



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA**

LUCIANO CLEMENTE DA SILVA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE BAIXA FREQUÊNCIA NA  
ALIMENTAÇÃO E SANIDADE DO SILURIFORME NEOTROPICAL SURUBIM**  
*(Pseudoplatystoma sp.)*

Recife  
2018

LUCIANO CLEMENTE DA SILVA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE BAIXA FREQUÊNCIA NA  
ALIMENTAÇÃO E SANIDADE DO SILURIFORME NEOTROPICAL SURUBIM  
(*Pseudoplatystoma* sp.)**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Orientador Prof. Dr. RANILSON DE SOUZA BEZERRA

Coorientador Prof. Dr. VALDIR LUNA DA SILVA

Recife

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva, Luciano Clemente da  
Efeito da estimulação elétrica de baixa frequência na alimentação e  
sanidade do Siluriforme Neotropical Surubim / Luciano Clemente da  
Silva - 2018.

79 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra  
Coorientador: Valdir Luna da Silva  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro  
de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e  
Fisiologia. Recife, 2018.

Inclui referências

1. Surubim 2. Eletroestimulação 3. Piscicultura I. Bezerra, Ranilson  
de Souza (orient.) II. Silva, Valdir Luna de (coorient.) III. Título

639.3

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-410

LUCIANO CLEMENTE DA SILVA

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE BAIXA FREQUÊNCIA NA  
ALIMENTAÇÃO E SANIDADE DO SILURIFORME NEOTROPICAL SURUBIM**

*(Pseudoplatystoma sp.)*

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Bioquímica e Fisiologia.

Data de aprovação: 24/07/2018.

---

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Caio Rodrigo Dias de Assis (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Janilson Felix da Silva (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Leucio Duarte Vieira Filho (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

## AGRADECIMENTOS

A todos que me deram apoio, de todas as formas: moral, financeira, emocional e intelectual.

Agradeço a meus pais, Sr. Leuvino João da Silva e Sr<sup>a</sup>. Maria Amélia Clemente da Silva, por tudo que fizeram e fazem por mim e pelo amor dedicado.

À minha adorável esposa, Kássia de Oliveira, pelo apoio em todas as minhas decisões, por me completar e ser um dos incentivos às minhas conquistas.

Aos orientadores e amigos: Valdir Luna, que com sua tranquilidade transmite segurança e confiança para o desenvolvimento dos trabalhos, e Ranilson de Souza que com sua empolgação e confiança me incentiva a buscar cada vez mais a tão sonhada perfeição.

Aos Amigos que são o analgésico nos momentos de dor psíquica e também física com suas brincadeiras e colaborações intelectuais, imprescindíveis para um bom andamento dos trabalhos em laboratórios.

À FACEPE pela importante contribuição financeira, sem a qual seria mais difícil a conclusão deste trabalho.

Aos servidores da CODEVASF-AL, que foram também de grande importância para a realização de parte deste estudo.

## RESUMO

O surubim é um peixe de grande importância no mercado nacional e seu cultivo enfrenta problemas com relação a alimentação, principalmente em fases iniciais do desenvolvimento. O comportamento alimentar pode variar de uma espécie para outra no aspecto quantitativo e qualitativo e devido à rejeição do alimento inerte ocorre grande mortalidade e conseqüentemente aumento no custo de produção. Como solução, a estimulação elétrica se mostra bastante eficaz no aumento da ingestão alimentar pela espécie. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar os efeitos da estimulação elétrica no treinamento alimentar de alevinos do surubim, avaliar o estado de sanidade de animais juvenis expostos à eletroestimulação e elencar por meios de uma revisão da literatura os principais peptídeos envolvidos nos mecanismos de regulação do comportamento alimentar em peixes. Foram utilizados 80 juvenis de *Pseudoplatystoma* sp. com  $16,2 \pm 4,42$  g de peso e  $13,1 \pm 1,20$  cm de comprimento total, divididos em dois grupos, estimulado com campo elétrico de baixa intensidade (2,5 mV/cm) e frequência (30 Hz) e controle, com quatro réplicas cada cultivados durante 120 dias. Foram realizadas coletas de dados biométricos e de materiais biológicos para as análises hematológicas e bioquímicas. Uma vez por mês dois indivíduos de cada réplica foram sacrificados, e eram retirados uma alíquota de sangue e o fígado, este último foi utilizado para as análises de estresse oxidativo. O experimento em campo realizado na Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (CODEVASF) Alagoas. Onde foram treinados para o consumo de ração 600 alevinos de *Pseudoplatystoma curruscans* com média geral de  $314.17 \pm 14.06$  mm e  $0.353 \pm 0.015$  g de comprimento total e peso, respectivamente e cultivados por 30 dias. Os animais foram divididos em dois grupos em triplicata: um estimulado com as características de campo elétrico já citadas e um grupo controle. O treinamento alimentar foi realizado com ração comercial para peixes carnívoros NANOLIS 45% de proteína bruta (PB) extrusada, com pellets de 1,8 a 2,0 mm e coração bovino triturado. Os resultados comprovaram que a eletroestimulação é uma técnica eficiente na melhoria do desempenho produtivo, principalmente com juvenis, cujos animais estimulados apresentaram diferença significativa no ganho de peso, 30% maior, e no consumo de ração, quando comparado com o controle ( $p < 0,05$ ) (ANOVA-Tukey), porém provavelmente devido ao tempo de cultivo os alevinos não apresentaram diferença entre os grupos controle e estimulado com relação aos parâmetros zootécnicos. Ficando evidente apenas a eficiência da eletroestimulação como modulador do comportamento nesta fase do desenvolvimento. Esta técnica também se mostrou segura pois não foi identificada diferença

entre os grupos experimentais, tanto nos parâmetros hematológicos quanto nos relacionados com o estresse oxidativo. Com isso podemos concluir que a eletroestimulação deve ser usada principalmente no período de engorda (juvenis) reduzindo a rejeição ao alimento inerte e melhorar o rendimento desta espécie. No entanto, estudos com períodos de cultivo mais longo dos alevinos são necessários para uma resposta mais conclusiva sobre os efeitos da eletroestimulação nesta fase do desenvolvimento do surubim.

Palavras-chave: Surubim. Alimentação. Eletroestimulação. Piscicultura.

## ABSTRACT

Surubim is a fish of great importance in the national market and its cultivation faces problems in feeding, especially in the early stages of development. Food behavior, can vary from one species to another in the quantitative and qualitative aspects and due to the rejection of inert food, there is a great mortality and consequently an increase in the cost of production. As a solution, the electrical stimulation proves to be quite effective in increasing the food intake of the species. In this work, the objective was to evaluate the effects of electrical stimulation in the feeding training of surubim fingerlings, to evaluate the health status of juveniles exposed to electrostimulation and to list by means of a review of the literature the main peptides involved in mechanisms of regulation in food behavior fish. Were used 80 juveniles of *Pseudoplatystoma* sp. with  $16.2 \pm 4.42$  g of weight and  $13.1 \pm 1.20$  cm of total length, divided in two groups, stimulated with electric field of low intensity (2,5 mV / cm) and frequency (30 Hz) and control, with four replicates each cultivated for 120 days. Biometric data collection and biological materials were collected for hematological and biochemical analyzes. Once a month, two individuals from each replica were sacrificed, and a blood aliquot and liver were removed, the latter was used for oxidative stress analyzes. The field experiment carried out at the Development Company of the São Francisco and Parnaíba Valleys (CODEVASF) Alagoas. Where 600 fingerlings of *Pseudoplatystoma curruscans* were trained for the consumption of ration with a general average of  $314.17 \pm 14.06$  mm and  $0.353 \pm 0.015$  g of total length and weight, respectively and cultivated for 30 days. The animals were divided into two groups in triplicate: one stimulated with the electric field characteristics already mentioned and one control group. Feeding training was carried out with commercial feed NANOLIS for carnivorous fish 45% extruded crude protein (CP), with pellets of 1.8 to 2.0 mm and crushed bovine heart. The results showed that electrical stimulation is an efficient technique to improve productive performance, especially with juveniles, whose stimulated animals presented a significant difference in weight gain, 30% higher, and in food intake, when compared to control ( $p < 0.05$ ) (ANOVA-Tukey), but probably due to the time of cultivation the fingerlings did not present difference between the control and stimulated groups in relation to the zootechnical parameters. Only the efficiency of electrostimulation as a modulator of behavior at this stage of development is evident. This technique was also safe because no difference was identified between the experimental groups, in relation to hematological parameters and oxidative stress.

