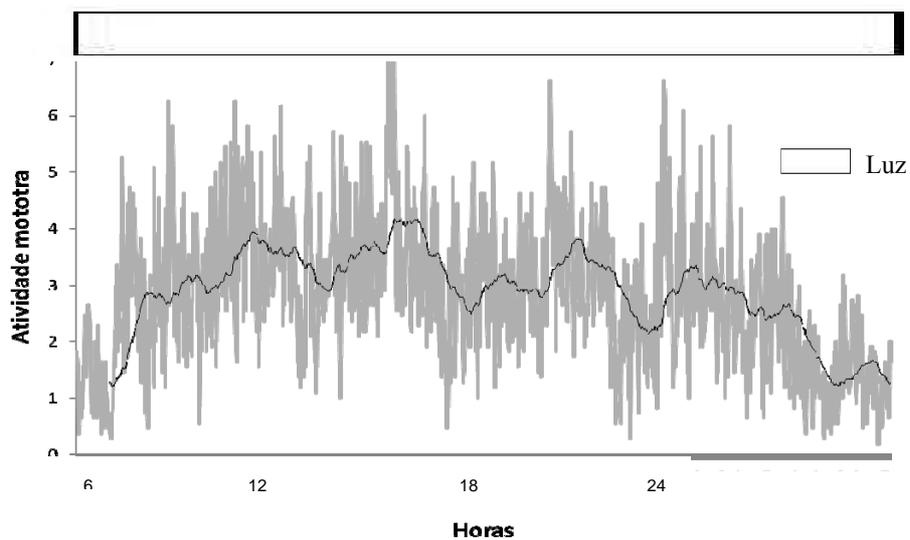


Gráfico 1 Atividade locomotora diária de lambari, *Astyanax bimaculatus*, a um fotoperíodo de 24L: 0E.

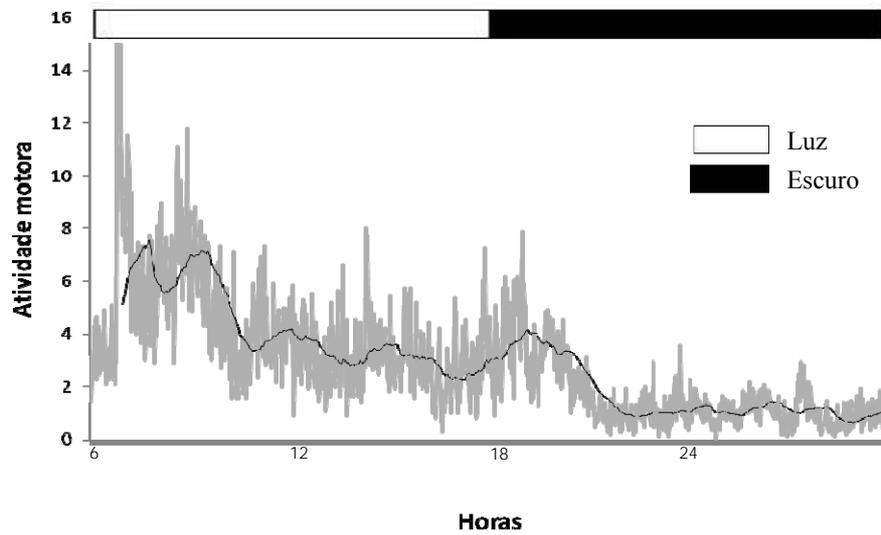


Gráfico 2 Atividade Locomotora diária de lambari, *Astyanax bimaculatus*, a um fotoperíodo de 12L:12E.

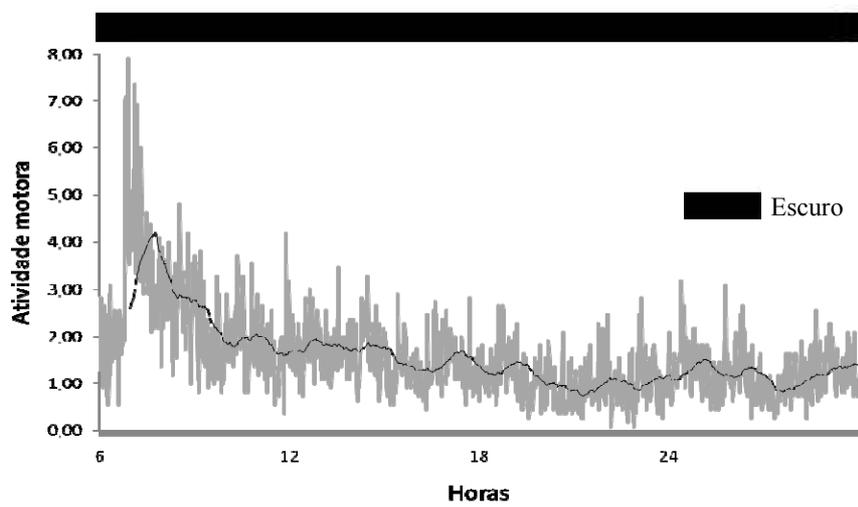


Gráfico 3 Atividade locomotora diária de lambari, *Astyanax bimaculatus*, a um fotoperíodo de 0L: 24E.

Este aumento da atividade locomotora em períodos longos de luz pode ser justificado pelos maiores níveis de cortisol ($p < 0,05$) nos tratamentos 24L:0E (148,850 ng/mL) e 12L:12E (190,000 ng/mL) e maior agressividade (feridas e no corpo) destes peixes em relação ao tratamento 0L:24E (85,570 ng/mL) (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com Leonardi e Klempau (2003), ao demonstrarem que o fotoperíodo artificial 24L:0E induziu uma resposta ao estresse em truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, com significativa elevação dos níveis plasmáticos de cortisol após dois meses de experimento.

