

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Efeito da coloração do ambiente sobre o comportamento e  
aprendizado de tilápia do Nilo

Isabela Fernanda Araújo Torres

Belo Horizonte

Escola de Veterinária – UFMG

2017

ISABELA FERNANDA ARAÚJO TORRES

Efeito da coloração do ambiente sobre o comportamento e  
aprendizado de tilápia do Nilo

Dissertação apresentada à UFMG  
como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre em  
Zootecnia.

Área: Produção Animal/Aquacultura

Orientador: Ronald Kennedy Luz

Co-orientadora: Flávia O. Mesquita

Belo Horizonte

Escola de Veterinária – UFMG

2017

“Os instintos são formas típicas de comportamento e todas as vezes que nos deparamos com formas de reação que se repetem de maneira uniforme e regular, trata-se de um instinto, quer esteja associado a um motivo consciente ou não.”

- Carl Jung

## DEDICATÓRIA

Àqueles que sempre estiveram  
verdadeiramente ao meu lado, me  
apoiando.

## **Agradecimentos**

Ao professor Dr. Ronald Kennedy Luz, pela orientação e dedicação;

À minha co-orientadora Flavia Mesquita por toda ajuda e carinho;

Aos queridos colegas de laboratório Angélica Ferreira e Walisson Silva por toda ajuda e dedicação direta nos trabalhos;

Ao Danilo Bastos pela ajuda na estatística;

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado;

Ao CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro;

Muito obrigada.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1. TILÁPIA DO NILO .....	15
2.2. COR DO AMBIENTE .....	16
2.3. APRENDIZADO .....	20
2.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	29
3.1. OBJETIVO GERAL .....	29
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>4. ARTIGO</b> .....	30
4.1. RESUMO .....	30
4.2. INTRODUÇÃO .....	31
4.3. MATERIAL E MÉTODOS .....	33
4.3.1 ACLIMATAÇÃO, CARACTERÍSTICAS DO AMBIENTE E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DOS PEIXES EM AMBIENTES DE DIFERENTES CORES .....	34
4.3.2. PRIMEIRA FASE DO EXPERIMENTO – TREINAMENTO EM LABIRINTO T .....	36
4.3.3. SEGUNDA FASE DO EXPERIMENTO – TROCA DE COR DO AMBIENTE .....	38
4.4. ESTATÍSTICA .....	39
4.5. RESULTADOS .....	39
4.5.1. OBSERVAÇÕES DURANTE O PERÍODO DE ACLIMATAÇÃO .....	39
4.5.2. TESTE DE APRENDIZADO NA FASE 1 E 2 .....	42

4.5.2.1. LATÊNCIA E TROCA DE COR .....	42
4.5.2.2. ALIMENTAÇÃO E TROCA DE COR .....	45
4.5.2.3. NÚMERO DE ASSOCIAÇÕES ENTRE MARCO VISUAL E ALIMENTO.....	48
4.6. DISCUSSÃO .....	48
4.7. CONCLUSÃO .....	52
4.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53

---

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1. Tanques de aclimação revestidos com adesivos de vinil em diferentes cores .....	36
Figura 2. Labirinto em T, dividido por sessões e medidas .....	37
Figura 3. Desenho esquemático da coloração e distribuição de <i>Oreochromis niloticus</i> na coluna d'água, dentro dos tanques de aclimação durante as observações.....	40
Figura 4. Média ( $\pm$ desvio padrão) da frequência de confrontos agonísticos de <i>Oreochromis niloticus</i> em tanques azul, verde e preto. Letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	41
Figura 5. Médias ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto para <i>Oreochromis niloticus</i> saírem da zona de latência, por teste. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) em cada dia de teste... ..	42
Figura 6. Fase 1 : Média ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto para <i>Oreochromis niloticus</i> aclimatadas em ambiente (a) azul (b) preto e (c) verde, saírem da zona de latência. Fase 2 : Média ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto após a troca de cor para <i>O. niloticus</i> saírem da zona de latência. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) .....	43
Figura 7. Média ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto para tilápias concluírem a tarefa de ingerir o alimento, por dia de teste. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) em cada dia de teste... ..	45
Figura 8. Fase 1: Média ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto para <i>Oreochromis niloticus</i> aclimatadas em ambiente (a) azul (b) preto e (c) verde, se alimentarem. Fase 2: Média ( $\pm$ erro padrão) do tempo gasto após a troca de cor para <i>O. niloticus</i> se alimentarem. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) .....	46



---

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Resultado da distribuição de <i>Oreochromis niloticus</i> na coluna d'água (comparação entre coluna d'água e cor).....	40
Tabela 2. Resultado da associação entre o marco visual e o alimento na fase 1.....	48

## RESUMO

As características de um ambiente são capazes de modular a fisiologia e o comportamento dos indivíduos daquele meio. Objetivou-se investigar a influência da coloração do ambiente no comportamento e na capacidade de aprendizado de Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em labirinto T. Foram utilizadas oitenta e quatro tilápias com  $12,81 \pm 0,38$ cm e  $35,98 \pm 8,33$ g. Estas foram separadas em seis grupos com quatorze indivíduos cada e colocados em tanques azul, verde e preto e aclimatadas por 15 dias quando foram realizadas observações diárias quanto a distribuição na coluna d'água e confrontos agonísticos. Para o teste de aprendizagem, que durou mais 15 dias, foram montados três labirintos em T, correspondente a cada cor de ambiente, no qual foi avaliado o tempo para realização da tarefa de ingestão do alimento. Após este período foi realizada uma única troca de cor dos labirintos durante 5 dias consecutivos e feita a mesma avaliação do teste de aprendizado. Em tanques azuis e pretos os peixes permaneceram em sua maioria na parte superior. Em tanques verdes permaneceram distribuídos igualmente na coluna de água. Houve maior número de confrontos agonísticos em ambiente azul. Os peixes do labirinto preto precisaram de 9 dias para aprender a tarefa de sair da latência e se alimentar. Os do labirinto verde precisaram de 10 enquanto que os do labirinto azul não conseguiram aprender a tarefa. A troca de cores afetou o desempenho da tarefa aprendida pelos animais em todas as cores. O ambiente preto é o mais indicado para manutenção da espécie e testes de aprendizado espacial por garantir maior bem estar e melhor desempenho durante o teste de aprendizado. A coloração azul não é indicada uma vez que a

mesma incitou o comportamento agonístico prejudicando o bem estar do animal e interferindo no desempenho da tarefa de aprendizado.

Palavras-chave: Tilápia do Nilo, comportamento, labirinto em T, cor de ambiente.

## ABSTRACT

Environmental characteristics are capable of modulating the physiology and behavior of individuals. The objective of this study was to investigate the influence of environment color on the behavior and learning ability of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in T maze. Eighty-four tilapias with  $12.81 \pm 0.38$ cm and  $35.98 \pm 8.33$ g were used in the experiment. They were separated into six groups of fourteen individuals and placed in blue, green and black tanks and acclimatized for 15 days prior to behavioral observations. For the learning test, which lasted 15 days, three T maze were set up, one of each environment color. After the learning test, the T maze color was changed for 5 days. At the blue and black tanks, fish remained mostly at the top of the tank. At the green tank, they remained equally distributed in the water column. There were more agonistic encounters at the blue environment. Fish trained in the lack maze needed nine days to learn the task of leaving latency and feed. Those trained in the green maze needed 10 days, while individuals at the blue maze failed to learn the task. The color change affected the performance of the task learned by the animals in all colors. It can be concluded that the blue color stimulated agonistic behavior and interfered in the performance of learning tasks. The black environment was best suited for maintenance and testing of learning in Nile tilapia.

Key words: Nile tilapia, behavior, T-maze, environment color.

## 1. INTRODUÇÃO

O ambiente no qual um animal é mantido pode não ser favorável ao seu cultivo, causando estresse e desconforto e, dessa forma, não permitindo ao animal seu melhor desempenho (crescimento, ganho de peso, sobrevivência). Ambientes desfavoráveis podem até mesmo interferir em situações experimentais e mascarar respostas de testes.

Quando o contexto ambiental não permite ao indivíduo acesso a locais que garantam maior bem-estar, esse pode apresentar alterações significativas do comportamento como disfunção do desempenho alimentar, aumento da agressividade e atuações agonísticas, aumento da procura por abrigo além de interferir na capacidade de aprendizagem. Portanto, é necessário que sejam avaliadas as preferências naturais desses indivíduos afim de que o ambiente em que o animal está acondicionado seja o mais confortável possível.

A espécie *Oreochromis niloticus* foi escolhida para realização deste trabalho, uma vez que a produtividade da tilápia do Nilo vem crescendo em todo mundo, se tornando uma das principais espécies econômicas.

Dessa forma, como maneira de avaliar se o ambiente no qual a tilápia do Nilo está condicionada é favorável a sua criação e bem-estar, foi proposto nesse trabalho investigar se a coloração predominante do ambiente é capaz alterar o comportamento de tilápias do Nilo e interferir no bem-estar dos animais a ponto de afetar a capacidade cognitiva de indivíduos treinados em labirinto em T.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A revisão a seguir aborda o estudo do aprendizado, a interferência da cor do ambiente no comportamento de peixes, bem como as características da espécie que será estudada nesse trabalho.

### **2.1 Tilápia do Nilo**

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é de origem africana (Galli e Torloni, 1992), pertencente a classe Osteichthyes, ordem Perciformes e família Cichlidae (Storer e Usinger, 1991). A produção mundial de tilápia chegou a 3.670.259 toneladas em 2014, sendo os maiores produtores a China, Egito, Indonésia, Filipinas, Tailândia e o Brasil (FAO, 2014). É um dos peixes que mais se destaca no cenário da piscicultura e representa o segundo grupo de maior importância na aquicultura mundial.

O Brasil já é um dos sete maiores produtores de tilápia do mundo, com um volume de mais de 200 mil toneladas/ano. A espécie é a mais produzida no país (219 mil toneladas) seguido pela produção de tambaqui (135 mil toneladas), tambacu (37 mil toneladas) e carpa (20 mil toneladas) (IBGE, 2015).

Esse sucesso se deve ao rápido crescimento, aceitação no mercado por ter a carne branca, leve e de sabor suave (Lund e Figueira, 1989) e sua tolerância a altos níveis de amônia, baixos níveis de oxigênio (Popma e Lovshin, 1996). Além de a espécie apresentar resistência a doenças e ao superpovoamento (Boscolo et al., 2002), a tilápia ainda apresenta alta

prolificidade, maturidade sexual precoce, desova parcelada frequente e fecundidade relativa elevada (Hulata et al., 1993).

A espécie vive em ambientes bem iluminados, recebendo de sua visão um grande estímulo sensorial para a discriminação de movimentos, de formas, cores e aspectos topográficos e de profundidade (Fanta, 1995).

Durante as primeiras semanas de vida, a espécie permanece em grupo e, quando isso deixa de acontecer, passa a apresentar comportamento territorialista quando há invasão por um co-específico (Huntingford, 1986). Dessa forma, ocorre a formação hierárquica social (peixes dominantes e submissos), sendo que essa hierarquia pode gerar comportamentos agonísticos como ameaças, perseguições, agressões físicas e fugas (Moyle e Cech-Junior, 1988).