Therefore, we can conclude that electrostimulation should be used mainly during the fattening period (juveniles), reducing the rejection of inert feed and improving the yield of this species. However, studies with longer culture periods of the fingerlings are necessary for a more conclusive response on the effects of electrostimulation at this stage of surubim development.

Keywords: Surubim. Food. Electrostimulation. Pisciculture.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
1.1	OBJETIVOS .....	12
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1	AQUICULTURA: PANORAMA GERAL .....	13
<b>2.1.1</b>	<b>Piscicultura do surubim .....</b>	<b>15</b>
2.2	ELETROESTIMULAÇÃO .....	17
<b>2.2.1</b>	<b>Eletrorrecepção.....</b>	<b>19</b>
2.3	ESTRESSE EM PEIXES CULTIVADOS .....	21
2.4	HEMATOLOGIA DE PEIXES .....	22
<b>3</b>	<b>PRINCIPAIS HORMÔNIOS CEREBRAIS E GASTROINTESTINAIS NO CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR EM PEIXES.....</b>	<b>25</b>
<b>4</b>	<b>AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO, CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E ZOOTÉCNICAS DO SURUBIM (<i>Pseudoplatystoma</i> sp.) JUVENIL ESTIMULADO COM CAMPO ELÉTRICO DE BAIXA INTENSIDADE E FREQUÊNCIA .....</b>	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>USO DE CAMPO ELÉTRICO DE BAIXA INTENSIDADE NO TREINAMENTO ALIMENTAR DE SURUBIM (<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>) .....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>74</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>75</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A piscicultura no Brasil encontra-se em ascensão e nos últimos anos demonstrou grande potencial produtivo. Este é um dos motivos para tantas expectativas para este setor e o aperfeiçoamento de técnicas na produção de espécies de grande valor de mercado como, por exemplo, as espécies do gênero *Pseudoplatystoma* segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016).

Os avanços tecnológicos na produção destas espécies vão desde rações específicas a melhoramento genético por cruzamento entre espécies. As espécies do gênero *Pseudoplatystoma* são conhecidas como surubins. Destas, *P. corruscans*, *P. fasciatum* e *P. reticulatum* são as mais exploradas comercialmente juntamente com seus híbridos, devido ao sabor de sua carne, que é amplamente apreciada tanto no mercado interno como externo (PORTO-FORESTI et al., 2008; SCORVO FILHO et al., 2008; FREIRE e CARVALHO FILHO, 2009; LIRANÇO et al., 2011; PEREIRA et al., 2015).

Os espécimes híbridos são hoje mais cultivados que seus parentais puros, e isto se deve às características destes animais, que são mais dóceis, mais resistentes a infecções e apresentam melhor rendimento produtivo (GODINHO, 2007; PORTO-FORESTI et al., 2008; PEREIRA et al., 2015).

Mesmo com todo o progresso na técnica de produção dos surubins, ainda existem problemas que aumentam o custo para produção destas espécies. Estes problemas estão contidos principalmente na reprodução e alimentação dos alevinos até fase de engorda. Neste período ocorre a maior taxa de mortalidade deste cultivo com sobrevivência, em alguns casos, de apenas 18% (INOUE et al., 2009), o que leva muitos produtores a desistirem deste empreendimento. Esta mortalidade está relacionada com a baixa aceitação da ração pelos alevinos, e esse fator ocasiona o aumento de canibalismos destes animais e também à morte por desnutrição.

Os alevinos destas espécies são submetidos, neste período de vida, a um treinamento no qual é substituída gradualmente a alimentação viva por ração (INOUE et al., 2009).

Este avanço contribuiu muito para a consolidação do surubim com uma espécie cultivada de bom rendimento (SILVA et al., 2015). No entanto, é possível melhorar ainda mais este método associando a ele outras técnicas, como a proposta por Silva et al. (2014), neste trabalho o autor estimulou indivíduos de *P. corruscans* com um campo elétrico de

baixa intensidade e frequência. Os animais estimulados apresentaram aumento no consumo de ração, ganho em peso e comprimento total superiores aos animais controle no final de três meses de cultivo.

Supostamente este campo elétrico simularia a presença de uma presa, o que aumentaria o interesse dos animais pelo alimento inerte. Algumas evidências mostram que o comportamento alimentar de peixes é regido por hormônios similares aos de mamíferos como o Neuropeptídeo Y (NPY), o Peptídeo Relacionado à Agouti (AgRP) e as Orexinas, estimulando o apetite e como o peptídeo de Transcrição Regulada por Cocaína e Anfetamina (CART), a Colecistocinana (CCK) e Leptina que são inibidores do apetite (PETERSON et al., 2012; VOLKOFF et al., 2017).

No entanto, não se sabe os mecanismos que são ativados durante a estimulação elétrica que levam a esta resposta comportamental do surubim, como também, seu efeito no metabolismo relacionado com o estresse. Assim, este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos da estimulação elétrica sobre aspectos da fisiologia do surubim, de forma a garantir a segurança de sua utilização no cultivo destas espécies, como também a eficiência desta ferramenta na modulação do comportamento de alevino em treinamento alimentar e elencar os principais hormônios/peptídeos envolvidos no mecanismo de regulação do comportamento alimentar de peixes.

## 1.1 OBJETIVOS

Neste trabalho, o objetivo foi avaliar os efeitos da estimulação elétrica no treinamento alimentar de alevinos do surubim, avaliar o estado de sanidade de animais juvenis expostos à eletroestimulação e elencar por meios de uma revisão da literatura os principais peptídeos envolvidos nos mecanismos de regulação do comportamento alimentar em peixes.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da eletroestimulação no treinamento alimentar de alevinos;
- Avaliar parâmetros zootécnicos e do comportamento alimentar de alevinos eletroestimulados;
- Avaliar os parâmetros zootécnicos dos peixes juvenis frente ao estímulo elétrico;
- Verificar a sanidade de peixes juvenis estimulados com o campo elétrico de baixa intensidade, utilizando parâmetros hematológicos e do estado redox;
- Elaborar revisão da literatura sobre os principais peptídeos/hormônios envolvidos no controle da ingestão alimentar em peixes.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 AQUICULTURA: PANORAMA GERAL

Segundo os dados da Food and Agriculture Organization of United Nations – FAO (2018), a produção de pescado em 2016 foi de 90,9 e 80 milhões de toneladas oriundas da pesca e aquicultura respectivamente. Isso demonstra o avanço da aquicultura nas últimas décadas, complementando a pesca (Fig. 1) e a mudança de comportamento da população mundial que passou a consumir maior quantidade de peixe, de 1961 a 2016 este consumo aumentou em 3,2% enquanto a população mundial cresceu 1,6%. Em 2016 foi estimado pela FAO o valor de US\$ 362 bilhões para a primeira venda, e a China se destaca como principal produtor com mais de 15 milhões de toneladas oriundas da pesca, seguido pela Indonésia, Estados Unidos da América, Rússia e Peru.