Além disso, a manipulação do fotoperíodo pode afetar a síntese e liberação de outros hormônios como melatonina, hormônio da glândula pineal, liberado em maior quantidade em baixa intensidade luminosa ou durante a ausência de luz (EKSTRÖM; MEISSEL, 1997; BAYARRI; MADRID; SANCHEZ-VAZQUEZ, 2002). Munro (1986) observou no ciclídeo *Aequidens pulcher*, o papel deste hormônio na redução de respostas agressivas. Somado a isso, interações entre cortisol e melatonina têm sido demonstradas em algumas espécies de peixes (LARSON et al., 2004). Algumas pesquisas observaram que tratamentos com níveis elevados de cortisol diminuem a produção de melatonina pela provável inibição na atividade da “arylalkylamine N-acetyltransferase” (AANAT), enzima importante na biossíntese de melatonina na glândula pineal de peixes (BENYASSI et al., 2001; YANTHAN; GUPTA, 2007; NIKAIDO et al., 2010). Assim, os níveis elevados de cortisol nos tratamentos de 24L: 0E e 12L: 12E podem ter diminuído a síntese de melatonina e consequentemente aumentado a agressividade dos peixes.

No presente estudo, o lambari, espécie nativa de região tropical, cujo fotoperíodo permanece estável em 12L:12E (FÁLCON et al., 2010), apresentou um ritmo de atividade diurna durante a manipulação artificial do regime de luz de seu habitat natural (Figura 2), ou seja durante a fase de luz a atividade locomotora do lambari foi de 4,254/min enquanto que na fase escura foi de

1,581/min. Esta preferência para estar ativo em determinadas horas do dia parece ser específica de cada espécie e pode estar associada com uma herança genética ou com adaptações aos habitats (disponibilidade de alimento, predação, etc.) ou depender de fatores sensoriais (dependência da visão para a captura de alimento) (OLIVEIRA et al., 2009). Outras espécies como o zebrafish, *Danio rerio*, apresentam uma atividade marcadamente diurna, permanecendo praticamente inativo no período da noite (BLANCO-VIVES; SANCHEZ-VÁZQUEZ, 2009). Em condições de laboratório com fotoperíodo artificial de 12L:12E, *Solea senegalensis* mostrou ritmo de atividade noturna (BAYARRI; MADRID; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2002).

Anterior ao primeiro período alimentar foi verificado um pico de atividade tanto nos peixes submetidos ao tratamento 12L:12E (Figura 2) quanto sob escuridão constante (Figura 3). Provavelmente, isto se deve ao comportamento antecipatório dos peixes em relação à percepção antecipada do momento da alimentação. Estas características cognitivas são denominadas, de acordo com Chandroo, Duncan e Moccia (2004), de representações declarativas, que implicam a atenção seletiva a estímulos, a capacidade de antecipar e possuir expectativas e o direcionamento flexível e integrado das respostas comportamentais. Segundo Galhardo e Oliveira (2006), a formação de representações mentais declarativas é um pré-requisito para a existência de consciência (consciência de sensações e sentimentos) e tem vindo a ser descrita em peixes em contextos de interação social, memória espacial e aprendizagem. Mattioli et al. (1997) sugerem que a substância P (neuropeptídeo implicado em algumas formas de plasticidade neuronal) estimula a memória e a aprendizagem de peixes-vermelhos (*Carassius auratus*) no contexto de tarefas envolvendo motivação específica (fome).

Tabela 1 Concentração plasmática de glicose, cortisol e taxa de sobrevivência de fêmeas de lambaris em função do fotoperíodo.

Tratamento	24L:0E	12L:12E	0L:24E
Glicose (mg/dL)	32,16 ^b ± 22,73	65,18 ^a ± 28,00	51,84 ^a ± 20,48
Cortisol (ng/mL)	148,85 ^a ± 32,77	190,000 ^a ± 37,73	85,57 ^b ± 7,97
Taxa de Sobrevivência %	30,00 ^b ± 7,07	30,00 ^b ± 7,07	72,50 ^a ± 4,33

Médias na mesma linha com diferentes sobrescritos são significantemente diferentes segundo teste SNK ($p < 0,05$). Média ± EPM.

A maior luminosidade nos tratamentos 24L:0E e 12L:12E seguida de aumento da atividade natatória e agressividade, justificam a baixa taxa de sobrevivência (30,0%) dos lambaris submetidos a esses regimes de luz em relação ao tratamento 0L:24E (72,5%) (Tabela 1). Segundo Almazán-Rueda, Schrama e Verreth (2004), um aumento da atividade natatória pode levar a uma maior probabilidade de encontros entre os peixes e com isso maior susceptibilidade de um peixe atacar um ao outro.

Vários autores abordam essa relação negativa de períodos longos de luz com baixa sobrevivência dos peixes. Almazán-Rueda et al. (2005) observaram diminuição da taxa de sobrevivência em *Clarias gariepinus*, submetido a 24 horas de luz. Este fato também foi observado em juvenis de *Scophthalmus maximus* por Imsland, Folkvord e Steffansson (1995). Sigholt et al. (1995) também observaram baixa sobrevivência de salmão-do-atlântico (*Salmo salar*), na fase inicial de vida e quando submetido à luz contínua. Outras pesquisas observaram altas taxas de sobrevivência de larvas de trairão (*Hoplias lacerdae*) mantidas em baixa intensidade luminosa e em regime de escuridão total (LUZ; PORTELLA, 2002). No entanto, no estudo de Reynalte-Tataje et al. (2002) com pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* foi verificado maior valor de sobrevivência no tratamento com 24 horas de luminosidade, e menor valor no tratamento com 24 horas em escuridão.