## **2.2 Cor do ambiente**

Sendo sencientes, os peixes têm a capacidade de fazer escolhas, experimentar estados semelhantes ao medo, reconhecer uns aos outros e evitar condições adversas (Huntingford et al., 2006). Na aquicultura, o bem-estar animal, que é o termo que se refere a uma boa ou satisfatória qualidade de vida que envolve determinados aspectos referentes ao animal tal como a saúde, desenvolvimento e longevidade (Tannenbaum, 1991), pode ser comprometido, dentre outros fatores, pela introdução dos animais em novos ambientes ou pela alteração do ambiente natural (Strand et al., 2007).

Quando o contexto ambiental não permite ao indivíduo acesso a locais que garantam maior bem-estar, esse pode apresentar alterações significativas do comportamento, tais como mudanças no ritmo e padrão natatório, redução ou

alteração do comportamento anti-predatório, disfunção do comportamento alimentar, aumento da procura de abrigo, redução de comportamentos agonísticos ou territoriais, aumento de agressividade e alterações da capacidade de aprendizagem (Schreck et al., 1997), podendo, essas, comprometer o bem-estar animal e, conseqüentemente, o desempenho zootécnico.

A percepção de cores por peixes é bem aceita devida presença de cones em sua retina (Fritsches et al., 2000; Spady et al., 2006). A cor pode atuar no sistema nervoso e interferir em situações experimentais e até mesmo mascarar resultados (Fanta, 1995). Além disso, a coloração predominante do ambiente pode interferir em aspectos da biologia dos animais, principalmente no que se refere ao comportamento (Soares et al., 2001), afetando diretamente a sobrevivência dos indivíduos (Juarez et al., 1987; Yasharian et al, 2005) e a ingestão de alimento como visto por Strand et al. (2007) ao trabalhar com *Perca fluviatilis*. Os autores concluíram que quando essa espécie é cultivada em tanque de fundo branco ou cinza, ocorre estímulo da ingestão de alimento, porém em fundo preto esse resultado não é visto. Dessa forma a cor do ambiente pode influenciar também no crescimento (Barcellos et al., 2009) .

A cor dos tanques também tem sido reportada como fator que afeta o equilíbrio dinâmico do organismo animal, ou seja, a homeostase como visto por Papoutsoglou et al. (2000). Os autores verificaram menor grau de estresse em carpas (*Cyprinus carpio* L.) mantidas em ambientes brancos quando comparado a ambientes verdes e preto.

Sendo assim, se um grupo de indivíduos se encontra em ambiente com coloração predominante desfavorável, esses podem sofrer influência do



estresse e, conseqüentemente, alterações fisiológicas (Rotlland et al., 2003). Esses autores ao trabalharem com “red porgy” *Pagrus pagrus*, verificaram o aumento do cortisol plasmático em indivíduos cultivados em tanques com fundo preto. Portanto, esse ambiente não é indicado para manutenção desses animais, uma vez que o mesmo foi capaz de alterar o bem estar da espécie, a ponto de induzir maior produção de cortisol.

Os resultados de crescimento, sobrevivência e comportamento forrageiro se mostraram contraditórios em alguns trabalhos, devido ao fato da influência sobre o comportamento e a fisiologia dos indivíduos, em relação à cor do ambiente, se dar de maneira espécie – específica, sendo, portanto, necessários estudos para cada espécie. Monk et al. (2008), ao trabalharem com larvas de bacalhau *Gadus morhua*, verificaram que não existe diferença na sobrevivência, crescimento e comportamento forrageiro em tanques de fundo bege ou preto. Em contrapartida larvas de arinca, *Melanogrammus aeglefinus*, mantidas em tanques escuros (com baixa intensidade luminosa) apresentaram crescimento e sobrevivência inferior àquelas cultivadas em tanque claro (Downing e Litvak, 2000). Chatain e Ounais-Guschemann (1991) relataram que para “sea bream” *Sparus aurata*, o melhor crescimento se deu em tanque branco, porém a sobrevivência foi melhor em tanque preto.

Segundo Fanta (1995), peixes como a tilápia do Nilo, que vivem em ambientes bem iluminados, recebem de sua visão um grande estímulo sensorial para a discriminação de movimentos, de formas, cores e aspectos topográficos e de profundidade. Ainda, de acordo com esse autor, as cores preta, branca, amarela e vermelha devem ser evitadas, já que causam diferentes níveis de estresse e mudança comportamental. Em contrapartida, a

cor verde não causa nenhuma interferência, sendo, portanto indicada para tanques e aquários.

Em estudo com a mesma espécie, Volpato e Barreto (2001) demonstraram que a luz azul pode prevenir a resposta ao cortisol, induzido pelo estresse. Porém, Merighe et al. (2004) detectaram que ambientes de paredes com cores verde e preta ocasionam menores níveis de estresse para a tilápia, ao contrário dos ambientes de coloração marrom e azul, no qual os animais mostraram comportamento mais agressivo.

Maia e Volpato (2013) indicaram as cores amarela e branca como ambientes que causam desconforto as tilápias. Contrário a esses autores, Luchiari et al. (2007) afirmaram que tilápias tem preferência por coloração amarela, porém esse resultado foi dado com base em apenas quatro dias consecutivos de observação, período insuficiente para determinação da preferência de cor nessa espécie, que segundo Maia (2012) deve ser de no mínimo dez dias de observação. Além disso, a coloração amarela não é frequente em habitat natural, dessa forma levanta-se uma questão em relação ao bem estar dessa espécie.

O que se percebe é que não existe um padrão claro para resposta fisiológica e comportamental em relação à coloração do ambiente, sendo, portanto necessário que o comportamento através da preferência natural de cada espécie seja avaliado individualmente.

### 2.3 Aprendizado

Peixes aprendem durante toda vida e são capazes de desenvolver estratégias de aprendizagem complexas, incluindo aprendizado social e espacial (Kieffer e Colgan, 1992). Segundo Conte (2004), algumas das funções dos peixes que podem ser afetadas por fatores estressantes incluem o desempenho na natação, orientação, capacidade de evitar predador, quimiorrecepção, evasão e aprendizagem.

Um estudo clássico enfatiza as diferenças entre o encéfalo dos vertebrados, tais como o fato de peixes possuírem um cérebro pequeno em relação ao tamanho do corpo e um telencéfalo relativamente pequeno e desestruturado, quando comparado a mamíferos e pássaros (Jerison, 1973). No entanto, estudos mostraram a similaridade das estruturas do cérebro envolvidas em tomadas de decisões, entre os vertebrados, sendo essas essenciais para o aprendizado e comportamento social, (Goodson, 2005; O'Connell e Hofmann, 2011). Em peixes, o cerebelo e amígdala estão envolvidos no aprendizado e memória (Vargas et al., 2009).

Segundo Stien et al. (2007) a atração pelo alimento é uma resposta inata e pode ser explorada em testes de aprendizagem, já que o desenvolvimento da capacidade cognitiva desempenha papel importante no comportamento de peixes. Dessa forma podemos empregar as preferências naturais e aquelas aprendidas pelos animais, na prática da aquicultura.

A atração pelo alimento é um estímulo que pode ser empregado dentro do condicionamento, como feito por Nilsson e Kristianses (2008) que relataram que o bacalhau *Gadus morhua*, precisou de oito dias de treinamento para conseguir associar o acendimento de uma luz com a disponibilidade do

alimento no meio. Esse mesmo tipo de condicionamento associativo foi empregado no estudo com peixe arco-íris, *Melanotaenia duboulayi*, no qual Brown e Bibost (2014) verificaram que animais aprenderam a associação entre o acendimento de luz com o recebimento de alimento, em apenas sete dias.

Tarefas de aprendizagem associativa, com marcações ambientais, podem ser manipuladas de forma a ajudar o animal a reter a informação por mais tempo como visto por Ferrari et al. (2010) ao trabalhar com juvenis de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*. Aquelas que foram condicionadas sob alta intensidade de marcos visuais, retiveram a resposta adquirida das pistas do predador mais tempo que o grupo mantido em tratamento com menor quantidade de pistas de ameaça. Esses resultados sugerem que, maiores quantidades de marcos visuais no tempo de condicionamento aumentam a confiabilidade da informação adquirida pelos indivíduos.

Porém, as marcações ambientais nem sempre são utilizadas pelos indivíduos da mesma espécie na hora de se orientarem no espaço, como visto por Perera e Garcia (2003) ao trabalharem com “amarillo fish” *Girardinichthys multiradiatus*. Animais habituados a regiões de água turva não precisaram dos marcos visuais para se orientar no espaço de treinamento, enquanto que os de água clara e translúcida se orientaram pelos marcadores. Concluiu-se, portanto, que o ambiente é capaz de modificar as estratégias comportamentais em indivíduos da mesma espécie.

Em um senso comum, a cognição social se refere ao mecanismo pelo qual animais adquirem, processam, estocam e agem através de informações passadas por outros indivíduos. Esta foi reconhecida no estudo de Karplus et al. (2007), no qual os autores avaliaram a capacidade de aprendizado em

grupos de carpa e de tilápias. Nesse estudo foi utilizada a luz como estímulo e o alimento como recompensa. Os autores verificaram que as tilápias aprenderam rapidamente a se aproximar da luz para receber alimento. As carpas foram capazes de aprender a associação apenas quando em grupos mistos (tilápias e carpas).

Thonhauser et al. (2013) também mostraram a importância da observação de tarefas por indivíduos de arraias *Potamotrygon falkneri*. Nesse estudo, um grupo foi treinado para buscar o alimento (recompensa) e outro tinha acesso visual a tarefa realizada pelo primeiro. O grupo de arraias não treinadas, que apenas observou o grupo de arraias em treinamento a realizar a tarefa, aprendeu a buscar a recompensa com menor tempo de latência em relação as que foram treinadas.

O aprendizado pode ser afetado por fatores estressantes (Conte, 2004) como a exposição a predadores, a feromônio de alarme (Barcellos et al., 2007; Gerlai et al., 2009; Wood et al., 2011) ou a choques elétricos (Blank et al., 2009). O efeito do estresse na aprendizagem pode ser visto em estudos como o realizado por Gaikwad et al. (2011) no qual paulistinhas *Danio rerio*, quando expostos a um predador natural, peixe-folha-indiano *Nandus nandus* ou ao feromônio de alarme da própria espécie, mostraram menor número de entradas em um braço do labirinto em cruz, em uma tarefa de memória que envolvia marcadores no ambiente, quando comparado ao grupo controle.

Wood et al. (2011) também mostraram a influência do estresse na aprendizagem. O nível de cortisol em peixes capazes de aprender uma tarefa espacial se apresentou significativamente mais baixo do que naqueles animais que não conseguiram concluir a tarefa, sugerindo baixo nível de estresse.

Para avaliar a habilidade cognitiva de um animal, o labirinto em T pode ser usado em uma variedade de maneiras (Gould, 2011), podendo admitir outras formas, como labirinto em Y (Adeyemi et al., 2010) e em formato de cruz (Gaikwad et al., 2011).

O labirinto é um aparato utilizado na neurociência e ciência comportamental, podendo ser empregado para investigar a capacidade de alternância como uma medida de memória (Tierney et al., 2011). Este aparato é uma valiosa ferramenta de avaliação nos estudos de aprendizado e memória e é empregado também na avaliação do comportamento através de choque, ingestão de drogas, apresentação de cores ou discriminação apetitiva (Lamb, 2012).