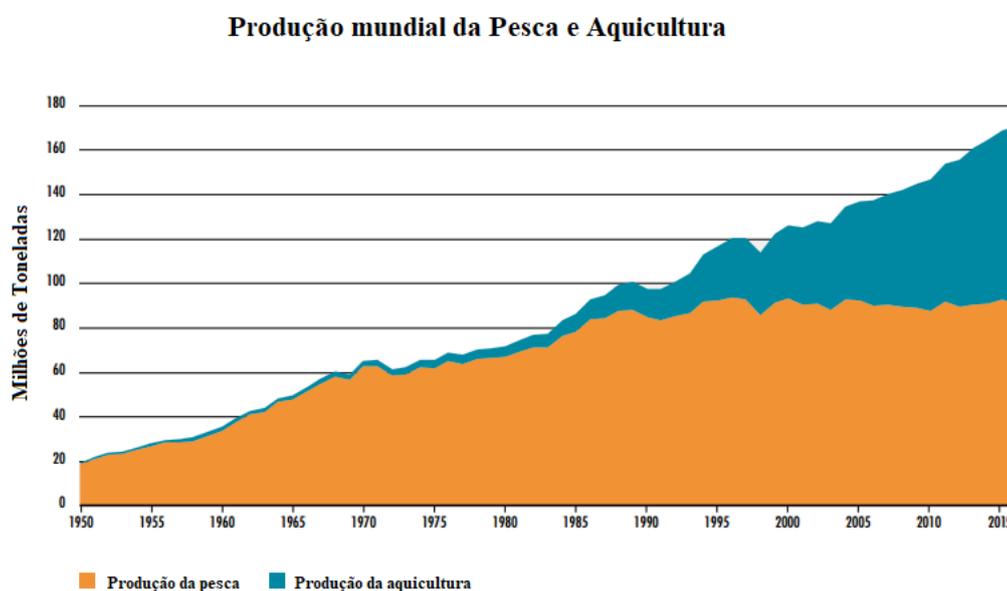


Fig. 1 Contribuição da pesca e aquicultura para a produção mundial de pescado em milhões de toneladas. Fonte: FAO (2018), modificado.

Assim, a aquicultura desempenha um papel importante na produção mundial de alimento para consumo humano e também na geração de renda e empregos diretos e indiretos. Segundo os dados do IBGE (2016), no Brasil a aquicultura é praticada em todos

os estados da federação pelo menos com um representante desta atividade, como a piscicultura, a carcinicultura, a malacocultura, entre outros, como a criação de rãs e jacarés.

A maior contribuição na produção aquícola brasileira é da piscicultura, com mais de 70% de representatividade da produção total em 2016, seguido pela carcinicultura (Fig.2).

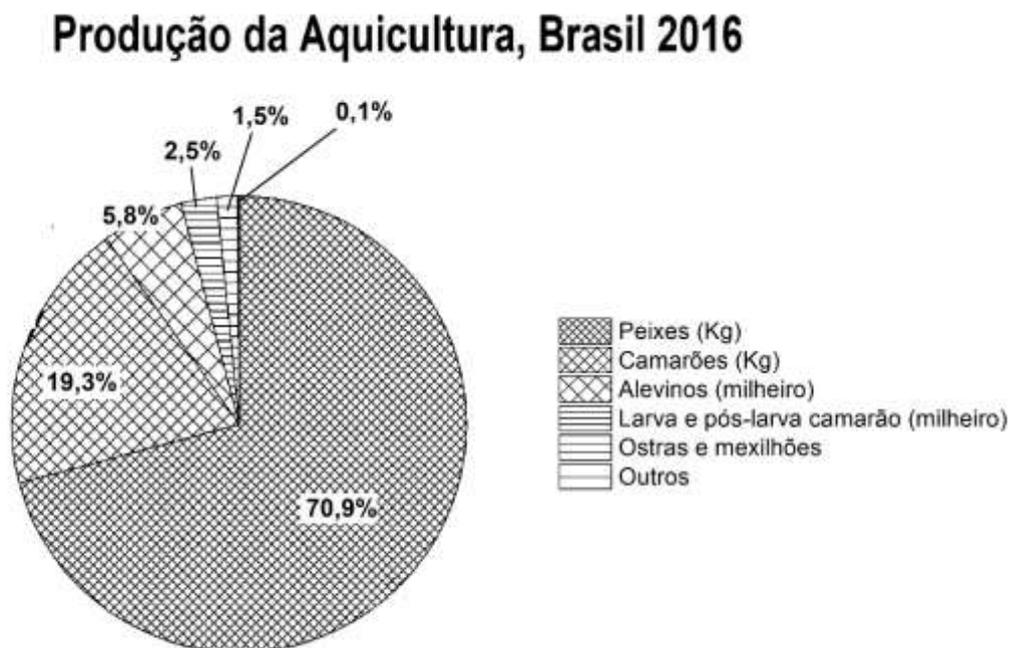


Fig. 2 Percentual representativo dos principais produtos da Aquicultura brasileira. Fonte de dados: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2016.

Os cinco grupos de peixes mais cultivados são Tilápia, Tambaqui, Tambacu e Tambatinga, carpa e as espécies do gênero *Pseudoplatystoma* (surubins) (IBGE, 2016). Destas espécies, tambaquis e surubins têm grande importância para a economia regional por se tratarem de espécies nativas da ictiofauna brasileira.

### 2.1.1 Piscicultura do surubim

Os surubins habitam as principais bacias hidrográficas da América do Sul, onde apresentam ampla distribuição (BUITRAGO-SUÁREZ e BURR, 2007). Peixes considerados nobres, as espécies do gênero *Pseudoplatystoma* ou surubins (FREIRE e CARVALHO FILHO, 2009), são animais de sabor suave, sem espinhas intramusculares e de bom rendimento de carcaça (FANTINI et al., 2013). Devido a estas características, os surubins vêm sofrendo nas últimas décadas com a sobrepesca, e seu efeito é agravado pelas alterações no ambiente natural causadas pela utilização humana (PRADO, 2010; MACHADO *et al.*, 2011).

Tais fatores vêm incentivando sua criação em cativeiro, a qual apresenta resultados satisfatórios em diferentes condições de cultivo, demonstrando boa adaptabilidade das técnicas de produção hoje existentes às necessidades da espécie (RIBEIRO e MIRANDA, 1997; SCORVO FILHO et al., 2008; LIRANÇO et al., 2011).

Atualmente, na piscicultura do surubim os espécimes híbridos vêm tomando notoriedade por serem considerados de melhor rendimento zootécnico que os espécimes nativos, além de mais dóceis e mais resistentes às infecções (GODINHO, 2007; PORTO-FORESTI *et al.*, 2008).

Segundo Pereira et al. (2015) existe uma grande aceitação do híbrido de *P. corruscans* x *P. reticulatum* no mercado internacional (Europa e Estados Unidos) devido ao excelente sabor do seu filé.

Desta forma, o cultivo de surubins tem grande potencial econômico em diversos setores como o de alimentos, de peixes de corte, de lazer em pesca esportiva e ornamentais (SILVA et al., 2015). No entanto, ainda há problemas que precisam ser resolvidos para tornar mais eficiente o processo de produção do surubim, reduzindo seu custo inclusive para o consumidor.

O principal gargalo da produção atualmente é a produção de alevinos, devido à expressiva mortalidade ocasionada pelo alto índice de canibalismo e à necessidade do treinamento dos alevinos para aceitação de ração (INOUE *et al.*, 2009).

O sistema de produção do surubim mais utilizado no Brasil é o de viveiro escavado, porém existem produtores que cultivam estes animais em tanques-rede e raceways (SILVA et al., 2015).

Já foi demonstrado em alguns estudos (SCORVO FILHO et al., 2008; LIRANÇO et al., 2011) que o surubim tem melhor desempenho zootécnico, com melhor taxa de conversão, crescimento e sobrevivência quando cultivado em viveiros escavados, possivelmente devido à maior adaptação da espécie a este ambiente de cultivo. Este comportamento também é comum em outras espécies cultivadas.

A densidade para estocagem é muito importante na produção de peixes e deve ser ajustada de acordo com os objetivos de produção, tipos de sistema adotado e espécie em cultivo (SILVA et al., 2015). Para o surubim, as melhores densidades para o cultivo em relação ao tipo de sistema são as seguintes:

- Para viveiro escavado, a densidade de melhor rendimento econômico foi de 0,8 peixes/m<sup>2</sup> cujos animais apresentaram peso médio ao final de 270 dias de 784 g (GOMIDES, 2011);
- Em tanques-rede, a melhor densidade depende principalmente dos parâmetros econômicos. Uma vez que altas densidades diminuem o peso final, porém aumentam a biomassa, deve ser levado em consideração o valor de retorno e a tendência do mercado para se decidir por uma maior ou menor densidade (COELHO e CYRINO, 2006; TURRA et al., 2009);
- E no sistema de recirculação (raceways), segundo Faria et al. (2011), que testaram as diferentes densidades em quatro fases do cultivo, na primeira e segunda etapa a melhor densidade foi de 40 peixes/m<sup>3</sup>. Já nas fases finais de cultivo a melhor densidade foi de 10 peixes/m<sup>3</sup> com peso final de 1,1Kg em 207 dias de cultivo.