Após os 40 dias de experimento, não foram observados diferenças significativas ($p < 0,05$) no peso final entre os tratamentos, porém o comprimento total foi significativamente ($p < 0,05$) menor nas fêmeas de lambaris submetidos ao regime de luz contínua (24L: 0E) (Tabela 2). Ao contrário destes resultados, diversos estudos com peixes abordam uma relação positiva entre exposição à luz contínua, peso corporal, crescimento somático e ingestão alimentar. Esta relação foi observada em salmão do Atlântico (OPPEDAL et al., 1997) em bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua* (TARANGER et al., 2006; HANSEN et al., 2001), em *Melanogrammus aeglefinus* (DAVIE et al., 2007) e *Pagrus major* (BISWAS et al., 2010), *Oplegnathus fasciatus* (BISWAS et al., 2008a) e *Sparus aurata* (GINÉS et al., 2004). Entretanto, a manipulação do fotoperíodo não influenciou o comprimento total e peso corporal de *Verasper moseri* (AMANO et al., 2004) e *Oreochromis niloticus* (CAMPOS-MENDOZA et al., 2004).

Tabela 2 Peso final (g), comprimento total (cm) de fêmeas de lambaris em função do fotoperíodo.

Tratamento	24L:0E	12L:12E	0L:24E
Peso final (g)	6,47 ^a	7,01 ^a	6,74 ^a
Comprimento total (cm)	7,05 ^b	8,10 ^a	7,88 ^a

Médias na mesma linha com diferentes sobrescritos são significativamente diferentes segundo teste SNK ($P < 0,05$).

Além disso, os lambaris submetidos a 24L:0E apresentaram, significativamente ($p < 0,05$), menores níveis de glicose (Tabela 1) em relação aos outros tratamentos. Provavelmente, a intensa atividade natatória durante todo o período de luz contínua levou a uma maior exaustão dos peixes, seguido de maior demanda energética e quebra de glicose em lactato pelo processo de glicólise anaeróbica no músculo branco a fim de atender as atividades motoras e não os processos de crescimento. Acrescido a isso, a redução significativa dos

níveis de glicose no fotoperíodo de 24L:0E pode ser justificado pela provável redução nas concentrações de melatonina. Segundo Soengas et al. (1998) este hormônio possui um efeito antiinsulínico, inibindo o uso exógeno de glicose.

4.2 Experimento II: Efeito de diferentes fotoperíodos nos níveis plasmáticos de LH e na maturação gonadal de fêmeas de lambari (*Astyanax bimaculatus*)

Durante o período experimental, valores médios obtidos de temperatura média de $28,67 \pm 0,73$; $6,65 \pm 0,68$ para pH; $5,23 \pm 0,85$ mg/L para oxigênio dissolvido, estiveram dentro das faixas consideradas aceitáveis para o cultivo de peixes (YOSHIMI et al., 2006).

Tabela 1 Peso final (g), Peso da gônada (g), peso do fígado (g), índice gonadossomático, índice hepatossomático (IHS) e hormônio luteinizante (LH) em fêmeas de lambaris em função do fotoperíodo.

Tratamento	24L:0E	12L:12E	0L:24E
Peso final (g)	$6,47^a \pm 1,74$	$7,01^a \pm 1,28$	$6,74^a \pm 1,78$
Peso da gônada (g)	$0,82^a \pm 0,42$	$0,86^a \pm 0,18$	$0,72^a \pm 0,50$
Peso fígado (g)	$0,03^a \pm 0,02$	$0,05^a \pm 0,01$	$0,03^a \pm 0,02$
IGS	$12,71^a \pm 6,91$	$11,62^a \pm 2,30$	$10,83^a \pm 4,84$
IHS	$0,56^a \pm 0,24$	$0,72^a \pm 0,22$	$0,56^a \pm 0,29$
Hormônio Luteinizante-LH (mIU/ml)	$9,83^a \pm 1,64$	$13,90^a \pm 1,63$	$10,00^a \pm 4,65$

Médias na mesma linha com diferentes sobrescritos são significativamente diferentes segundo teste SNK ($p < 0,05$). Média \pm EPM.

No presente estudo, as fêmeas de lambaris sob diferentes fotoperíodos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) no peso de gônada e índice gonadossomático (Tabela 1). Contrapondo estes resultados, diversos estudos apontam à interferência do fotoperíodo diante estas variáveis reprodutivas quantitativas. Fotoperíodos longos como regimes de luz contínua tendem a

promover uma supressão da maturação gonadal e redirecionamento da energia alimentar do desenvolvimento gonadal para o crescimento somático (BOEUF; LE BAIL, 1999; GINÉS et al., 2004). Rad et al. (2006) observaram que alevinos de tilápia do Nilo, mantidos sob luz contínua, apresentaram sua maturação gonadal reduzida e menores valores de IGS, seguido de maior crescimento somático. Em salmonídeos e peixes de clima temperado submetidos à fotoperíodos longos ou de luz contínua, também se observou atraso no desenvolvimento e maturação gonadal associado aos menores valores de IGS (KISSIL et al., 2001; UNWIN et al., 2005; DAVIE et al., 2007, TARANGER et al., 2006). Milla et al. (2009) observaram menores valores de IGS em *Perca fluviatilis* mantidas a condições constantes de fotoperíodo (12L:12E) durante 3 meses. No entanto, Miranda, Strussmann e Somoza (2009), observaram que fêmeas de *Odontesthes bonariensis* sob fotoperíodo curto (8L:16E) apresentaram menor valor de IGS em relação aos peixes expostos a fotoperíodo longo (16L:8E).