Tierney et al. (2011) utilizaram o labirinto T para estudar as capacidades de aprendizagem espacial de lagostas *Orconectes rusticus*. Foi verificado que os animais possuem capacidade de recordar a configuração geral do ambiente.

O aparato também tem sido utilizado para testar o aprendizado e memória em peixes, como por exemplo, em paulistinha (Sison e Gerlai, 2010; Gould, 2011) e em tilápia ao serem treinadas para associar o um marco visual ao alimento, utilizando a alternância de lados como medida de memória (Mesquita et al., 2016).

Um trabalho realizado com uma espécie de peixe elétrico *Mormyrus rume proboscirostris*, mostrou que animais treinados em labirinto com marcadores visuais podem ignorar os marcos visuais presentes no ambiente e confiar em rotinas motoras internalizadas, o que é consistente com o mapeamento cognitivo (Walton e Moller, 2010), ou ainda ser condicionado a percorrer um caminho, sem presença de marcadores visuais, realizando a tarefa com

eficiência de 89% em um curto período de tempo, como visto com paulistinha (Aoki et al., 2015).

De maneira geral, podemos dizer que a avaliação da capacidade de aprendizado em peixes nos permite compreender distintas formas de condicionamento, estratégias de sobrevivência e comunicação social entre os mesmos. Além de ser uma maneira de avaliar o bem estar animal através das preferências naturais desses e implementá-las nas práticas de manejo na aquicultura.

## **2.5 Referências bibliográficas**

- Adeyemi, O.O., Akindede, A.J., Yemitan, O.K., Aigbe, F. R., Fagbo, F. I., 2010. Anticonvulsant, anxiolytic and sedative activities of the aqueous root extract of *Securidacalonge pedunculata* Fresen. J. Ethnopharmacol. 130, 191-195.
- Aoki, R., Tsuboi, T., Okamoto, H., 2015. Y-maze avoidance: Na automated and rápido associative learning paradigm in zebrafish. Neurosci. Res. 91, 69-72.
- Barcellos, L. J. G., Ritter, F., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., Silva, L. B., Bedin, A. C., Finco, J., Cericato, L., 2007. Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, *Danio rerio*. Aquaculture. 272, 747-778.
- Barcellos, L. J. G., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., Rosa, J. G. S., Koakoski, G., Centenaro, L., Pottker, E., 2009. Influence of color background and shelter availability on jundiá (*Rhamdia quelen*) stress response. Aquaculture. 288, 51-56.
- Blank, M., Guerim, L.D., Cordeiro, R.F., Vianna, M.R., 2009. A one-trial inhibitory avoidance task to zebrafish: rapid acquisition on an NMDA-dependent long-term memory. Neurobiol. Learn. Mem. 92, 529-534.
- Boscolo, W.R., Hayashi, C., Meurer, F., 2002. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootecn. 31, 539-545.

- Brown, C., Bibost, L-A., 2014. Laterality influences cognitive performance in rainbow fish *Melanotaenia duboulayi*. *Anim. Cog.* 17, 1045-1051.
- Chatain, B., Ounais-Guschemann, N., 1991. The relationships between light and larvae of *Sparus aurata*. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. (Eds.), *Larvi '91—Fish and Crustacean Larviculture symposium*. European Aquaculture Society, Special Publication No. 15. Ghent, Belgium. 310–313.
- Conte, F. S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Anim. Behav.* 86, 205–223.
- Downing, G., Litvak, M.K., 2000. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquacult. Int.* 7, 369-382.
- Fanta, E., 1995. Influence of background color on the behaviour of the fish *Oreochromis niloticus* (Cichilidae). *Arq Biol. Tecnol.* 4, 1237-1251.
- FAO (Fisheries and aquaculture department) acesso em: 24/02/2017 às 15:40 <http://www.fao.org/fishery/species/3217/en>
- Ferrari, M.C.O., Brown, G.E., Jackson, C.D., Malka, P. H., Chivers, D. P., 2010. Differential retention of pre factor recognition by juvenile rainbow trout. *Behaviour.* 147, 1791-1802.
- Fritsches, K.A., Partridge, J.C., Pettigrew, J.D., Marshall, N.J., 2000. Colour vision in billfish. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 1253–1256.
- Gaikwad, S., Stewart, A., Hart, P., Wong, K., Piet, V., Cachat, J., Kalueff, A. V., 2011. Acute stress disrupts performance of zebrafish in the cued and spatial memory test: the utility of fish models to study stress-memory interplay. *Behav. Process.* 87, 224-230.
- Galli, L. F., Torloni, C. E. C., 1992. *Criação de peixes*. São Paulo: Nobel. 3, 119.
- Gerlai, R., Fernandes, Y., Pereira, T., 2009. Zebrafish (*Danio rerio*) responds to the animated image of a predator: towards the development of an automated aversive task. *Behav. Brain Res.* 201, 318-324.
- Goodson, J. L., 2005. The vertebrate social behavior network: evolutionary themes and variations. *Horm. Behav.* 48, 11-22.
- Gould, G.G., 2011. Modified associative learning T-maze test for zebrafish (*Danio rerio*) and other small teleost fish. *Neuromethods.* 51, 61-73.



- Hulata.G., Wohlfarth, G.W., Karplus, I., Schroeder, G.L., Harpaz, S., Halevy, A., Rothbard, S., Cohen, S., Israel, I., Kavessa, M., 1993. Evaluation of *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* hybrid progeny of different geographical isolates, reared under varying management regimes. *Aquaculture*. 115, 253-271.
- Huntingford, F. A., 1986. Development of behaviour in fishes, in: Pitcher, T. J. *The behaviour of teleost fishes*. London: Croom Helm. 47-68.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P. and Turnbull, J. F., 2006. Current issues in fish welfare. *J. Fish Biol.* 68, 332–372.
- Jerison, H. J., 1973. Review: Evolution of the brain and intelligence. *Curr. Anthropol.* 16, 403-426.
- Juarez, L.M., Holtschmit, K.H., Salmeron, J.J., Smith, M.K., 1987. The effects of chemical and visual communication, space availability, and substratum color on growth of the juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 110, 285–295.
- Karplus, I., Zion, B., Rosenfeld, L., Grinshpun, Y., Slosman, T., Goshen, Z., 2007. Social facilitation of learning in mixed-species schools of common carp *Cyprinus carpio* L. and Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *J. Fish. Biol.* 71, 1023-1034.
- Kieffer, J.D., Colgan, P.W., 1992. The role of learning in fish behaviour. *Rev. Fish. Biol. Fisher* 2, 125-143.
- Lamb, E.A., Echevarria, D.J., Jouandot, D.J., 2012. The utility of the T-maze in assessing learning, memory and models of neurological disorders in the zebrafish. *Behavior*. 149, 1081-1097.
- Luchiani, A.C., Duarte, C.R.A., Freire, F.A.M., Nissinen, K., 2007. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Ethol.* 25, 169–175.
- Lund, V.X., Figueira, M. L. O., 1989. Criação de Tilápias. São Paulo, Nobel. 63.
- Nilsson, J., Kristiansen, T. S., 2008. Learning in cod (*Gadus morhua*): long trace interval retention. *Anim. Cogn.* 11, 215-222.
- Merighe, G.K.F., Pereira-da-Silva, E.M., Negro, J.A., Ribeiro, S., 2004. Effect of background color on the social stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootecn.* 33, 828–837.

- Mesquita, F.O., Torres, I.F.A., Luz, R.K., 2016. Behaviour of proactive and reactive tilapia *Oreochromis niloticus* in a T-maze. *Applied Anim. Behav.* 181, 200-204.
- Monk, J., Puvanendra, V., Brown, J. A., 2008. Does different tank bottom colour affect the growth, survival and foraging behaviour of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae?. *Aquaculture.* 277, 197-202.
- Moyle, P.B., Cech-Junior, J.J., 1988. *Fishes: an introduction to ichthyology.* 2. ed. New Jersey: Prentice Hall. 559.
- O'connell, L.A., Hofmann, H.A., 2011. The vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis. *J. Comp. Neurol.* 519, 3599-3639.
- Papoutsoglou, S.E., Mylonakis, G., Miliou, H., Karakatsouli, N. P., Chadio, S., 2000. Effects of background color on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. *Aquacult. Eng.* 22, 309-318.
- Perera, T.B., Garcia, C.M., 2003. Amarillo Fish (*Girardinichthys multiradiatus*) use visual landmarks to orient in space. *Ethology.* 109, 341-350.
- Popma, T.J., Lovshin, L., 1996. Worldwide Prospects for Commercial Production Of Tilapia, International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. *Res. Dev.* 41, 23.
- Rotllant, J., Tort, L., Montero, D., Pavlidis, M., Martinez, M., Bonga, S.E.W., Balm, P.H.M., 2003. Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus*. *Aquaculture.* 223, 129–139.
- Schreck, C. B., Olla, B. L., Davis, M. W., 1997. Behavioral responses to stress. In: G. K. Iwana, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, & C. B. Schreck, (Eds.), *Fish stress and health in aquaculture (Society for Experimental Biology, Seminar Series 62).* Cambridge University Press. 145-170.
- Sison, M., Gerlai, R., 2010. Associative learning in Zebrafish (*Danio rerio*) in the plus maze. *Behav. Brain. Res.* 207, 99-104.
- Soares, C.M., Hayashi, C., Faria, A.C.E.A., 2001. Influência da disponibilidade de presas, do contraste visual e do tamanho das larvas de *Pantala* sp. (Odonata, Insecta) sobre a predação de *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Crustacea). *Acta Scientiarum,* 23, 357-362.

- Spady, T.C., Parry, J.W.L., Robinson, P.R., Hunt, D.M., Bowmaker, J.K., Carleton, K.L., 2006. Evolution of the cichlid visual palette through ontogenetic sub functionalization of the opsin gene arrays. *Mol. Biol. Evol.* 23, 1-10.
- Stien, L. H., Bratland, S., Austevoll, I., Oppedal, F., Kristiansen, T. S., 2007. A video analysis procedure for assessing vertical fish distribution in aquaculture tanks. *Aquacult. Eng.* 37, 115-124.
- Storer, T.I., Usinger, R.L., 1991. *Zoologia Geral*. São Paulo, Nacional. 816.
- Strand, A., Alanärä, A., Staffan, F., Magnhagen, C., 2007. Effects of tank colour and light intensity on feed intake, growth rate and energy expenditure of juvenile Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L, *Aquaculture*. 272, 312–318.
- Tannenbaum, J., 1991. Ethics and animal welfare: The inextricable connection. *J Am Vet Med Assoc.* 198, 1360-1376.
- Thonhauser, K.E., Gutnick, T., 2013. Social learning in Cartilaginous fish (stingrays *Potamotrygon falkneri*). *Anim. Cog.* 16, 927-932.
- Tierney, A.J., Lee, J., 2011. Spatial learning in a T-Maze by the crayfish *Orconectes rusticus*. *J. Comp. Psychol.* 125, 31-39.
- Vargas, J.P., López, J.C., Portavella, M., 2009. What are the functions of fish brain pallium? *Brain. Res. Bull.* 79, 436-440.
- Volpato, G.L., Barreto, R.E., 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 1041–1045.
- Walton, A. G., Moller, P., 2010. Maze Learning and Recall in a Weakly Electric Fish, *Mormyrus rume probosciostris* Boulenger (Mormyridae, Teleostei). *Ethology.* 116, 904-919.
- Wood, L.S., Desjardins, J.K., Fernald, R.D., 2011. Effects of stress and motivation on performing a spatial task. *Neurobiol. Learn. Mem.* 95, 277-285.
- Yasharian, D., Coyle, S.D., Tidwell, J.H., Stilwell, W.E., 2005. The effect of tank colouration on survival, metamorphosis rate, growth and time to metamorphosis in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) rearing. *Aquac. Res.* 36, 278–283.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo desse trabalho foi investigar a influência da coloração do ambiente de manutenção sobre o comportamento e capacidade cognitiva de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em labirinto T.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Coletar dados qualitativos e quantitativos do comportamento agonístico e distribuição na coluna d'água durante o período de aclimatação em ambientes de diferentes cores;
- Avaliar o tempo de latência, o tempo para ingerir o alimento e número de vezes que o animal conseguiu associar o marco visual ao lado do alimento no labirinto em T;
- Avaliar se a troca de cores de ambiente causa impacto sobre a capacidade de aprendizado.