O surubim é um animal de hábito noturno e todas as espécies do gênero são carnívoras. Estas características dificultam um pouco seu manejo, o que justifica a utilização dos híbridos, que dependendo dos parentais, são mais fáceis de adaptar a alimentação no período diurno e até a uma alimentação onívora (CAMPOS, 2010). Na Tabela 1 encontra-se uma proposta de manejo alimentar para o surubim segundo os dados de Kubitza et al. (1998) e Campos (2010).

Tabela 1. Manejo para alimentação de surubins.

<b>Peso g</b>	<b>Tamanho do Pellet (mm)</b>	<b>Taxa de alimentação (% peso vivo/dia)</b>	<b>Número de Lances /dia</b>
15 a 200	4	4 - 10	3 – 6
200 a 500	8		
500 a 1.000	15	1,5 - 3	2
1.000 a 2.000	15 a 30		

Fonte: (Kubitza et al., 1998; Campos, 2010), adaptado.

Como animais carnívoros, os surubins apresentam grande variabilidade no desenvolvimento, exibindo nos grupos com mesmo tratamento, discrepância no peso e tamanho dos indivíduos, principalmente em fases iniciais do desenvolvimento. Isso impõe a necessidade de repetidas classificações por tamanho para uniformização dos lotes, fator que influencia na comercialização destes animais (CAMPOS, 2010).

## 2.2 ELETROESTIMULAÇÃO

De formas diversas, a estimulação elétrica ou eletroestimulação (EE) vem sendo utilizada no tratamento de uma grande variedade de enfermidades, como no tratamento de feridas cutâneas, já demonstrado em experimentos com ratos (Ruiz-Silva 2006), que evidenciaram a eficácia da EE nestes casos.

A utilização desta ferramenta é bastante diversificada, podendo ser empregada no tratamento de pacientes com alguma paralisia, na preparação de atletas aumentando sua força muscular, no tratamento de dores crônicas e em doenças psiquiátricas como a depressão (COUBES et al., 2004; ECARD et al., 2007; DOMINGOS, 2010; FISHER et al., 2010; SALVINI et al., 2012).

Este tipo de utilização depende de grande especialização técnica, pois os efeitos da EE dependem de variáveis como intensidade e frequência do sinal emitido. Assim, é exigida

uma combinação específica de intensidade e frequência para cada tratamento e objetivo a ser atingido (SALVINI et al., 2012).

O sinal elétrico utilizado na EE (fig. 3), pode apresentar diversas formas, por exemplo, no formato da onda e número de fases da mesma (Ruiz-Silva, 2006).

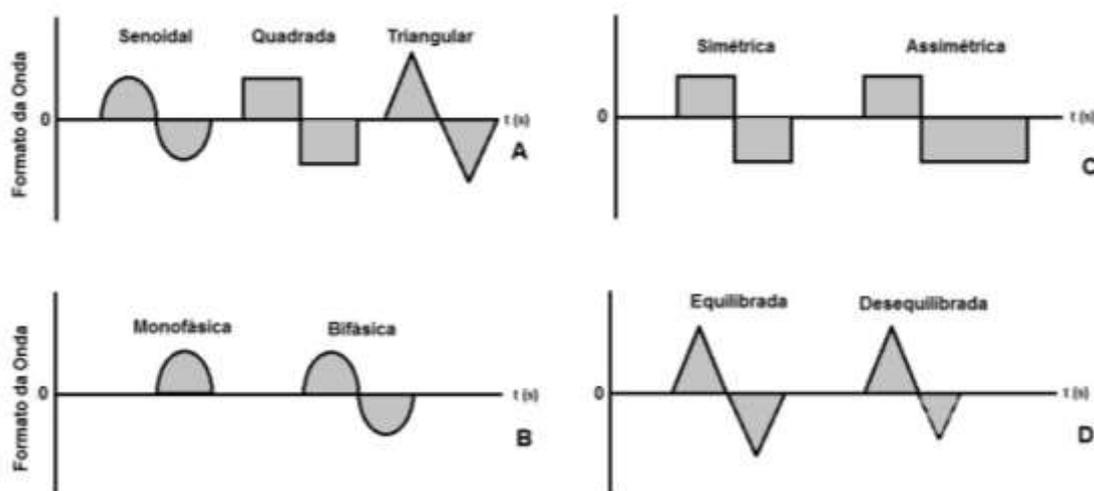


Fig. 3. Formas de ondas elétricas utilizadas em eletroestimulação. (A) segundo a forma; (B) classificação por números de fases; (C) classificação quanto à simetria na duração das fases e (D) classificação quanto ao equilíbrio da intensidade entre as fases da onda elétrica. Modificado de Ruiz-Silva (2006).

Uma possível utilização da EE é a formação de campos elétricos com a finalidade de repelir espécies cujas características fisiológicas possibilitam a detecção destes campos, como é o caso dos elasmobrânquios. Para este fim são desenvolvidos diversos dispositivos que emitem campo elétrico com características variadas, alguns produzem descargas pulsadas de alta voltagem ou altas frequências (LOCKLEAR, 2007; BROAD et al., 2010).

A utilização da EE para modular comportamentos em animais sofre as mesmas limitações que a sua utilização no tratamento de enfermidades. Assim, para se alcançar o objetivo desejado é preciso conhecer todas as variáveis do sinal elétrico específico para cada espécie e para cada resposta objetivada, ou seja, um determinado sinal elétrico pode ser antagonista para uma espécie e agonista para outra.

Em nosso estudo anterior (Silva 2014) foi testada a EE com três frequências de campo elétrico 10, 20 e 30 Hz em peixes da ordem siluriformes, mais especificamente surubins, e verificamos que estes animais, estimulados com a frequência de 30 Hz, apresentavam

modulação positiva do comportamento alimentar, com aumento do consumo e melhor desempenho zootécnico, ganho em peso e comprimento total que animais controle sem EE.

### **2.2.1 Eletrorrecepção**

A eletrorrecepção é uma característica sensorial que permite aos indivíduos que a possuem detectar campos elétricos fracos. Um exemplo já citado são os Elasmobrânquios, mas não apenas estes: os Siluriformes, os Gymnotiformes, os Mormyriiformes e alguns anfíbios e monotremados também possuem tal característica (BULLOK et al., 1982; ZAKON, 1988; KRAMER, 1996; PETTIGREW, 1999).

Como os outros sentidos, a eletrorrecepção possui variadas funções e grande influência no comportamento dos animais. Em geral este sistema sensorial é utilizado para detecção de presas, comunicação intraespecífica e para a eletrolocalização (BULLOK et al., 1982; FREITAS et al., 2006). Esta última é uma função similar à ecolocalização ou o biosonar dos golfinhos e morcegos, respectivamente, sendo utilizada apenas por grupos mais especializados como Gymnotiformes e Mormyriiformes.

Os órgãos envolvidos na eletrorrecepção são os sistemas ampulário e tuberoso (fig. 4). As principais diferenças funcionais desses tipos de eletrorreceptores estão na faixa de sensibilidade e na frequência de sinal que ambos podem detectar, sabendo ainda que tal característica muda conforme a idade, sexo e espécie (BULLOK et al., 1982; NOGUEIRA, 2006). Assim, para que a estimulação elétrica tenha o resultado desejado é imprescindível o prévio conhecimento da biologia do grupo alvo e sua sensibilidade à frequência e amplitude empregadas no estímulo.

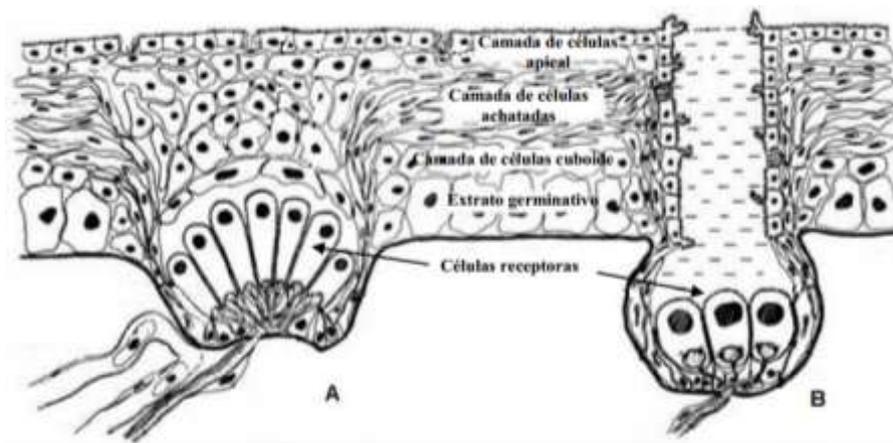


Fig. 4. Eletrorreceptores: Tuberoso (A) e Ampulário (B). Nogueira (2006), modificado.