A manipulação do fotoperíodo também não influenciou significativamente ($p > 0,05$) nos níveis plasmáticos de LH das fêmeas de lambari (Tabela 1). Fiszbein et al. (2010) também não observaram diferenças significativas no conteúdo de β -LH, em fêmeas de *Cichlasoma dimerus*, ao contrário dos machos que apresentaram menores níveis destes hormônios sob fotoperíodo curto (8L:16E). No estudo de Skjaeraase et al. (2004) com bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua* L.) foi verificado que machos e fêmeas expostos a fotoperíodos curtos (8L:16E) aumentaram mais rapidamente os níveis de esteróides e apresentaram um início mais precoce do processo de maturação em relação a 18L:6E. No entanto, Miranda, Strussmann e Somoza (2009), observaram que fêmeas de *Odontesthes bonariensis* sob fotoperíodo longo tiveram um aumento significativo na expressão de GnRH, FSH- β , LH- β e nos níveis plasmáticos de estradiol. Borg et al. (1987) também observaram que a área de dilatação das

cisternas do retículo endoplasmático granuloso (REG) foi maior nas células gonadotróficas hipofisárias de *Gasterosteus aculeatus* sob fotoperíodo longo (16L:8E), indicando uma maior atividade secretória de β -LH neste regime de luz.

O papel fisiológico do LH em peixes teleósteos ainda não está bem esclarecido (MIRANDA; STRUSSMANN; SOMOZA, 2009). Segundo Baldisserotto (2002), o LH é importante para a maturação final dos ovócitos e desova. Nas fêmeas, o LH parece estimular a produção da substância indutora da maturação de ovócitos, a $17\alpha,20\beta$ -P, nas células dos folículos ovarianos (BALDISSEROTTO, 2002). Alguns autores tem reportado, em peixes não salmonídeos, uma correlação entre aumento da transcrição de RNAm do β -LH e os valores de IGS associado aos estágios finais de maturação ovocitária. (KAJIMURA et al. 2001). Em truta arco-íris, por exemplo, os níveis de LH aumentaram ao final da maturação e espermiacão de ambos os sexos (PRAT; SUMPTER, TYLER, 1996; GÓMEZ et al. 1999).

Ao final do experimento, também não foi verificado diferença significativa no IHS ($p>0,05$) das fêmeas de lambaris sob os diferentes tratamentos, o que sugeri que a manipulação do fotoperíodo, provavelmente, não influenciou no gasto energético destinado ao desenvolvimento gonadal (Tabela 1). No entanto, no estudo de Taranger et al. (2006) machos e fêmeas de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) sob regime de luz contínua (LL) apresentaram maiores valores de IHS em relação ao regime de luz natural (LN), indicando que o grupo de LL investiu menos energia para a reprodução. Ribeiro et al. (2006) também constataram em *Steindachnerina insculpta* (Characiforme: Curimatidae) diferenças no IHS, que diminuiu da fase de repouso para a fase de maturação. O IHS reflete o possível papel de substâncias hepáticas na maturação gonadal, principalmente no período de formação dos glóbulos de vitelo, o que é sugerido pela redução brusca nos valores de IHS de fêmeas em maturação avançada, que

comprova a transferência de substâncias hepáticas para o ovário (RIBEIRO et al., 2006). A análise ultra-estrutural de hepatócitos de fêmeas de *Steindachnerina insculpta* conduzida por RIBEIRO et al. (2006), mostrou que quando os valores de IHS eram mais elevados, a quantidade de retículo endoplasmático rugoso e liso eram maiores, possuíam pouco glicogênio e quantidade abundante de mitocôndrias eletro-densas. O aumento do IHS e da quantidade de organelas citoplasmáticas é devido ao aumento da síntese de vitelogenina para a formação de ovócitos em vitelogênese.

As análises macroscópicas dos ovários de *Astyanax bimaculatus*, mostraram que as gônadas apresentaram os mesmos padrões descritos para a maioria dos teleósteos (MARCON, 2008). Foi observada, em todos os tratamentos, a presença de órgãos pares, alongados, foliáceos, além de espessos e volumosos, conforme também verificado em outras espécies do gênero (DRUMMOND, 1996; MIRANDA, 1996; MELO et al., 2005; MAZZONI; MENDONÇA; CARAMASCHI, 2005; RODRIGUES; QUEROL; BRACCINI, 2005). Acrescido a estes resultados, na análise de microscopia das gônadas observou-se um dinamismo no processo de ovogênese conforme descrito por Bazzoli e Rizzo (1990).

No lambari, o tipo de desenvolvimento ovocitário é assincrônico, com a presença de ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento (MARCON, 2008). Todos os tratamentos do presente estudo apresentaram o mesmo padrão de distribuição e desenvolvimento dos ovócitos (Figura 1), ou seja, as fêmeas de lambaris expostas aos diferentes regimes de fotoperíodos, apresentaram uma assincronia no processo de maturação ovocitária, com predomínio de ovócitos vitelogênicos, caracterizado pelo surgimento e acúmulo de glóbulos de vitelo, em relação aos ovócitos jovens e pré-vitelogênicos, o que caracterizaram a presença de fêmeas com ovários em maturação, conforme descrito por Melo et

al. (2005). A presença de um mesmo estágio gonadal entre os diversos tratamentos confirma as semelhanças encontradas tanto nos níveis de LH, IGS e IHS (Tabela 1) dos animais dos diferentes fotoperíodos, uma vez que são variáveis correlacionadas e que se alteram dependendo da fase de maturação. Ao contrário dos resultados do presente estudo, Milla et al. (2009), ao exporem *Perca fluviatilis* a condições fototérmicas constantes (20–22°C, 12L:12E) observaram um atraso na ovogênese associado a ausência de ovócitos vitelogênicos, além de baixos níveis circulantes de esteróides sexuais. Miranda, Strussmann e Somoza (2009), também verificaram em *Odontesthes bonariensis* expostos ao fotoperíodo de 16L: 8E, ovários com predomínio de ovócitos vitelogênicos. Rad et al. (2006), observaram um menor desenvolvimento gonadal, associado a menor quantidade de ovócitos vitelogênicos em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) submetidas ao regime de 24L: 0E.