## 4. ARTIGO

### **Efeito da coloração do ambiente sobre o comportamento e aprendizado de tilápia do Nilo**

#### 4.1. Resumo

Objetivou-se investigar a influência da coloração do ambiente na capacidade de aprendizado de Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em labirinto T. Foram utilizadas oitenta e quatro tilápias com  $12,81 \pm 0,38$ cm e  $35,98 \pm 8,33$ g. Estas foram separadas em seis grupos de quatorze indivíduos e colocados em tanques azul, verde e preto e aclimatadas por 15 dias quando foram realizadas observações de comportamento. Para o teste de aprendizagem, que durou mais 15 dias, foram montados três labirintos em T, correspondente a cada cor de ambiente. Após este período foi realizada, por mais 5 dias, a troca de cor dos labirintos. Em tanques azuis e pretos os peixes permaneceram em sua maioria na parte superior. Em tanques verde permaneceram distribuídos igualmente na coluna de água. Houve maior número de confrontos agonísticos em ambiente azul. Os peixes do labirinto preto precisaram de 9 dias para aprender a tarefa de sair da latência e se alimentar. Os do labirinto verde precisaram de 10 dias, enquanto que os do labirinto azul não conseguiram aprender a tarefa. A troca de cores afetou o desempenho da tarefa aprendida pelos animais em todas as cores. Pode-se concluir que a coloração do ambiente influencia o comportamento agonístico, além de interferir no desempenho de tarefas de aprendizado. O ambiente preto é o mais indicado, para manutenção e realização de testes de aprendizado em tilápias do Nilo.

Palavras-chave: Tilápia do Nilo, comportamento, labirinto em T, cor de ambiente.

## **4.2. Introdução**

O ambiente no qual um animal habita tem impactos sobre o desenvolvimento de sua morfologia, evolução e comportamento (Brown e Braithwaite, 2005). Um ambiente com coloração predominantemente inadequada pode ser um fator estressante, que por sua vez desencadeia aumento ou depressão de padrões comportamentais em diferentes intensidades (Fanta, 1995). Além disso, a coloração pode influenciar o canibalismo (Volpato 2000), sobrevivência e desempenho de larvas (Imanpoor e Abdollahi, 2011; Merighe et al., 2004; Popoutsoglou et al, 2000), causar alterações fisiológicas como aumento do cortisol plasmático (Volpato e Barreto 2001; Costa et al., no prelo), e comportamentais tais como disfunção alimentar (Duray et al., 1996), retardo no crescimento (Downing e Litvak, 2000), inibição da reprodução (Volpato et al., 2004) e aumento dos níveis de agressão (Hoglund et al., 2002), podendo, dessa forma, também afetar tarefas de aprendizado (Conte, 2004).

A capacidade dos peixes em reconhecer uma ampla faixa de cores pode ajudar o animal na discriminação de detalhes do ambiente, de forma a proporcionar algumas vantagens como a de defesa, acasalamento ou encontrar alimento (Levine 1980; Wheeler 1982; Yokoyama 2000). Porém, poucos trabalhos averiguaram alterações no comportamento de manutenção frente à cor do ambiente.

Peixes aprendem durante toda vida e são capazes de desenvolver estratégias de aprendizagem complexas, incluindo aprendizado social e espacial (Kieffer e Colgan, 1992). Segundo Conte (2004), a aprendizagem, assim como desempenho na natação, a orientação, a capacidade de evitar predador, a quimiorrecepção e a evasão são algumas das funções dos peixes que podem ser afetadas por fatores estressantes (Gaikwad et al., 2011; Wood et al., 2011).

Peixes possuem um cérebro pequeno em relação ao tamanho do corpo e um telencéfalo relativamente pequeno e desestruturado, quando comparado a mamíferos e pássaros (Jerison, 1973). No entanto, estudos mostraram a similaridade de estruturas do cérebro envolvidas em tomadas de decisões, sendo estas conservadas entre vários grupos de vertebrados (Goodson, 2005; O'Connell e Hofmann, 2011). Enquanto o hipocampo em mamíferos está relacionado ao aprendizado espacial, o cerebelo e amígdala estão envolvidos no aprendizado e na memória em muitas espécies animais, incluindo peixes (Vargas et al., 2009). Sendo assim, para realização de testes de aprendizado é possível explorar respostas inatas como a atração pelo alimento, sendo esse um estímulo que pode ser empregado dentro do condicionamento (Nilsson, 2008). Esse tipo de condicionamento associativo foi empregado em estudo com peixe Arco-íris *Melanotaenia duboulayi* (Brown e Bibost, 2014).

Tarefas de aprendizagem associativa, com marcações ambientais, podem ser manipuladas de forma a ajudar o animal a reter a informação por mais tempo (Ferrari et al., 2010). Para avaliar a habilidade cognitiva de um animal, os labirintos podem ser usados de diversas maneiras (Gould, 2011) podendo admitir vários formatos como o em T (Mesquita et al., 2016), Y (Adeyemi et al.,

2010), em formato de cruz (Gaikwad et al., 2011). O labirinto é um aparato utilizado na ciência comportamental que pode ser empregado para investigar a capacidade de alternância como uma medida de memória (Tierney et al., 2011), como também para avaliar o efeito de choque, drogas, cores ou a discriminação apetitiva (Lamb, 2012) nos animais.

A produção mundial de tilápia foi de 3.670.259 toneladas em 2014, sendo a China, o Egito, a Indonésia, as Filipinas, a Tailândia e o Brasil os principais produtores (FAO, 2014). Este sucesso se deve ao rápido crescimento da espécie, boa aceitação pelo mercado devido a carne branca e de sabor leve (Lund e Figueira, 1989). As tilápias têm comportamento diurno e vivem em regiões bem iluminadas, recebendo de sua visão forte estímulo sensorial para a discriminação de movimentos, formas, cores, aspectos topográficos e profundidade (Fanta, 1995). Neste sentido, torna-se necessário o estudo de técnicas de cultivo e manejo, a fim de garantir maior bem estar animal, uma vez que esse está diretamente relacionado ao desempenho dos animais.

Portanto, com o presente trabalho, objetivou-se investigar a influência da coloração do ambiente de manutenção sobre o comportamento e capacidade cognitiva de juvenis de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*, em labirinto T.

#### **4.3. Material e métodos**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquacultura (LAqua) da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e teve duração de 35 dias.



#### **4.3.1. Aclimação, características do ambiente e avaliação do comportamento dos peixes em ambientes de diferentes cores.**

Na aclimação foram utilizadas oitenta e quatro tilápias, machos e fêmeas, da linhagem chitralada com tamanho e peso de  $12,81 \pm 0,38$  cm e  $35,98 \pm 8,33$  g, respectivamente.

Os animais foram separados aleatoriamente em seis grupos de quatorze indivíduos e colocados em seis tanques de plástico de volume útil de 150L em sistema de recirculação de água, com temperatura de  $27,7 \pm 0,6$  °C, pH de  $7,8 \pm 0,3$  (Hanna Instruments modelo Combo pH & EC), oxigênio dissolvido mantido acima de 5mg/L (Lutron DO-5519), e amônia inferior a 0,5 mg/L realizado teste colorimétrico (AlfaKit). Foram testadas três cores de ambiente com dois tanques por cor. Os tanques foram revestidos internamente com adesivo vinil nas cores azul, verde, e preto. A intensidade luminosa na superfície dos tanques 670 lux.

O período de aclimação aos ambientes de diferentes cores durou 15 dias. Durante esse período os animais foram alimentados uma vez ao dia, as 14:00 h, até a saciedade aparente, com ração de 36% PB. Diariamente, 25% da água de cada tanque foi sifonada e o volume repostado imediatamente.

Durante a aclimação foram coletados dados quantitativos e qualitativos referentes ao comportamento dos animais nos distintos ambientes. As observações foram feitas pelo método de registro por intervalo, a cada 1 minuto, diariamente no período da manhã com duração de 10 min/tanque. No período da tarde, as unidades experimentais foram observadas durante o arraçoamento, iniciando 10 minutos antes até o final da alimentação.

Segundo Merighe et al. (2004), foram observados:

1. Distribuição dos indivíduos na coluna d'água: com base nas três regiões da coluna d'água – inferior, média e superior (16 cm de altura cada região)
2. Coloração externa dos animais: observação da predominância da coloração – mais claro ou mais escuro dentro de cada unidade experimental.
3. Etograma de confrontos agonísticos

Comportamento	Descrição
Lateral	Indivíduos em posição paralela emitindo movimentos ondulatórios do eixo maior do corpo
Frontal	Aproximação frontal entre indivíduos, com a boca aberta, em movimentos alternados de aproximação e afastamento
Ameaça	Investida de um indivíduo contra o outro, porém sem contato
Perseguição e Fuga	Perseguição por parte de um indivíduo contra outro que age em retirada
Luta	Investida de um animal contra o outro, com contato



Figura 1. Tanques de aclimatação revestidos com adesivos de vinil em diferentes cores, usado para aclimatação e manutenção de tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus* durante o período de 35 dias.

#### **4.3.2. Primeira fase do experimento - Treinamento em labirinto T**

Para a primeira fase do experimento foram montados três labirintos em T (Figura 2), com cores correspondentes aos ambientes de aclimatação, sendo esses revestidos com adesivo vinil nas cores azul, verde, e preto. Os labirintos foram divididos em sessões, sendo elas: zona de latência, corredor, braço esquerdo e braço direito. Para delimitar a zona de latência e o corredor, foi criada uma divisória com polietileno PELBD (Polietileno Linear de Baixa Densidade) na cor correspondente ao labirinto. Esta serviu para contenção dos animais para o período de aclimatação ao labirinto.