Recentemente vários estudos têm demonstrado que a eletrorrecepção está mais difundida do que se sabia; tais estudos indicam que mamíferos aquáticos como golfinhos e focas podem ter esta característica sensorial (CZECH-DAMAL et al., 2012). Estas descobertas reforçam a importância deste sistema sensorial para a adaptabilidade de espécies às diversas condições ambientais, principalmente na busca por alimento. Em seu estudo, Czech-Damal et al. (2012) determinou a sensibilidade eletrorreceptiva do golfinho da Guiana (*Sotalia guianensis*), que corresponde a  $4,6 \mu\text{V}/\text{cm}^2$ , que é comparável a dos ornitorrincos (*Ornithorhynchus anatinus*). Para os siluriformes, segundo os diversos estudos de sua eletrorrecepção, a sensibilidade elétrica deste grupo está concentrada na faixa de frequência que vai de 1 a 30 Hz e a intensidade mínima de  $13 \mu\text{V}/\text{cm}^2$  (ROTH, 1968; PETERS e BUWALDA, 1972; ASANO e HANYU, 1987; HANIKA e KRAMER, 2000; COLLIN e WHITEHEAD, 2004), a depender da espécie e certamente do ambiente no qual evoluiu. Os estímulos elétricos podem ser interpretados desde a presença de uma possível presa ou de um provável predador, dependendo das características do sinal. Isso pode gerar respostas fisiológicas distintas, como um estado de alerta similar ao estresse (COOMBS et al. 2002; COLLIN e WHITEHEAD, 2004; ARAÚJO, 2011).

### 2.3 ESTRESSE EM PEIXES CULTIVADOS

Podemos considerar o estresse como uma condição em que o equilíbrio fisiológico encontra-se perturbado por um estímulo estressor, que pode ser intrínseco ou extrínseco. Os mecanismos de controle desta resposta são muito similares entre os animais, apenas com pequenas particularidades entre os grupos (FAGUNDES, 2009).

Na piscicultura ocorrem vários e inevitáveis procedimentos considerados estressores para os animais cultivados, tais como as repetitivas classificações por tamanho, os procedimentos para reprodução (que exigem o confinamento e captura dos animais), como também a inoculação de hormônios, etc. Tais procedimentos podem causar alterações fisiológicas prejudiciais e às vezes irreversíveis, levando à morte do animal (WENDERLAAR BONGA, 1997).

Alguns outros fatores que podem levar ao estresse em peixes durante o cultivo, como alterações na qualidade da água (parâmetros físico-químicos), a densidade de estocagem (que aumenta as disputas por alimento e espaço), as características individuais e específicas dos indivíduos, o parasitismo, etc. (WENDERLAAR BONGA, 1997).

Em resposta aos estímulos estressores ocorrem alterações que são classificadas em respostas primárias, secundárias e terciárias, e cada qual possui características que as definem (FAGUNDES, 2009).

Na resposta primária é marcante o aumento dos níveis plasmático de catecolaminas e cortisol (PANKHURST et al. 2008).

Na resposta secundária registram-se mudanças metabólicas como alteração na glicemia, no glicogênio hepático e muscular e alterações hematológicas, como variações no hematócrito e no número de linfócitos, mas também, observam-se as alterações no balaço hidromineral, que afetam principalmente o equilíbrio osmótico do organismo.

Por fim, na resposta terciária, o somatório das respostas primárias e secundárias leva ao aparecimento de sintomas, tais como queda no desempenho produtivo (estagnação no peso e crescimento) e o aumento da suscetibilidade dos animais a doenças (FAGUNDES, 2009).

Segundo o estudo de Pankhurst et al. (2008), existe uma forte relação entre os altos níveis plasmáticos de cortisol e a redução no consumo alimentar em peixes, sendo, os

estímulos estressores, fortes moduladores exógenos dos níveis plasmáticos de cortisol nos vertebrados.

Esta relação do cortisol com o consumo alimentar tem efeito marcante na piscicultura, pois como já foi mencionado, leva a redução do desempenho produtivo de diversas espécies, com o aumento da mortalidade e a redução da taxa de crescimento.

O estudo realizado por Fagundes e Urbinati (2008), com surubins submetidos a estímulos estressores como captura e exposição aérea, transporte e variáveis períodos de luz, demonstrou que as mudanças hematológicas e metabólicas ocorridas nesta espécie são bastante similares às demais espécies cultivadas, quando expostas a estímulos estressores de forma aguda (resposta primária e secundária).

No entanto, após períodos prolongados de estresse, as respostas fisiológicas dependem das características metabólicas de cada espécie, que, neste caso, são preferencialmente catabólicas e servem para o suprimento energético, na tentativa de reequilibrar as alterações fisiológicas impostas (FAGUNDES e URBINATI, 2008).

Isto sugere que em longo prazo o estímulo estressor levará também a um aumento dos níveis de radicais livres e possivelmente ao estresse oxidativo, uma vez que é exigida maior atividade mitocondrial.

O estresse oxidativo é evidenciado pelas lesões causadas por espécies reativas de oxigênios (ROS, do inglês) em proteínas, lipídios e DNA. As alterações metabólicas causadas pelos agentes estressores levariam ao desequilíbrio redox, onde a formação de ROS ultrapassa a capacidade defensiva (antioxidante) das células do organismo, alterando seu funcionamento (AMADO et al., 2009). Isso afeta diretamente o bem-estar dos animais durante o cultivo, mesmo que em condições normais exista a formação de ROS por diversos tecidos como, por exemplo, cérebro, fígado e tireoide, onde estas moléculas exercem importante papel funcional.

## 2.4 HEMATOLOGIA DE PEIXES

O estudo hematológico em peixes vem demonstrando grande eficiência na determinação de doenças e do estado de saúde destes animais (TAVARES-DIAS et al., 1999; DAVIS et al., 2008). Obviamente ainda existem algumas lacunas a serem preenchidas até

que esta ferramenta esteja no mesmo patamar que se encontra em relação à sua precisão no diagnóstico de mamíferos, porém para algumas patologias esta ferramenta apresenta grande precisão e rapidez (ARAÚJO et al., 2011).

As características hematológicas dos peixes são bastante diversificadas quantitativa e qualitativamente entre si, e muito mais, se comparada com outros grupos de vertebrados como os mamíferos. Isso se deve principalmente pela gama de variáveis ambientais (físicas e químicas) as quais este grupo está submetido.

Estas variações impõem certa pressão seletiva formando diferentes adaptações aos diversos habitats (MELO et al., 2007).

As diferenças morfológicas do sangue de peixes em relação a mamíferos estão na forma dos eritrócitos (células vermelhas), que são nucleados e ovais, mas também nas células do sistema imune (leucócitos), que apresentam alguns tipos distintos daqueles encontrados nos mamíferos. Um exemplo é o leucócito granular (LG), com forte reação ao ácido periódico de Schiff (PAS) ou LG-PAS, só ocorrente em peixes (CARVALHO et al., 2009; TAVARES-DIAS et al., 2009).

Devido à variedade na forma e nos constituintes sanguíneo dos peixes, existe a necessidade de estabelecer valores de referência para cada espécie de interesse da piscicultura.

Tavares-Dias et al., (2009) descreve valores de referência para parâmetros eritrocitários de algumas espécies (tabela 2). Nesta tabela ficam exemplificadas as variações ocorrentes entre as espécies, o que é bastante comum neste grupo de vertebrados. Estes valores de referência são relevantes tendo em vista que alterações nestes parâmetros podem indicar situação de parasitismos e estresses nos animais.

Tabela 2. Valores de referência para quantificação de eritrócitos e hematócrito para espécies cultivadas.