Logo, a maioria dos estudos envolvendo fotoperíodo e reprodução de peixes aponta uma relação entre o fotoperíodo e o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, refletido por alterações na ovogênese e modificações nos níveis de hormônios hipofisários e esteróides ligados à reprodução. No entanto, no presente estudo os padrões fisiológicos deste eixo reprodutivo seguiu a mesma tendência em todos os tratamentos, independente do fotoperíodo. Nenhum regime de fotoperíodo foi capaz de estimular ou mesmo inibir as variáveis reprodutivas do presente estudo e a maturação ovariana em fêmeas de lambari. Isto pode ser justificado pela pouca influência do fotoperíodo no processo de maturação desta espécie em relação a outras variáveis ambientais, ou pela utilização de animais já reprodutores associado à insuficiência no tempo de exposição dos animais aos diferentes regimes de luz.

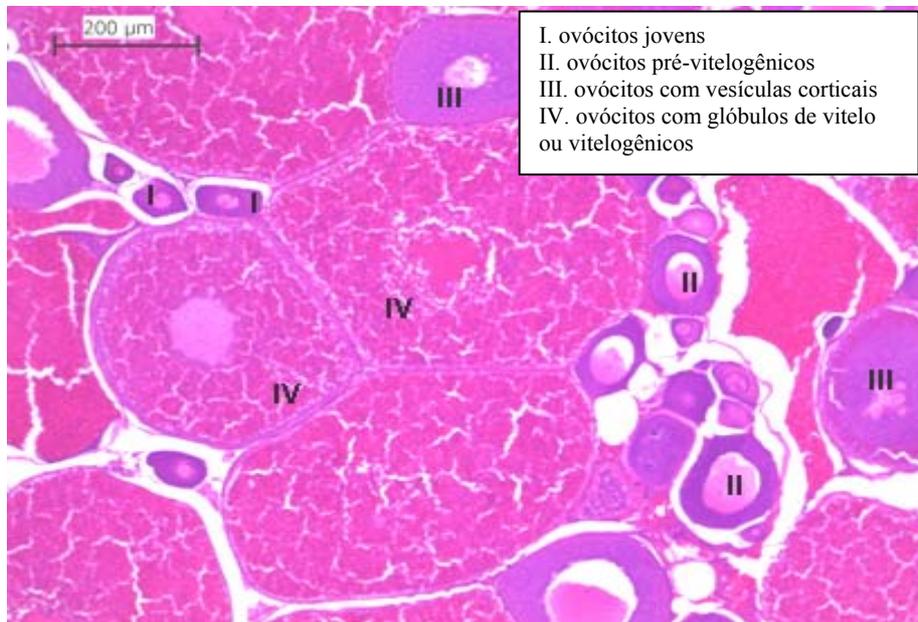


Figura 1 Fotomicrografia de ovário de lambari (*Astyanax bimaculatus*) expostos a diferentes regimes de luz (24L:0E, 12L:12E e 0L:24E). Hematoxilina-Eosina. Barra - 200μm.

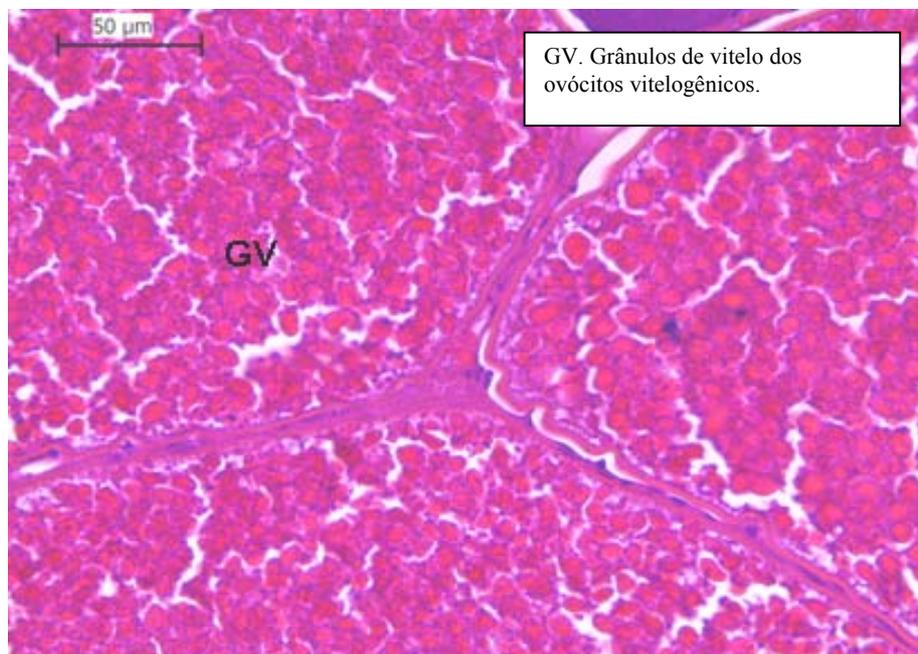


Figura 2 Fotomicrografia de ovário de lambari (*Astyanax bimaculatus*) expostos a diferentes regimes de luz (24L:0E, 12L:12E e 0L:24E). Hematoxilina-Eosina. Barra - 50 μ m.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a luz desempenha um importante papel no comportamento e bem-estar de fêmeas de lambaris. Os dados sugerem que a espécie estudada (*Astyanax bimaculatus*) apresenta um ritmo de atividade diurna e que os peixes submetidos a períodos longos de luz ficam mais agressivos em relação ao período de escuridão contínua. Além disso, a exposição de fêmeas de lambari a diferentes regimes de luz não influenciou os níveis plasmáticos do hormônio luteinizante (LH) e a maturação ovariana destes peixes.