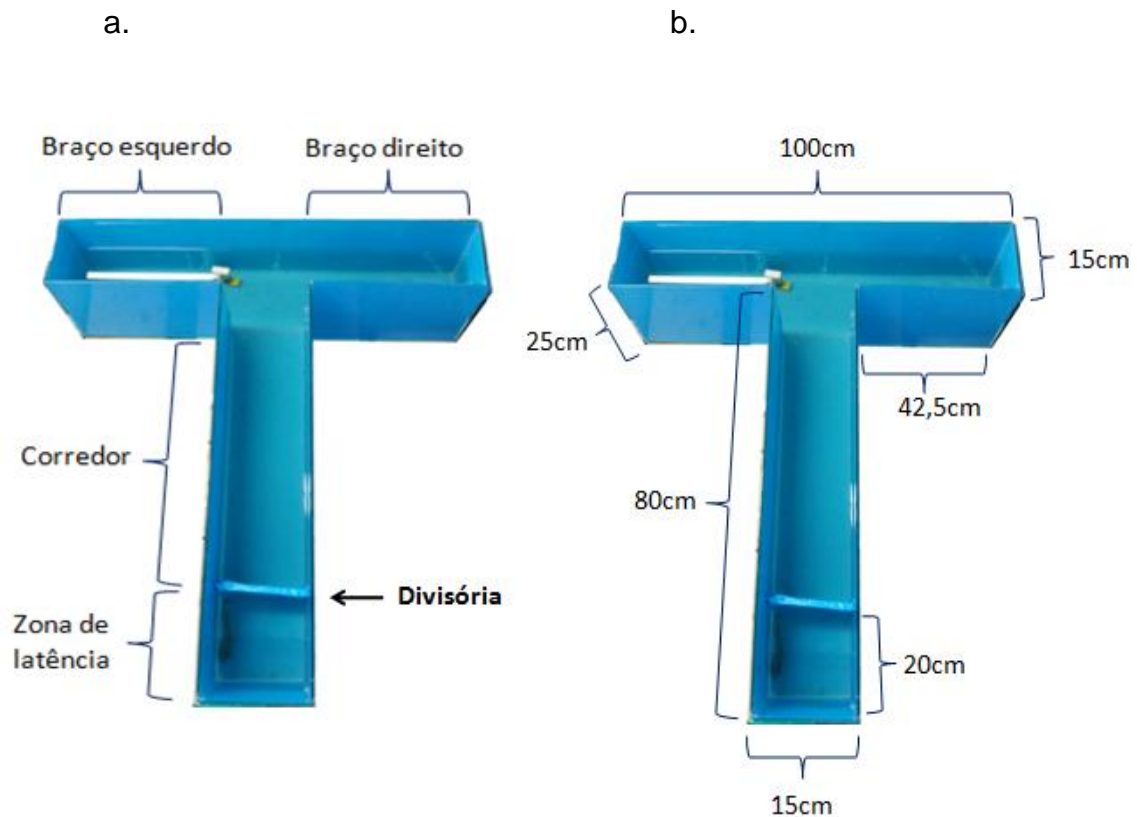


Figura 2. Labirinto em T utilizado na primeira fase do experimento, dividido por sessões (a) e medidas (b).

O treinamento de aprendizagem foi realizado individualmente e durante 15 dias consecutivos. Para tal, a partir das 08:00 h, os animais eram capturados individualmente e acondicionados na zona de latência do labirinto das respectivas cores, onde permaneciam em aclimatação por 2 minutos. Após este tempo, era realizada a retirada da divisória, permitindo acesso ao labirinto, nesse momento foi iniciada a contagem do tempo para realização da tarefa.

Alguns peletes de ração (2-3 mm) foram colocados no mesmo braço que o marcador visual, sendo que o alimento ficou no final do braço e a torre de LEGO (marcador) no início. Esse marcador foi construído com peças de LEGO nas cores azul, vermelho, branco, amarelo, verde e preto, a fim de contrastar com a cor do ambiente. O lado do LEGO e alimento foi sorteado diariamente.

Durante os testes foram avaliados os comportamentos em segundos de acordo com Mesquita et al. (2016), sendo eles:

1. Latência (Tempo para o animal sair da zona de latência e se adentrar no corredor do labirinto);
2. Tempo para encontrar o alimento e ingeri-lo (Tempo desde o início das observações, que compreende desde a latência até a visualização e ingestão do alimento);
3. Número de associação entre o marco visual e o alimento (Primeira decisão de virada sendo o lado correspondente ao marco visual + alimento).

O término do teste se dava quando o animal ingeria o alimento ou quando o tempo máximo de 900 segundos (15 minutos) era atingido (Mesquita et al., 2016).

Foi considerado aprendizado acima de 80% de acertos no dia (Mesquita, 2011), dentro de cada labirinto de teste. Por exemplo: dos 14 testes diários, 10 indivíduos deveriam acertar o lado correto (marco visual+alimento).

Ao final dos testes, os animais foram deslocados novamente para as unidades experimentais e após 1 hora alimentados. A água colocada no labirinto era proveniente das unidades experimentais, garantindo assim a mesma qualidade desta durante o treinamento.

#### **4.3.3. Segunda fase do experimento – Troca de cor ambiente**

Após os quinze dias de treinamento (fase 1), foi realizada a troca de cor dos labirintos por mais cinco dias de teste. O labirinto preto foi trocado pelo verde, o azul pelo preto e o verde pelo azul. troca de ambiente foi feita por

sorteio. A coleta de dados e manejo dos animais se deu da mesma maneira que no teste de aprendizado.

A finalidade desta fase foi avaliar a influência do impacto da troca de cor do ambiente no teste de aprendizado (fase 1).

#### **4.4 Estatística**

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilks. Para análise de distribuição dos animais na coluna d'água, os dados foram considerados normais e submetidos a ANOVA, quando detectada diferença significativa entre as médias foi feito o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). O restante dos dados foi classificado como não normal e foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas pelo programa InfoStat.

#### **4.5. Resultados**

##### **4.5.1. Observações durante o período de aclimação**

Em tanques de cor azul os peixes permaneceram em sua maioria na parte superior (Tabela 1) ( $F = 244,49$ ;  $p < 0,05$ ;  $N = 14$ ) e apresentaram coloração clara e homogênea (Figura 3). Nos tanques de cor verde, a posição dos animais foi distribuída igualmente na coluna de água ( $F = 0,09$ ;  $p > 0,05$ ;  $N = 14$ ) e estes apresentaram coloração intermediária ao do ambiente preto e azul. Em tanques de cor preta os animais permaneceram em sua maioria na parte superior ( $F = 54,54$ ;  $p < 0,05$ ;  $N = 14$ ) apresentando coloração muito escura, com exceção daqueles encontrados na coluna inferior que possuíam cor levemente mais clara que os das demais colunas.

Tabela 1. Resultado porcentagem da distribuição de *Oreochromis niloticus* na coluna d'água (comparação entre coluna d'água e cor)

Posição na coluna de água	Cor do Tanque		
	Azul	Verde	Preto
Superior	71,42±1,12 Aa	33,92±0,86 Ca	54,64±1,28 Ba
Média	13,64±1,16 Bb	33,28±0,98 Aa	32,71±1,97 Ab
Inferior	14,92±0,73 Bb	32,71±0,99 Aa	13,21±0,62 Bc

Letras minúsculas em coluna e maiúsculas em linha diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

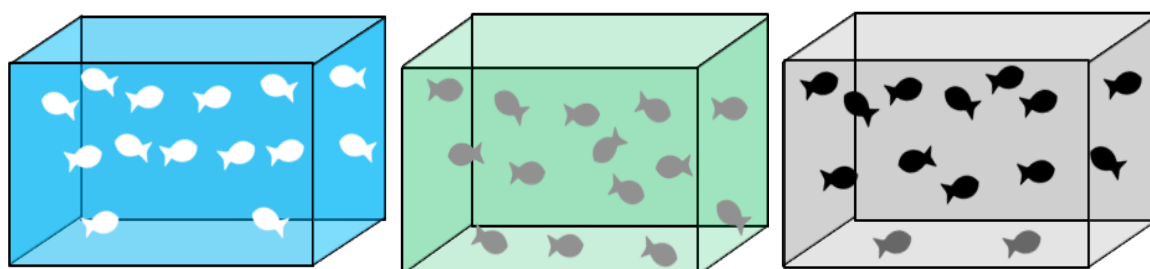


Figura 3. Desenho esquemático da coloração e distribuição de *Oreochromis niloticus* na coluna d'água, dentro dos tanques durante o período de aclimatação de 15 dias.

Quando comparada a posição dos peixes na coluna de água, nos tanques de diferentes cores, verificou-se que na parte superior houve predominância de peixes no tanque azul e menor quantidade de animais na cor verde (tabela 1). Na parte média do tanque, a cor azul apresentou menos animais comparado a verde e preto. Na parte inferior, verificou-se mais peixes nos tanques de cor verde.

Em tanque azul houve maior número de confrontos agonísticos ( $F=382,56$ ,  $p < 0,05$ ,  $N=14$ ), seguido pela cor preta e com menores confrontos na cor verde (figura 4).

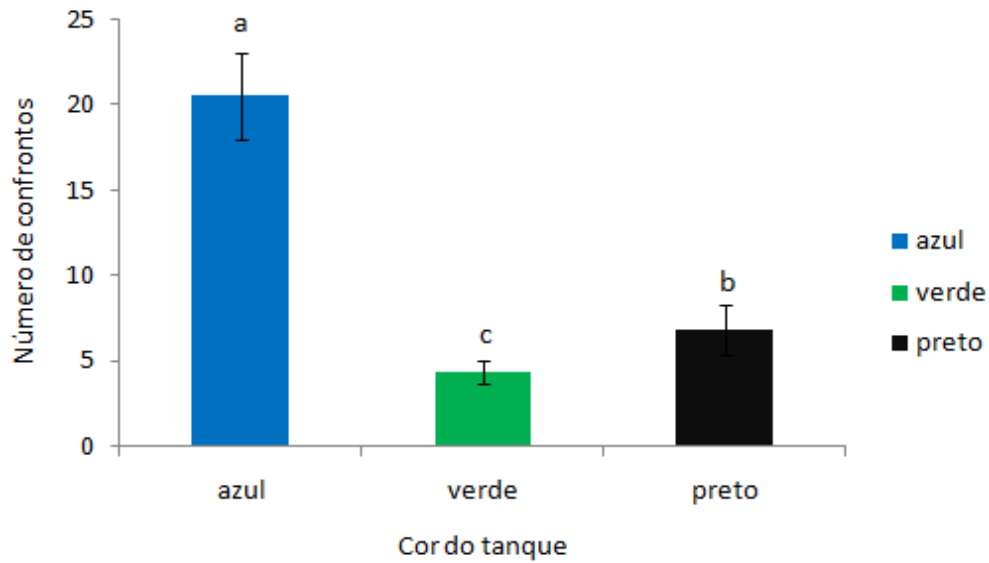


Figura 4. Média ( $\pm$  desvio padrão) da frequência de confrontos agonísticos de *Oreochromis niloticus* em tanques de cor azul, verde e preto. Letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

No momento da alimentação, os animais do tanque azul apresentaram maior agitação. Aqueles da camada inferior demonstraram-se mais agressivos para se alimentar. Alguns animais eram intimidados através de perseguições, e se alimentavam apenas quando ocorria sobra de ração no tanque. Em tanque verde e preto a alimentação se deu de maneira pacífica entre os animais.