Parâmetros	Espécies				
	Valores: Mínimo/Máximo				
	Tambaqui	Matrinxã	Pirarucu	Surubins	Tilápias
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> µL)	1,250 - 2,960	1,130 - 4,530	0,980 - 3,420	1,350 - 2,820	0,710 - 2,420
Hematócrito (%)	26,0 - 38,0	23,0 - 52,0	20,0 - 46,0	25,0 - 41,0	15,0 - 44,0

Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Matrinxã (*Brycon amazonicus*), Pirarucu (*Arapaima gigas*), Surubins (*Pseudoplatystoma* sp.) e Tilápias (Subf. Pseudocrenilabrinae) adaptado de Tavares-Dias et al. (2009).

Também podem ser indicadores de estresse a redução do percentual de linfócitos e aumento dos neutrófilos, segundo Tavares-Dias et al. (2009), que confirmou a eficácia da hematologia como ferramenta para estudos da sanidade de peixes.

Em seu estudo, Davis et al. (2008) relacionou o perfil leucocitário com o estresse e demonstrou que é possível evidenciar o estresse hormonal (aumento nos níveis de cortisol) por este parâmetro sanguíneo, fazendo a relação neutrófilo/linfócito (N/L). Os autores relataram que em situação de estresse ocorre aumento no número de neutrófilos e redução no de linfócitos, o que faz a relação N/L apresentar valores acima de 1 e concluíram afirmando que esta relação pode ser utilizada para mensurar o estresse nestes vertebrados.

Todos estes fatores estressores podem levar a alterações no comportamento alimentar em vertebrados. Como já é conhecido, existe um sistema complexo de controle deste comportamento regulado por diversos hormônios que são a chave para a fisiologia alimentar também nos peixes.

### 3 PRINCIPAIS HORMÔNIOS CEREBRAIS E GASTROINTESTINAIS NO CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR EM PEIXES

*Luciano Clemente da Silva<sup>a,b</sup>; Caio Rodrigo Dias de Assis<sup>a,b</sup>; Valdir Luna da Silva<sup>a</sup>; Ranilson de Souza Bezerra<sup>b</sup>*

<sup>a</sup>Laboratório de Fisiologia Comparada e Comportamento Animal, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Recife, Pernambuco; <sup>b</sup>Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica - UFPE. [luciano.clemente@ufpe.br](mailto:luciano.clemente@ufpe.br)

#### RESUMO

O comportamento alimentar apresenta várias vias de controle que estão interligadas. Suas ações podem ser sinérgicas, agonistas ou antagonistas, o que gera uma grande complexidade nos mecanismos de regulação. Alguns hormônios são elencados como participantes deste controle da ingestão de alimento pelos vertebrados, como o NPY, orexinas A e B, AgRP e grelina, todos com ação estimulante da alimentação (orexígenos), e os de ação inibitória da alimentação (anorexígenos) como CART, leptina, CCK e  $\alpha$ -MSH. O conhecimento em relação aos hormônios controladores da ingestão alimentar em peixes vem sendo ampliado na última década e trabalhos com diferentes abordagens estão sendo desenvolvidos, porém ainda há grandes lacunas a serem preenchidas. Assim, nesta revisão temos como objetivo reunir as informações atuais referentes ao controle do comportamento alimentar em peixes.

Palavras chave: Peptídeos; controle alimentar; anorexígenos; orexígenos

#### INTRODUÇÃO

O comportamento alimentar é muito complexo e regido por uma gama de mecanismos endógenos que estimulam (orexígenos) ou inibem (anorexígenos) este comportamento. Tais mecanismos são compostos pela interação das ações de hormônios/peptídeos, com grande atividade biológica e muitas vezes com múltiplas funções. Estas moléculas são sintetizadas e secretadas em diferentes tecidos nos vertebrados

(MACDONALD e VOLKOFF, 2009; PETERSON et al. 2012; VOLKOFF, 2016; PITTS e VOLKOFF, 2017). Algumas características e estados metabólicos também influenciam o apetite e saciedade nos vertebrados.

Como exemplo podemos citar o gênero (macho/fêmea) e o estado reprodutivo, que são fatores endógenos. No entanto não apenas fatores endógenos são responsáveis pela complexidade do comportamento alimentar, há também a ação de fatores ambientais como temperatura, ciclo dia/noite, disponibilidade do alimento, pH do ambiente, densidade de estoque, etc. (HOSKINS e VOLKOFF, 2012).

Uma grande quantidade de peptídeos orexígenos e anorexígenos são sintetizados no cérebro e no trato gastrointestinal, mas também na pele, rins, brânquias e células adiposas.

Os principais peptídeos com ação estimulante sobre a ingestão de alimentos conhecidos em vertebrados são o neuropeptídeo Y (NPY), orexina A (OXA), orexina B (OXB), Grelina e proteína relacionada à cotia ou Agouti-related protein (AgRP), sendo NPY o mais potente orexígeno hipotalâmico atualmente conhecido (MATSUDA et al., 2012; YOKOBORI, et al., 2012).

Também existem aqueles que possuem ação anorexígena (efeito de saciedade), como o peptídeo de Transcrição Regulada por Cocaína e Anfetamina (CART), hormônio derivados do Pró-opiomelanocortina (POMC), colecistocinina (CCK) e leptina (MATSUDA et al., 2012).

Em peixes já foram identificados vários peptídeos e hormônios similares aos de mamíferos, anfíbios e aves, tanto na sequência de aminoácidos quanto na ação biológica, inclusive com uma taxa de conservação nos genes que codificam essas moléculas bastante elevada (LARHAMMAR, 1996; MACDONALD e VOLKOFF, 2009; LI et al., 2012), como ocorre com os NPY, OXA e OXB, CCK e CART.

Vários trabalhos demonstraram que o NPY é também, nos peixes, um potente estimulador do apetite, com possível envolvimento na reprodução deste grupo (WU et al., 2012; LI et al., 2012). Porém, alguns peptídeos que estão envolvidos no controle da alimentação, já bem conhecidos em mamíferos, ainda não foram identificados em peixes ou, quando identificados, sua ação é controversa àquela apresentada de uma espécie para outra (HOSKINS e VOLKOFF, 2012).

Nesta revisão buscou-se reunir o conhecimento atual sobre os principais hormônios/peptídeos envolvidos no controle da ingestão alimentar em peixes.

## PEPTÍDEOS HIPOTALÂMICOS

### Orexígenos

#### *Neuropeptídeo Y (NPY)*

NPY é um peptídeo formado por 36 aminoácidos (aa) e seu primeiro relato foi no cérebro de porco (TATEMOTO et al., 1982). Este peptídeo é sintetizado por grupos celulares do hipotálamo, telencéfalo, amígdala, hipocampo e córtex cerebral, mas também por outros tecidos e órgãos como baço, pele, rins, pâncreas e tireóide, sendo encontrado em abundância no sistema nervoso (central e periférico) e no intestino (LI et al., 2012; MATSUDA et al., 2012; LI, et al., 2016).

Este neuropeptídeo faz parte de uma grande família de peptídeos juntamente com Polipeptídeo Pancreático (PP), Peptídeo YY (PYY) e o Peptídeo Y (PY) (LI, et al., 2016). O estudo de Murashita et al. (2009) demonstrou uma alta conservação da estrutura 3D do NPY e de outros neuropeptídeos como CART e AgRP (fig. 5), do Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) ao de humanos, entre outros vertebrados.

Vários estudos demonstram que injeções tanto intracerebroventricular (ICV) quanto intraperitoneais (IP) de NPY, com concentrações a partir de 1 µg/g de peso corporal, são capazes de aumentar a ingestão alimentar e o crescimento em peixe-dourado (*Carassius auratus*), peixe-zebra (*Danio rerio*), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), salmão e tilápia vermelha (*Sarotherondon hornorum*), com uma forte relação dose-resposta.

O jejum prolongado também demonstrou ser um forte estímulo para o aumento de expressão de mRNA do NPY e, conseqüentemente, aumento significativo de seus níveis no hipotálamo de teleósteos (MATSUDA et al., 2011; MATSUDA et al., 2012; YOKOBORI, et al., 2012; LI, et al., 2016).