REFERÊNCIAS

ADAMANTE, W. B. **Estresse de alevinos de dourado e mandi sob diferentes densidades e tempos de transporte**. 2005. 39 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

AGOSTINHO, A. A.; NARAHARA, M. Y.; GODINHO, H. P. Morfologia dos ovários de *Plecostomus commersonii* (Valenciennes, 1840) Osteichthyes-Loricariidae: desenvolvimento dos ovócitos e escala de maturidade. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1, p. 71-77, mar. 1982.

ALMAZÁN-RUEDA, P. et al. Photoperiod affects growth, behaviour and stress variables in *Clarias gariepinus*. **Journal of Fish Biology**, London, v. 67, n. 4, p. 1029–1039, Apr. 2004.

ALMAZÁN-RUEDA, P.; SCHRAMA, J. W.; VERRETH, J. A. J. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1/4, p. 347– 359, Mar. 2005.

AMANO, M. et al. Effects of photoperiod on gonadotropin-releasing hormone levels in the brain and pituitary of underyearling male barfin flounder. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 70, n. 5, p. 812–818, Oct. 2004.

AMANO, M. et al. Roles of melatonin in gonadal maturation of underyearling precocious male *Masu salmon*. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 120, n. 2, p. 190–197, Nov. 2000.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002. 212 p.

BANI, A. et al. Effects of different photoperiods on growth, stress and haematological parameters in juvenile great sturgeon *Huso huso*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 16, p. 1899-1907, Nov. 2009.

BAYARRI, M. J. et al. Daily locomotor activity and melatonin rhythms in Senegal sole (*Solea senegalensis*). **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 81, n. 4, p. 577– 583, June 2004a.

BAYARRI, M. J. et al. Effect of photoperiod manipulation on the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v.136, n. 1, p. 72–81, Mar. 2004b.

BAYARRI, M. J.; MADRID, J. A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. **Journal of Pineal Research**, Texas, v. 32, n. 1, p. 34-40, Jan. 2002.

BAZZOLI, N.; RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in ten Brazilian teleost fish specie. **European Archivess of Biology**, New Jersey, v. 101, n. 4, p. 399-410, Aug. 1990.

BENYASSI, A. et al. Glucocorticoid receptors and serotonin N-acetyltransferase activity in the fish pineal organ. **Neuroreport**, London, v.12, n. 5, p. 889–892, Apr. 2001.

BEZERRA, K. S. et al. Crescimento e sobrevivência da tilápia chitralada submetida a diferentes fotoperíodos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 6, p. 737-743, jun. 2008.

BISWAS, A. et al. Growth performance and physiological responses in striped knifejaw, *Oplegnathus fasciatus*, held under different photoperiods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 279, n. 1-4, p. 42–46, July 2008a.

BISWAS, A. et al. Reproduction, growth and stress response in adult red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel) exposed to different photoperiods at spawning season. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 519-527, Feb. 2010.

BISWAS, A. et al. Stimulation of growth performance without causing stress response in young red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel), by photoperiod manipulation. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 457-463, Mar. 2008b.

BISWAS, A. et al. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 252, n. 2-4, p. 566– 572, Mar. 2006.

BISWAS, A.K.; TAKEUCHI, T. Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed adult tilapia *Oreochromis niloticus*: Part II. **Fisheries Science**, Tokyo, v.68, n.3, p.543-553, June 2002.

BLANCO-VIVES, B. E.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Synchronisation to light and feeding time of circadian rhythms of spawning and locomotor activity in zebrafish. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 98, n. 3, p. 268–275, Sept. 2009.

BOEUF, G.; LE BAIL, P. Y. Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, Amsterdam, v. 177, n. 1/4, p. 129-152, July 1999.

BORG, B. et al. Effects of photoperiod and temperature on testes, renal epithelium, and pituitary gonadotropic cells of the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. **Canadian Journal of Zoology**, Toronto, v. 65, n. 1, p. 14–19, Jan. 1987.

BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1-4, p. 63-98, June 2001.

CAMPOS-MENDOZA, A. et al. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1/4, p. 299–314, Mar. 2004.

CERDÁ-REVERTER, J. M. et al. Time-course studies on plasma glucose, insulin, and cortisol in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) held under different photoperiodic regimes. **Physiology and Behavior**, Elmsford, v. 64, n. 3, p. 245-250. June 1998.

CHANDROO, K. P.; DUNCAN, I. J. H.; MOCCIA, R. D. Can fish suffer?: Perspectives on sentience, pain, fear and stress. **Applied Animal Behaviour Science**, Sweden, v. 86, n. 3/4, p. 225-250, June 2004.

CRUZ, E. M. V.; BROWN, C. L. Influence of the photoperiod on growth rate and insulin-like growth factor-I gene expression in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Journal of Fish Biology**, London, v. 75, n. 1, p. 130-141, July 2009.

DAVIE, A. et al. Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 270, n. 1/4, p. 379–389, Sept. 2007.

DEY, R.; BHATTACHARYA, B. E.; MAITRA, S. K. Importance of Photoperiods in the Regulation of Ovarian Activities in Indian Major Carp *Catla catla* in an Annual Cycle. **Journal of Biological Rhythms**, New York, v. 20, n. 2, p. 145-158, Apr. 2005.

DRUMMOND, C. D. **Folículo pós-ovulatório de lambari *Astyanax bimaculatus lacustris* (Pisces, Characidae) submetido à desova induzida: estudo histológico e ultra-estrutural**. 1993. 123 p. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

EL-SAYED, A. M. E.; KAWANNA, M. Effects of photoperiod on growth and spawning efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) broodstock in a recycling system. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 38, n. 12, p. 1242-1247, Sept. 2007.