## 4.5.2. Teste de aprendizado na fase 1 e 2

### 4.5.2.1. Latência e troca de cor

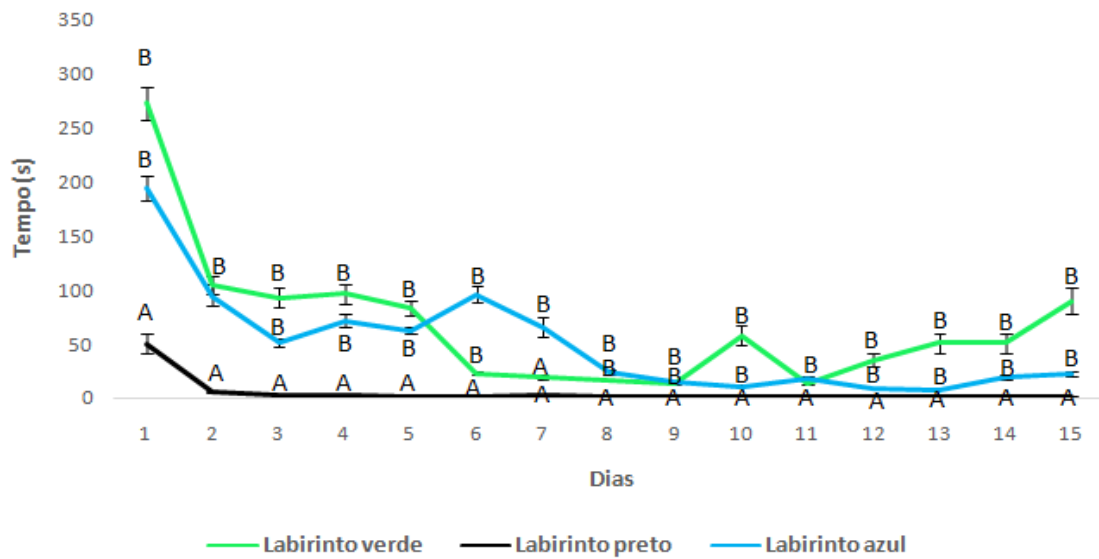


Figura 5. Médias ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto para indivíduos de *Oreochromis niloticus* saírem da zona de latência, durante o teste. Letras diferentes indicam tempo de latência diferente entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) em cada dia de teste.

Durante os diferentes dias de treinamento os peixes mantidos no ambiente de cor preta apresentaram menor tempo de latência em relação as demais cores (Figura 5).

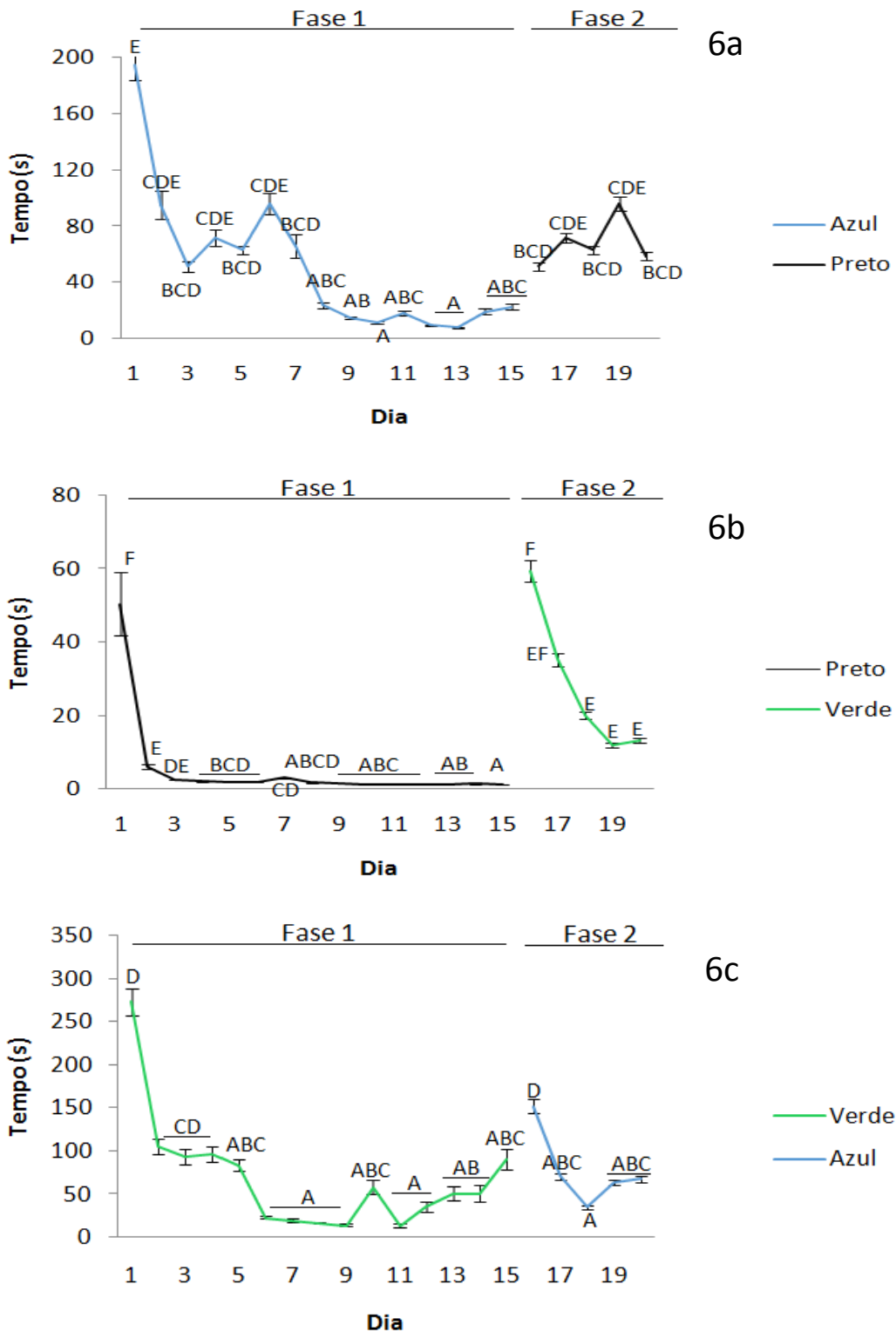


Figura 6. Fase 1 do experimento: Média ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto para *Oreochromis niloticus* aclimatadas em ambiente (a) azul (b) preto e (c) verde, saírem da zona de latência. Fase 2 : Média ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto após a troca de cor para *O. niloticus* saírem da zona de latência. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ).

Em ambiente azul, os animais apresentaram redução significativa do tempo de latência com o passar dos dias de treinamento, mostrando menores tempos entre 8 a 15 dias (teste de Kruskal Wallis,  $H=64,42$ ,  $p < 0,0001$ ,  $N=28$ ), (figura 6a). Contudo, após a troca de cores (fase 2) o tempo de latência aumentou em relação ao menor período de latência verificado na fase 1.

Em labirinto preto, as tilápias mostraram rápida redução do tempo de latência já no segundo dia de experimento e menores tempos entre os dias 8 e 15 (Kruskal Wallis,  $H=93,23$ ,  $p < 0,001$ ,  $N=28$ ) (figura 6b). Porém, após a troca de cor (fase 2), houve aumento significativo no tempo de latência, sem redução, comparado aos tempos verificados na fase 1 após o aprendizado.

Em labirinto verde houve diferença significativa entre os dias de treinamento, segundo o teste de Kruskal Wallis ( $H= 42,46$ ,  $p < 0,0001$ ,  $N=28$ ) (figura 6c). Assim como visto em ambiente azul, os animais treinados em labirinto verde também apresentaram oscilação no tempo de latência durante a fase 1. Na troca de cores (fase 2) houve aumento da latência no primeiro dia e, posteriormente, o tempo voltou a oscilar.

#### 4.5.2.2. Alimentação e troca de cor

Durante o treinamento, os animais do tanque de cor preta apresentaram, na maior parte do tempo, menor tempo para concluir a tarefa (figura 7). Esses resultados ficam evidentes a partir do dia 9 de treinamento.

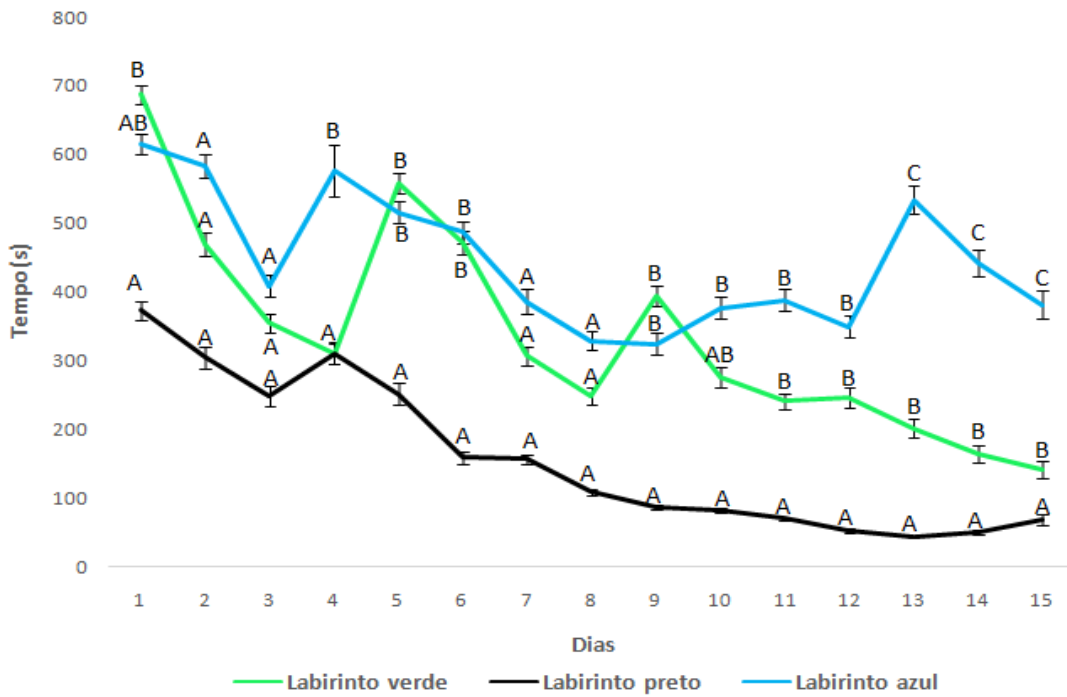


Figura 7. Média ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto para tilápias concluírem a tarefa de encontrar e ingerir o alimento, por dia de teste. Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ) em cada dia de teste.