Também foi observado recentemente, que administração oral de NPY pode causar respostas no comportamento alimentar de garoupas (*Epinephelus coioides*) (WU et al., 2012), demonstrando que este peptídeo é absorvido pelo trato gastrointestinal, mantendo sua ação biológica.

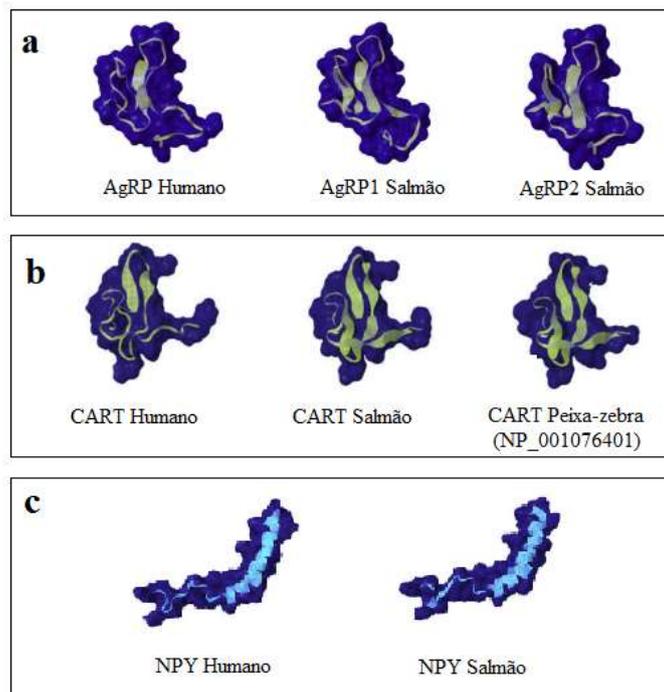


Fig. 5. Estrutura Tridimensional dos peptídios, em a) AgRPs, e b) CARTs de humano, salmão do atlântico e zebrafish, em c) NPYs de humano e salmão do atlântico. Adaptado de Murashita et al. (2009).

Em mamíferos foram identificados 5 receptores para o NPY os Y1, Y2, Y4, Y5 e Y6. Estes receptores estão ligados a proteínas G e sua ação é intermediada por aumento de adenosina monofosfato de cadeia cíclica (cAMP) intracelular.

A ação orexígena do NPY se faz pela interação com os receptores Y1 e Y5, tanto em mamíferos quanto em algumas espécies de peixes, como o peixe-dourado. Isto fica evidente quando esta ação orexígena é bloqueada pelo antagonista do receptor Y1, BIBP-3226 (LI, et al., 2016).

Atualmente já existem evidências que os receptores Y2 e Y4 estão ligados a respostas emocionais em mamíferos (EDELSBRUNNER et al., 2009; TASAN et al., 2009). Em peixes, a interação do NPY com o receptor Y4 leva a um estado similar a ansiedade no peixe-dourado (MATSUDA et al., 2011), sugerindo outras funções além do controle da ingestão alimentar.

Há várias evidências da ação regulatória do NPY sobre a síntese de alguns hormônios, estimulando ou inibindo sua liberação, tais como os hormônios somatotrópicos, fator de crescimento similar à insulina do tipo 1 (IGF-1) e hormônio do crescimento (GH), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), CCK e CART (LI et al., 2012; WU et al., 2012; MANCERO et al., 2013; ZHOU et al., 2013).

Em lampreias, família Petromyzontidea, terminais neuronais NPY-imunorreativos estão constantemente associados a células Tirosina hidroxilase (TH)-imunorreativas. Esta é uma enzima chave para síntese de dopamina. Tal ocorrência sugere a modulação de vias dopaminérgicas pelo NPY (BARREIRO-IGLESIAS et al., 2010).

Há também evidências da regulação da reprodução e do comportamento sexual feito por hormônios reguladores do apetite nos vertebrados (CELIK et al., 2015), e em uma espécie de ciclídeo (*Cichlasoma dimerus*) foi relatado a influência do NPY na secreção hormonal das gônadas (DI YORIO et al., 2015).

### *Orexinas /Hipocretinas*

Orexina A (OXA) e orexina B (OXB) ou como também são chamadas hipocretina 1 e hipocretina 2, são peptídeos recentemente descobertos de forma simultânea por dois grupos de pesquisa independentes, cujo seu primeiro relato foi em 1998, isoladas de cérebros de ratos.

Em mamíferos, as orexinas são um potente estimulante do apetite; estas são formadas pela clivagem de um polipeptídio precursor, o prepro-orexina, constituído por 130-aa. Após a clivagem a OXA apresenta 33-aa enquanto a OXB 28-aa (YOKOBORI et al., 2011; ZAWILSKA et al., 2013).

Atualmente, várias pesquisas caracterizaram o gene que codifica o prepro-orexina em outros grupos de vertebrados além dos mamíferos, tais como peixes, anfíbios e aves (MACDONALD e VOLKOFF, 2010; WONG et al., 2011).

Em teleósteos a OXA possui uma cadeia mais longa, que pode variar de tamanho dependendo da espécie, como é observado no peixe-zebra e no peixe-dourado, onde OXA é formado por 47-aa enquanto que no bacalhau do atlântico (*Gadus morhua*) OXA apresenta 50-aa (WONG et al., 2011).

A distribuição dos neurônios orexinérgicos em peixes é bastante variada entre as espécies, sendo as principais regiões cerebrais contendo células OXs-imunorreativas o núcleo supraquiasmático, a área pré-óptica, o núcleo paraventricular posterior e o núcleo túbero lateral. Destas regiões partem numerosas projeções de fibras para outras regiões

cerebrais tais como núcleo da rafe, locus ceruleus e grupamentos neuronais dopaminérgicos e histaminérgicos (KOJIMA et al., 2009).

Injeções ICV de orexinas (OXs) aumenta o consumo alimentar e a atividade locomotora em peixe-zebra e no peixe-dourado, com forte relação dose-resposta (PANULA, 2010; ABBOTT e VOLKOFF, 2011). Também há relatos do aumento da expressão de mRNA para OX no hipotálamo do bacalhau do atlântico próximo a períodos de alimentação, que são mantidos elevados até períodos de descanso noturno, sugerindo um controle simultâneo de dois mecanismos fisiológicos (HOSKINS e VOLKOFF, 2012), como mostra a fig. 6.

Foram identificados até o momento dois receptores para OXs, o  $OX_1R$  e o  $OX_2R$ . O primeiro apresenta maior afinidade com a OXA enquanto o segundo liga-se tanto a OXA quanto a OXB com a mesma afinidade (WONG et al., 2011). Ambos os receptores estão acoplados a proteínas G, que podem ser dos tipos excitatória, inibitória ou ativadora da fosfolipase C (WONG et al., 2011).

Os vários mecanismos de ação da proteína G às quais os receptores  $OX_1R$  e  $OX_2R$  estão ligados permitem às OXs estarem envolvidas na regulação do comportamento alimentar, no ciclo vigília/sono e na reprodução em mamíferos, mas com vários estudos já demonstrando estas ações também em peixes (YOKOBORI et al., 2011; WONG et al., 2011; HOSKINS e VOLKOFF, 2012).

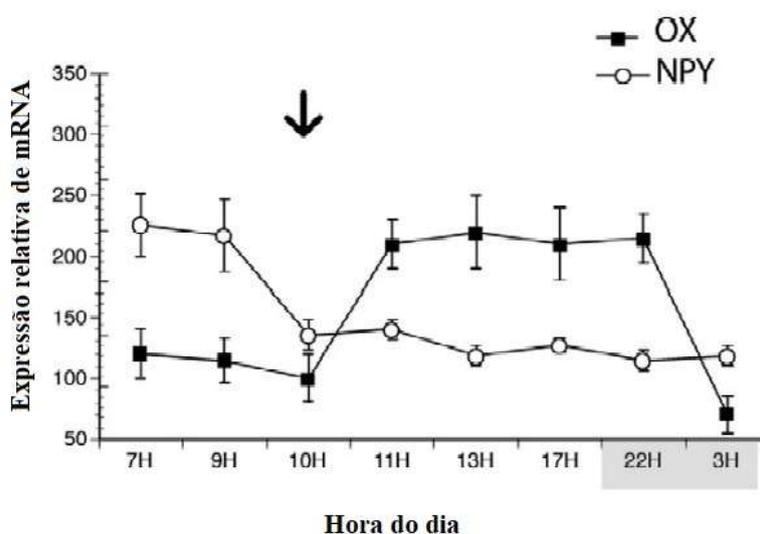


Fig. 6. Expressão de mRNA OX vs. mRNA de NPY no hipotálamo de bacalhau do Atlântico. O nível de expressão de OX aumenta próximo às refeições e permanece elevado para diminuir apenas durante o período de repouso noturno. Seta indica tempo de alimentação (10:00h). Adaptação do Hoskins e Volkoff, (2012).