ENDAL, H.P. et al. Effects of continuous additional light on growth and sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*, reared in sea cages. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 191, n. 4, p. 337-349, Dec. 2000.

EKSTRÖM, P.; MEISSL, H. The pineal organ of teleost fishes. **Review in Fish and Fisheries**, New York, v. 7, n. 2, p. 199-284, June 1997.

FÁLCON, J. et al. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 165, n. 3, p. 469-482, Feb. 2010.

FERNANDES, C. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Cytogenetic studies in two populations of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes). **Hereditas**, Lund, v. 141, n. 3, p. 328-332, Dec. 2004.

FISZBEIN, A. et al. Photoperiodic modulation of reproductive physiology and behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 99, n. 4, p. 425-432, Mar. 2010.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem-estar Animal: um Conceito Legítimo para Peixes? **Revista de Etologia**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 51-61, ago. 2006.

GINÉS, R. et al. The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 35, n. 13, p. 1207-1212. Nov. 2004.

GÓMEZ, J. M. et al. Growth hormone (GH) and gonadotropin subunit gene expression and pituitary and plasma changes during spermatogenesis and oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 113, n. 3, p. 413–428, Mar. 1999.

HANSEN, T. et al. Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus Morhua*) reared under different photoperiods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 203, n. 1/3, p. 51–67, Nov. 2001.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: IDRC, 1993. 144 p.

HELLQVIST, A. et al. Cloning and sequencing of the FSH-b and LH b-subunit in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, and effects of photoperiod and temperature on LH-b and FSH-b mRNA expression. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 135, n. 2, p. 167–174, Jan. 2004.

IMSLAND, A. K. et al. Growth, feed conversion efficiency and growth heterogeneity in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at three different photoperiods. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 37, n. 11, p. 1099–1106, Aug. 2006.

IMSLAND, A. K. et al. Long-term effect of photoperiod manipulation on growth, maturation and flesh quality in Atlantic halibut. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 11, p. 1260–1269, July 2009.

IMSLAND, A.K. et al. Plasma insulin-like growth factor-I concentrations and growth in juvenile halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effects of photoperiods and feeding regimes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 151, n. 1, p. 66–70, Sept. 2008.

IMSLAND, A. K.; FOLKVORD, A. F.; STEFFANSSON, S. O. Growth, oxygen consumption and activity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared under different temperatures and photoperiods. **Netherlands Journal of Sea Research**, Den Burg, v. 34, n. 1/3, p. 149–159, Nov. 1995.

IMSLAND, A. K.; JONASSEN, T. M. The relation between age at first maturity and growth in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at four different light regimes. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 1–7, Jan. 2005.

JOHNSTON, I. A. et al. Growth performance, muscle structure and flesh quality in out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts reared under two different photoperiod regimes. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, n. 1/4, p. 281–300, Aug. 2004.

KAJIMURA, S. et al. cDNA cloning of two gonadotropin b subunits (GTH-Ib and -IIb) and their expression profiles during gametogenesis in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 122, n. 2, p. 117–129, May 2001.

KISSIL, G.W. et al. Long photoperiod delayed spawning and increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 200, n. 3/4, p. 363–379, Sept. 2001.

LARSON, E. T. et al. Social stress affects circulating melatonin levels in rainbow trout. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 136, n. 3, p. 322–327, May 2004.

LEONARDI, M.; KLEMPAU, A. Artificial photoperiod influence on the immunesystem of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the southern hemisphere. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 221, n. 1/4, p. 581-591, May 2003.

LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C. Larvicultura de trairão (*Hoplias lacerdae*) em água doce e água salinizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 829-834, abr. 2002. Suplemento 0.

MARCON, L. **Morfologia ovariana no lambari *Astyanax bimaculatus* sob efeito do hormônio de crescimento**. 2008. 77 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

MARTINEZ-CHAVEZ, C.C. et al. Clock controlled endogenous melatonin rhythms in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). **Chronobiology International**, New York, v. 25, n.1, p. 31–49, Jan. 2008.

MATTIOLI, R. et al. Substance P facilitates memory in goldfish in an appetitively motivated learning task. **Behavioural Brain Research**, Düsseldorf, v. 85, n. 1, p. 117-120, Apr. 1997.

MAZZONI, R.; MENDONÇA, R. S.; CARAMASCHI, E. P. Reproductive biology of *Astyanax janaeiroensis* (Osteichthyes, Characidae) from the Ubatiba River, Maricá, RJ, Brasil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 65, n. 4, p. 643-649, Nov. 2005.

MELO, F. C. S. A. et al. Biologia reprodutiva de fêmeas de lambari-prata (*Astyanax scabripinnis*) (Characidae, Tetragonopterinae) em tanques de piscicultura. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 52, n. 304, p. 811-829, nov./dez. 2005.

MENDONÇA, P. P. et al. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma Macropomum*). **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 223, p.323-331, Sept. 2009.

MIGAUD, H. et al. Influence of photoperiod regimes on the Eurasian perch gonadogenesis and spawning. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 28, n. 1/4, p. 395–397, Mar. 2003.

MILLA, S. et al. Ovarian steroidogenesis inhibition by constant photothermal conditions is caused by a lack of gonadotropin stimulation in Eurasian perch. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 163, n. 3, p. 242–250, Sept. 2009.

MIRANDA, A. C. L. **Reprodução de *Astyanax bimaculatus lacustris* em viveiros e estudo histológico e ultra-estrutural de atresia folicular de *A. bimaculatus lacustris* e *Leporinus reinhardti* em gaiola de aqüicultura.** 1996. 138 p. Dissertação (Mestrado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

MIRANDA, L.A.; STRÜSSMANN, C. A. E SOMOZA, G.M. Effects of light and temperature conditions on the expression of GnRH and GtH genes and levels of plasma steroids in *Odontesthes bonariensis* females. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 101–108, Mar. 2009.