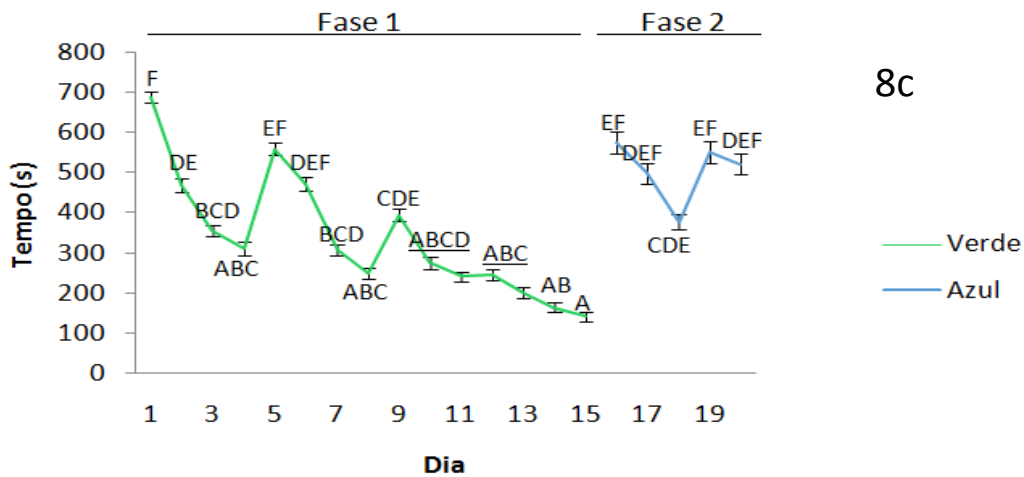
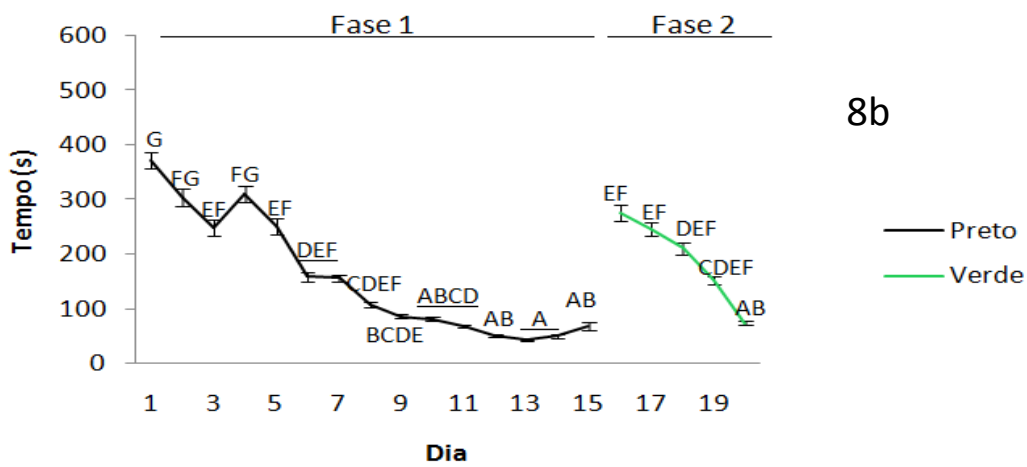
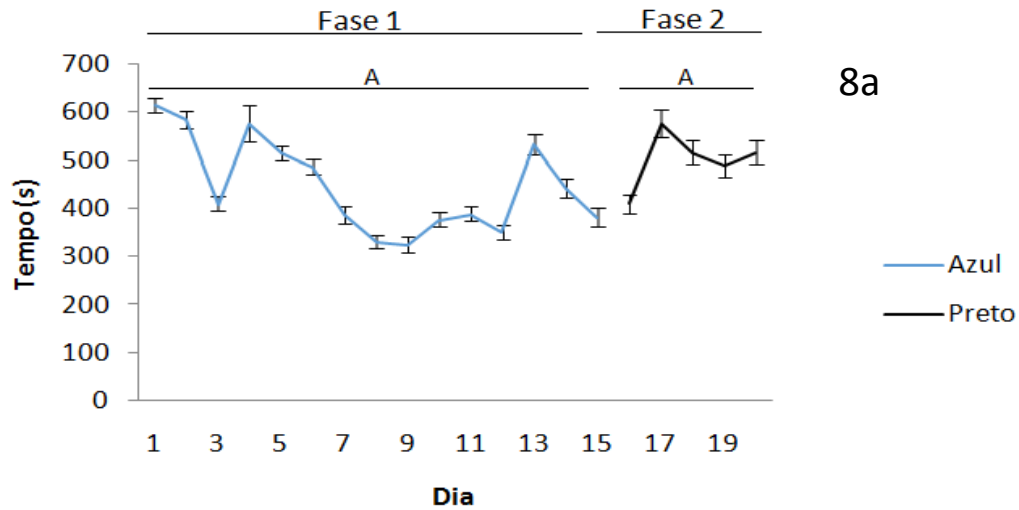


Figura 8. Fase 1: Média ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto para indivíduos de *Oreochromis niloticus* aclimatados em ambiente (a) azul (b) preto e (c) verde, se alimentarem. Fase 2: Média ( $\pm$  erro padrão) do tempo gasto após a troca de cor para *O. niloticus* se alimentarem em labirinto preto (a), verde(b) e azul (c). Letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ).

Analisando o desenvolvimento da aprendizagem dos animais dentro de cada ambiente, ao longo dos quinze dias da fase 1, verificou-se que em ambiente azul os animais não diminuíram o tempo de realização da tarefa, não conseguindo aprender a encontrar e ingerir o alimento durante o tempo do teste (Kruskal Wallis,  $H=20,22$ ,  $p=0,0998$ ,  $N=28$ ) (Figura 8a). O mesmo padrão de comportamento foi notado durante a troca de cor na fase 2.

Em ambiente preto foram necessários nove dias para que os animais diminuíssem significativamente o tempo de conclusão da tarefa na fase 1, mantendo o aprendizado até o décimo quinto dia (Kruskal Wallis,  $H=89,76$ ,  $p<0,001$ ,  $N=28$ ) (Figura 8b). O tempo para concluir a tarefa na fase 2 aumentou no primeiro dia da troca de cor, diminuindo com o passar dos dias e retomando o resultado de aprendizado adquirido na fase 1 ao final de 15 dias.

Em ambiente verde foram necessários oito dias para que os animais aprendessem a tarefa de alimentação na fase 1, sem que houvesse oscilação nos tempos de teste (Kruskal-Wallis,  $H=63,89$ ,  $p<0,001$ ,  $N=28$ ) (Figura 8c). Quando realizada a troca de cor, verificou-se que os animais retomaram o comportamento de oscilação no tempo da tarefa, não conseguindo retomar o aprendizado adquirido na fase 2, até o final dos testes.

#### 4.5.2.3. Número de associações entre marco visual e alimento

Os animais não foram capazes de fazer associação entre o marco visual e o alimento em nenhum dos tratamentos ( $p > 0.05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de associação entre o marco visual e o alimento na fase 1.

Cor do labirinto	Associação entre o marco visual e alimento			
	Sim	Não	F	P
<b>Azul</b>	48,07±2,68 A	51,85±2,68 A	0,60	0,44
<b>Preto</b>	52,35±2,35 A	47,57±2,35 A	0,01	0,90
<b>Verde</b>	49,71±3,05 A	50,42±3,05 A	0,30	0,59

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ )

\*Sim = Associação. \*Não = Não associação.

#### 4.6. Discussão

As cores testadas no presente estudo levaram a alterações comportamentais e de aprendizado no labirinto em T para *O. niloticus*. Estudos têm apresentado uma variedade de cores como sendo a melhor para o confinamento e bem estar de diferentes espécies (Chatain e Ounais-Guschemann, 1991; Fanta, 1995; Volpato e Barreto, 2001; Luchiari et al., 2007). Segundo Fanta (1995), a falta de um padrão comportamental pode ser explicada pela variação de espécie até pelo modo de condução do experimento, além da cor do ambiente poder interferir em algumas situações experimentais, mascarando resultados.

De acordo com Volpato et al. (1989) há uma relação entre a ocupação da região da coluna d'água por tilápias e a posição hierárquica, sendo os indivíduos dominantes aqueles que ocupam, com maior frequência, a região inferior e os submissos aqueles que ocupam a região superior da coluna

d'água. No presente estudo, a ocupação da região inferior foi menor em tanque azul e preto, e maior em verde. Além disso, o ambiente azul estimulou com maior intensidade os confrontos agonísticos, sendo os animais que permaneciam no fundo mais agressivos na hora da alimentação, demonstrando clara relação de hierarquia. Esses resultados se assemelham aos de Fanta (1995) e Merighe et al. (2004), que observaram maior frequência de confrontos em ambiente azul e menor em ambiente preto. Assim como no presente estudo, Merighe et al. (2004) ainda concluíram que em ambiente verde, a frequência de confrontos foi menor em relação ao ambiente azul.

Outro ponto a ser considerado é que, no ambiente de cor preto as tilápias da região inferior do tanque apresentaram coloração externa levemente mais clara em relação às das demais regiões. Essa característica também condiz com o comportamento dominante de *O. niloticus*, descrito por Freitas (1988) e Volpato et al., (1989), que afirmaram que tilápias dominantes apresentam cor mais clara após confrontos entre co-específicos em compensação os indivíduos submissos adquirem coloração mais escura. Porém, apesar desta característica de dominância, o ambiente de cor preta não levou a muitos confrontos agonísticos como no ambiente de cor azul, onde os peixes não apresentaram diferenças de coloração. Para além do comportamento hierárquico, a cor do ambiente é outro fator que pode modular a coloração externa dos peixes. Segundo Imanpoor e Abdollahi (2011), os animais podem adquirir coloração compatível ao ambiente, seja esse escuro ou claro. Merighe et al. (2004) também observaram coloração mais clara para tilápias mantidas em ambiente azul. No atual estudo, os animais do ambiente verde apresentaram coloração intermediária aos outros tratamentos e esses não



apresentaram diferença do tom externo em relação aos demais do mesmo tratamento.

Ademais, comportamentos agonísticos podem contribuir para diminuição do desempenho individual (Moberg, 1999). Tilápias aclimatadas e treinadas em ambiente preto apresentaram melhor resposta no teste de aprendizado, uma vez que o tempo de latência (oito dias) e de alimentação (nove dias) foi menor do que em ambiente azul e verde. Owen et al. (2010) relataram resultados semelhantes, uma vez que indivíduos de tenca *Tinca tinca*, apresentaram maior tempo de latência dentro de um abrigo, em ambiente claro, em relação a ambiente preto. Vaz-Serrano et al. (2011) e Mesquita et al. (2016) também reportaram o tempo de oito dias, para redução da latência em salmão do Atlântico, *Salmo salar*, e tilápia do Nilo *O. niloticus*, respectivamente. Já, as arraías *Potamotrygon falkeneri*, precisam de sete dias para diminuir significativamente o tempo de uma tarefa de aprendizagem (Carpenter e Summers, 2009). Porém, Sneddon (2003), relatou que truta arco-íris *O. mykiss*, precisam de aproximadamente vinte e quatro dias de treinamento para aprenderem a tarefa de alimentação. A variação de tempos indica que o aprendizado depende da espécie e da condição ambiental.

Os piores resultados de aprendizado no ambiente azul, além do efeito da cor, podem ser decorrentes dos animais virem mais estressados do tanque de aclimação devido ao maior número de confrontos agonísticos. Batista (2013) ao trabalhar com o ciclídeo *Geophagus brasiliensis*, também constatou que animais submetidos ao estresse de confrontos agonísticos intensos, não conseguiram aprender a tarefa de aprendizagem proposta.

O fato das tilápias terem demorado mais tempo para concluir a tarefa em ambiente verde e azul, e terem sido mais rápidas em ambiente preto, exclui a hipótese de que o contraste entre ambiente e alimento (ração extrusada de cor marrom) poderia ter interferido na visualização e conclusão da tarefa, uma vez que o espectro visível para tilápias é de 340-700nm, ou seja, do ultravioleta ao vermelho (Sabbah et al., 2012). Por tanto, todas as cores utilizadas se encaixam dentro do espectro de visão da espécie.