MUNRO, A. D. Effects of melatonin, serotonin, and naloxone on aggression in isolated cichlid fish (*Aequidens pulcher*). **Journal of Pineal Research**, Texas, v. 3, n. 3, p. 257–262, July 1986.

NIKAIDO, Y. et al. Effect of cortisol on melatonin production by the pineal organ of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology**, New York, v. 155, n. 1, p. 84-90, Jan. 2010.

OLIVEIRA, C. et al. Daily and circadian melatonin release *in vitro* by the pineal organ of two nocturnal teleost species: Senegal sole (*Solea senegalensis*) and tench (*Tinca tinca*). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A. Molecular and Integrative Physiology**, New York, v. 153, n. 3, p. 297-302, July 2009.

OPPEDAL, F. et al. Light intensity affects growth and sexual maturation of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolts in sea cages. **Aquatic Living Resources**, Les Ulis, v. 10, n. 6, p. 351-357, Nov./Dec. 1997.

PICKERING, A. D. Growth and stress in fish production. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 111, n. 1/4, p. 51-63, Apr. 1993.

POTTINGER, T.G.; YEOMANS, W. E.; CARRICK, T. R. Plasma cortisol and 17 β -oestradiol levels in roach exposed to acute en chronic stress. **Journal of Fish Biology**, London, v.54, n.3, p.525-532, Sept. 1999.

PRAT, F.; SUMPTER, J. P.; TYLER, C. R. Validation of radioimmunoassay for two salmon gonadotropins (GTH-I and GTH-II) and their plasma concentrations throughout the reproductive cycle in male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Biology of Reproduction**, New York, v. 54, n. 6, p. 1375–1382, June 1996.

RAD, F. et al. Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 255, n. 1/4, p. 292–300, May 2006.

REYNALTE-TATAJE, D. et al. Influência do fotoperíodo no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 439-443, fev. 2002.

REZENDE F. P. et al. Eficiência de diferentes substratos na desova de lambari Tambiú *Astyanax bimaculatus* L. 1758. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 52, n. 302, p. 527-533, fev. 2005.

RIBEIRO, V. M. A. et al. Ultrastructural changes in female hepatocytes during ovarian maturation of *Steindachnerina insculpta* (Pisces: Curimatidae). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 66, n. 4, p. 957-962, Nov. 2006.

RODRIGUES, L. P.; QUEROL, E.; BRACCINI, M. C. Descrição morfo-histológica do ovário de *Acestrorhynchus pantaneiro* (Menezes, 1992) (Teleostei, Characidae), em seus diferentes estádios de desenvolvimento, na bacia do rio Uruguai médio, Uruguaiana, RS. **Biodiversidade Pampeana**, Uruguaiana, v. 3, n.4, p. 11-18, dez. 2005.

RODRIGUEZ, A.; CASTELLO –ORVAY, F. E.; GISBERT, E. Somatic growth, survival, feed utilization and starvation in European elver *Anguilla anguilla* (Linnaeus) under two different photoperiods. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 5, p. 551-557, Mar. 2009.

SATO, Y. et al. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 267-273, mar. 2006.

SIGHOLT, T. et al. Effects of continuous light and short-day photoperiod on smolting, seawater survival and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 130, n. 4, p. 373-388, Mar. 1995.

SILVA, J. V; ANDRADE, D. R.; OKANO, W. Y. Desenvolvimento sexual e crescimento de lambaris – tambiú, *Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 submetidos a diferentes tipos de alimentação. **Arquivo de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, p. 47-54, 1996. Supplement 1.

SKJAERAASEN, J.E. et al. The effect of photoperiod on sexual maturation, appetite and growth in wild Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 163–174, June 2004.

SOENGAS, J. L. et al. Dose-dependent effects of acute melatonin treatments on brain carbohydrate metabolism of rainbow trout. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 18, n. 4, p. 311–319, June 1998.

STRANGE, R.; SCHRECK, C. B.; GOLDEN, J. T. Corticoid stress responses to handling and temperature in salmonids. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 106, n. 3, p. 213-218, May 1977.

TARANGER, G. L. et al. Continuous light delays sexual maturation and increases growth of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in sea cages. **Journal of Marine Science**, Oxford, v. 63, n. 2, p. 365-375, Mar. 2006.

TAYLOR, J. F. et al. Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 142, n. 1/2, p. 169–185, May 2005.

TAYLOR, J.; MIGAUD, H. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, n. 13, p. 1551-1558, Sept. 2009.

UNWIN, M.J. et al. Suppression of maturation in 2-year-old Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared under continuous photoperiod. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 246, n. 1/4, p. 239 - 250, May 2005.

VAZ, M.M.; TORQUATO, V. C.; BARBOSA, N. D. C. **Guia ilustrado de peixes da Bacia do Rio Grande**. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC, 2000. 144p.

VILELA, C.; HAYASHI, C. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n.2, p.491-496, mar. 2001.

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 77, p. 591-625, July 1997.

YANTHAN, L.; GUPTA, B.B. In vitro effects of steroid hormones on arylalkylamine N-acetyltransferase (AA-NAT) activity in the pineal of fish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) during different phases of breeding cycle. **Indian Journal Experimental Biology**, New Delhi, v. 45, n. 8, p. 676–682, Aug. 2007.

YOKOTA, T.; OISHI, T. Seasonal change in the locomotor activity rhythm of the medaka, *Oryzias latipes*. **International Journal Biometeorology**, New York, v. 36, n. 1, p. 39-44, Mar. 1992.

YOSHIMI, S. et al. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécie de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 267-273, mar. 2006.

ZIV, L. et al. Functional development of the zebrafish pineal gland: light-induced expression of period 2 is required for onset of the circadian clock. **Journal Neuroendocrinology**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 314–320, May 2005.