Com relação a fase 2 do experimento, foi visto que quando os animais foram submetidos a troca de cor de ambiente houve perda de foco em todos os tratamentos. Porém, os animais mantidos em tanque preto e submetidos ao labirinto verde, foram os únicos que conseguiram retomar o padrão de aprendizagem adquirido na fase 1. Esses resultados mostram, que além das mudanças nas características do ambiente de aprendizado serem capazes de interferir na realização de tarefas já aprendidas, as características do ambiente de manutenção também são importantes para retomada da homeostase, além da melhora no desempenho individual em tarefas. De maneira geral, o choque da mudança de ambiente pode gerar estresse influenciando negativamente em tarefas de aprendizagem (Schreck et al., 1997). Contudo, a coloração preta do ambiente de manutenção pode minimizar esse efeito como verificado no presente estudo.

Considerando a aprendizagem associativa, o marcador visual (torre de LEGO) utilizado no presente estudo não foi eficiente para este tipo de aprendizagem. Warburton et al. (1990) ao trabalharem com peixe dourado *Carassius auratus*, também utilizaram colunas de LEGO como marcador visual para identificação da área de alimentação e concluíram que o aprendizado

espacial foi maior na presença de marcos visuais. Já Mesquita et al. (2016), ao trabalharem com *O. niloticus*, utilizaram cascalho e verificaram que esse tipo de marcador também não foi eficiente na tarefa associativa. Segundo Perera e Garcia (2003) os peixes não se tornam dependentes de pistas instáveis, dessa forma, o fato das tilápias não terem conseguido associar a torre de LEGO ao alimento, pode ser explicado pela alternância de lado do marco visual a cada teste.

O desempenho zootécnico dos animais está diretamente relacionado ao bem estar dos mesmos (Schreck et al., 1997). Desta forma é necessário que o ambiente no qual o animal esteja acondicionado proporcione bem estar através de condições favoráveis à criação. Sendo a tilápia do Nilo uma espécie de grande importância comercial, o estudo realizado apresentou relevância, uma vez que avaliou o bem estar desses animais através da análise do comportamento dos mesmos, dentro do ambiente de manutenção além do teste de capacidade cognitiva.

#### **4.7. Conclusões**

A coloração do ambiente pode influenciar o comportamento agonístico em tilápias do Nilo, além de interferir no desempenho em tarefas de aprendizado. O ambiente preto é o mais indicado dentre as cores trabalhadas, para manutenção e realização de testes de aprendizado de tilápias do Nilo, uma vez que esse não incitou o comportamento agonístico da mesma maneira que o azul, além de ter sido o ambiente no qual os animais desempenharam a tarefa proposta mais rapidamente. A coloração azul, por ter intensificado o comportamento agonístico entre os animais em ambiente de manutenção, além

de ter influenciado negativamente o desempenho individual em tarefa de aprendizagem, não deve ser recomendado às mesmas.

#### 4.8. Referências bibliográficas

- Adeyemi, O.O., Akindele, A.J., Yemitan, O.K., Aigbe, F. R., Fagbo, F. I., 2010. Anticonvulsant, anxiolytic and sedative activities of the aqueous root extract of *Securidacalonge pedunculata* Fresen. *J. Ethnopharmacol.* 130, 191-195.
- Batista, L. Estresse crônico prejudica aprendizado em peixes *Geophagus brasiliensis*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
- Brown, C., Bibost, L-A., 2014. Laterality influences cognitive performance in rainbow fish *Melanotaenia duboulayi*. *Anim. Cog.* 17, 1045-1051.
- Brown, C., Braithwaite, V.A., 2005. Effects of predation pressure on the cognitive ability of the poeciliid *Brachyraphis episcopi*. *Behav Ecol.* 16, 482–487.
- Carpenter, R. E., Summers, C. H., 2009. Learning strategies during fear conditioning. *Neurob. Learn. Mem.* 91, 415-423.
- Chatain, B., Ounais-Guschemann, N., 1991. The relationships between light and larvae of *Sparus aurata*. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F. (Eds.), *Larvi '91—Fish and Crustacean Larviculture symposium*. European Aquaculture Society, Special Publication No. 15. Ghent, Belgium. 310–313.
- Conte, F. S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Anim. Behav.* 86, 205–223.
- Costa, D.C., Mattioli, C.C., Silva, W.S.E., Takata, R., Leme, F.O.P., Oliveira, A.L., Luz, R.K., (no prelo). The effect of environmental colour on the growth, metabolism, physiology, and skin pigmentation of the carnivorous freshwater catfish pacamã *Lophiosilurus alexandri*. *J. Fish Biol.*
- Downing, G., Litvak, M.K., 2000. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquacult. Int.* 7, 369-382.
- Duray, M.N., Estudillo, C.B., Alpasan, L.G., 1996. The effect of background color and rotifer density on rotifer intake, growth and survival of the grouper (*Epinephelus suillus*) larvae. *Aquaculture.* 146, 217–224

- Fanta, E., 1995. Influence of background color on the behaviour of the fish *Oreochromis niloticus* (Cichilidae). Arq Biol. Tecnol. 4, 1237-1251.
- FAO (Fisheries and aquaculture department) acesso em: 24/02/2017 às 15:40  
<http://www.fao.org/fishery/species/3217/en>
- Ferrari, M.C.O., Brown, G.E., Jackson, C.D., Malka, P. H., Chivers, D. P., 2010. Differential retention of pre factor recognition by juvenile rainbow trout. Behaviour. 147, 1791-1802.
- Freitas, E.F.L., 1988. Efeito da visão da imagem refletida em espelho sobre o consumo de oxigênio de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Monografia (Graduação) – Universidade Estadual Paulista.
- Gaikwad, S., Stewart, A., Hart, P., Wong, K., Piet, V., Cachat, J., Kalueff, A. V., 2011. Acute stress disrupts performance of zebrafish in the cued and spatial memory test: the utility of fish models to study stress-memory interplay. Behav. Process. 87, 224-230.
- Goodson, J. L., 2005. The vertebrate social behavior network: evolutionary themes and variations. Horm.Behav.48, 11-22.
- Gould, G.G., 2011. Modified associative learning T-maze test for zebrafish (*Danio rerio*) and other small teleost fish. Neuromethods. 51, 61-73.
- Hoglund, E., Balm, P.H.M., Winberg, S., 2002. Behavioural and neuroendocrine effects of environmental background colour and social interaction in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). J. Exp. Biol. 205, 2535-2543.
- Imanpoor, M.R., Abdollahi, M., 2011. Effects of Tank Color on Growth, Stress Response and Skin Color of Juvenile Caspian Kutum *Rutilus frisii* Kutum. Glob. Vet. 6, 118-125.
- Jerison, H. J., 1973. Review: Evolution of the brain and intelligence. Curr. Anthropol. 16, 403-426.
- Kieffer, J.D., Colgan, P.W., 1992. The role of learning in fish behaviour. Rev. Fish. Biol. Fisher. 2, 125-143.
- Lamb, E.A., Echevarria, D.J., Jouandot, D.J., 2012. The utility of the T-maze in assessing learning, memory and models of neurological disorders in the zebrafish. Behavior. 149, 1081-1097.
- Levine, J.S., 1980. Vision underwater. Oceanus. 23, 19-26.

- Luchiari, A.C., Duarte, C.R.A., Freire, F.A.M., Nissinen, K., 2007. Hierarchical status and colour preference in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Ethol. 25, 169–175.
- Lund, V.X., Figueira, M. L. O., 1989. Criação de Tilápias. São Paulo, Nobel. 63.
- Merighe, G.K.F., Pereira-da-Silva, E.M., Negro, J.A., Ribeiro, S., 2004. Effect of background color on the social stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootecn. 33, 828–837.
- Mesquita, F.O., Torres, I.F.A., Luz, R.K., 2016. Behaviour of proactive and reactive tilapia *Oreochromis niloticus* in a T-maze. Applied Anim. Behav. 181, 200-204.
- Moberg, G.P., 1999. When does stress become distress? Lab. Anim. 28, 422-426.
- Nilsson, J., Kristiansen, T. S., 2008. Learning in cod (*Gadus morhua*): long trace interval retention. Anim. Cogn. 11, 215-222.
- O'connell, L.A., Hofmann, H.A., 2011. The vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis. J. Comp. Neurol. 519, 3599-3639.
- Owen, M.G., Davies, S.J., Sloman, K.A., 2010. Light colour influences the behaviour and stress physiology of captive tench (*Tinca tinca*). Rev. Fish Biol. Fish. 20,375-380.
- Papoutsoglou, S.E., Mylonakis, G., Miliou, H., Karakatsouli, N. P., Chadio, S., 2000. Effects of background color on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio* L.) reared in a closed circulated system. Aquacult. Eng. 22, 309-318.
- Perera, T.B., Garcia, C.M., 2003. Amarillo Fish (*Girardinichthys multiradiatus*) use visual landmarks to orient in space. Ethology. 109, 341-350.
- Sabbah, S., Hui, J., Hauser, F.E., Nelson, W.A., Hawryshyn, C.W., 2012. Ontogeny in the visual system of Nile tilapia. J. Exp. Biol. 215, 2684-2695.
- Schreck, C. B., Olla, B. L., Davis, M. W., 1997. Behavioral responses to stress. In: G. K. Iwana, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, & C. B. Schreck, (Eds.), Fish stress and health in aquaculture (Society for Experimental Biology, Seminar Series 62). Cambridge University Press.145-170.
- Sneddon, L. U., 2003. The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. J. F. Biol. 62, 971-975.

- Tierney, A.J., Lee, J., 2011. Spatial learning in a T-Maze by the crayfish *Orconectes rusticus*. *J. Comp. Psychol.* 125, 31-39.
- Vargas, J.P., López, J.C., Portavella, M., 2009. What are the functions of fish brain pallium? *Brain. Res. Bull.* 79, 436-440.
- Vaz-Serrano, J., Ruiz-Gomez, M.L., Gjoen, H.M., 2011. Consistent boldness behaviour in early emerging fry of domesticated Atlantic salmon (*Salmo salar*): Decoupling of behavioural and physiological traits of the proactive stress coping style. *Physiol. Behav.* 103, 359-364.
- Volpato, G.L., Frioli, P.M.A., Carrieri, M.P., 1989. Heterogeneous growth in fishes: some new data of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and a general view about the causal mechanisms. *Bol. Fisiol. An.* 13, 7-22.
- Volpato, G.L., 2000. Coloração ambiental como facilitador da reprodução e redutor de canibalismo em matrinxã. *Pesquisa Fapesp.* 54, 42-45.
- Volpato, G.L., Barreto, R.E., 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 1041–1045.
- Volpato, G.L., Duarte, C.R.A., Luchiari, A.C., 2004. Environmental color affect Nile tilapia reproduction. *Braz J Med Biol Res* 37, 479–483.
- Warburton, K., 1990. The use of local landmarks by foraging goldfish. *Anim. Behav.* 40, 500-505.
- Wheeler, T.G., 1982. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. *Brain Res. Rev.* 4,177-235.
- Wood, L.S., Desjardins, J.K., Fernald, R.D., 2011. Effects of stress and motivation on performing a spatial task. *Neurobiol. Learn. Mem.*95, 277-285.
- Yokoyama, S., 2000. Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Progr. Retin. Eye Res.* 19, 385-419.