No peixe-zebra, machos dominantes apresentam níveis de expressão de OXs mais elevados que em animais subordinados, sugerindo que maiores níveis de OXs induzem aumento na atividade locomotora e no estado de vigília dos animais dominantes (PAVLIDIS et al., 2011).

Alguns estudos demonstraram a interação das OXs com outros peptídeos na regulação do apetite, tais como NPY e grelina. Estes estudos apontam OXA como sendo mais potente em aumentar a ingestão alimentar que OXB, e antagonistas do OX<sub>1</sub>R inibem a ação orexigênica da grelina e NPY, sugerindo as OXs como moduladores da ação destes peptídeos no controle da ingestão de alimentos (KOJIMA et al., 2009).

No controle do ciclo sono/vigília, estudos demonstram que OXs agem em dois centros específicos. No centro de excitação aumentam a frequência de disparos desses neurônios estimulando o estado de vigília, já no centro de sono estimulam a liberação de melatonina, que já é conhecido como potente estimulador do sono em peixes.

Estas ações são complexas e de difícil entendimento devido a variações em diferentes fases do desenvolvimento (larvas e peixes adultos), necessitando de mais esforço para elucidação de questões neste contexto (WONG et al., 2011).

Existe ainda, evidências da interação de outros hormônios, como o hormônio liberador de tireotrofina (TRH), CART e de vias dopaminérgicas, com as OXs na regulação do comportamento alimentar e na atividade locomotora em peixes (ABBOTT e VOLKOFF, 2011; VOLKOFF, 2013).

A glicopenia e o jejum prolongado aumentam a atividade de neurônios secretores de OXs, da mesma forma dietas ricas em proteína e pobres em carboidratos aumentam a atividade locomotora em mamíferos. A glicose hiperpolariza os neurônios orexinérgicos inibindo sua ação, enquanto que aminoácidos dietéticos despolarizam estes neurônios aumentando sua atividade (KUKKONEN, 2012).

A diversidade funcional das OXs já é bastante conhecida, porém existem pontos que necessitam de esclarecimento. Com isso, a grande parte dos trabalhos publicados atualmente dividem seus focos principalmente nas ações das OXs no controle da ingestão alimentar e no ciclo sono/vigília (PANULA, 2010; ELBAZ et al., 2013).

### *Agouti-related protein (AgRP)*

O AgRP é um peptídeo orexígeno produzido e liberado simultaneamente com o NPY, mais especificamente por neurônios localizados no hipotálamo e pituitária. Sua ação estimulante do apetite está associada à interação com os receptores de melanocortinas (hormônio adrenocotrocotrófico-ACTH, hormônios estimuladores de  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -melanócitos  $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -MSH e  $\gamma$ -MSH), bloqueando a ação destas nos receptores MC3R e MC4R (WAN et al., 2012; VOLKOFF, 2016).

Estes dados sugerem que a ação orexígena do AgRP é efetivada pela inibição no sistema das melanocortinas, que é anorexígeno.

Os genes que codificam o AgRP já foram recentemente identificados em aves e peixes sendo, neste último, relatadas duas formas que codificam os AgRP 1 e AgRP 2, em peixe-zebra e salmão, enquanto, peixe-dourado e truta arco-íris apresentam apenas uma única forma do gene (WAN et al., 2012).

Ambas as formas detêm alto nível de conservação estrutural, como mostrado acima (fig. 5), e se assemelham a de outros vertebrados (MURASHITA et al., 2009). Esta é uma evidência da ação orexígena do AgRP também em peixes, uma vez que a estrutura de proteínas está diretamente relacionada com sua função biológica. O AgRP é um forte estímulo à ingestão alimentar em Cypriniformes, com o jejum aumentando a expressão de AgRP em peixe-dourado e peixe-zebra (VOLKOFF, 2016;). Por outro lado, o jejum por período de sete dias levou à redução da expressão de AgRP 1 no cérebro de salmão (MURASHITA et al., 2009). Da mesma forma, Wan et al. (2012) observaram redução na expressão das duas formas de AgRP em carpa comum (*Cyprinus carpio*) após três dias de jejum, o que evidencia um papel anorexígeno, demonstrando uma relação espécie específica do AgRP na regulação do apetite em peixes. Isto indica também a necessidade de ampliar os esforços nas pesquisas na tentativa de elucidar a ação desse peptídeo no controle do comportamento alimentar de peixes, ampliando não apenas as espécies estudadas, mas também os grupos de vertebrados incluindo os répteis, os anfíbios e as aves.

## **Anorexígenos**

### *Peptídeo de transcrição regulada por cocaína e anfetamina (CART)*

O CART é um peptídeo primeiramente isolado em cérebros de ratos após a administração aguda de cocaína ou anfetamina. Isso sugere uma possível ação mediadora do CART para os efeitos de drogas psicoestimulantes. Suas funções biológicas conhecidas estão associadas à regulação da ingestão alimentar, da atividade locomotora e à ação neuroprotetora nos vertebrados (ZHANG et al. 2012). Outros estudos mostram a relação do CART com diferentes sistemas, como o dopaminérgico, o GABAérgico e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal relacionado com o estresse. Há, ainda, relatos da expressão de receptores para leptina em neurônios secretores de CART, o que pode demonstrar uma relação sinérgica nos efeitos anorexígenos de ambos os peptídeos (HUBERT et al., 2008; LESHAN et al., 2010; XU et al., 2010; ZHANG et al. 2012).

Este peptídeo é considerado anorexígeno nos mamíferos e aves (VOLKOFF, 2013). Em peixes, injeção ICV de CART reduz a ingestão alimentar em peixe-dourado e o jejum reduz a expressão do mRNA do CART no cérebro de peixe-dourado, peixe-zebra, bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), salmão do atlântico, bacalhau do atlântico e carpa comum (NISHIO et al., 2012; WAN et al., 2012; VOLKOFF, 2013). Por outro lado, a alimentação aumentou a expressão de CART no cérebro do bagre do canal (PETERSON et al. 2012). Essas evidências apontam para uma ação biológica do CART em peixe similar à conhecida em mamíferos e aves.

Foram identificadas duas formas do CART (CART 1 e CART 2) em peixe-dourado e evidências apontam para o CART 1 como a principal forma envolvida na regulação do apetite nesta espécie (VOLKOFF e PETER, 2001). A quantidade de genes que codificam o CART é bastante variável dentro dos vertebrados e entre as espécies de peixes. No peixe-zebra foram identificados quatro genes, o que difere do peixe-dourado e da carpa comum com apenas dois genes (NISHIO et al., 2012; WAN et al., 2012).

O CART também exerce papel na atividade locomotora em ratos e nos peixes. Injeções cerebrais aumentam a atividade exploratória e a agressividade em ambos, e altas doses de CART causa convulsões e tremores nestas espécies, não existindo, no entanto,

evidências da mediação dos efeitos da anfetamina pelo CART em peixes (VOLKOFF, 2013).

Grande parte do conhecimento sobre a ação biológica e mecanismos aos quais o CART está envolvido está restrito aos mamíferos. Deste grupo há um vasto material literário evidenciando os diversos papéis e as interações do CART em diferentes vias neuronais, como a dopaminérgica e a GABAérgica, modulando as respostas aos efeitos de drogas psicoestimulantes. Isto revela a necessidade de mais estudos desses mecanismos em outros grupos de vertebrados menos visados, como répteis, anfíbios e peixes, uma vez que ainda é relativamente escasso os grupos de pesquisa dedicados a elucidar tais questões. Vale salientar que os poucos grupos dedicados a estudar a ação deste neuropeptídeo em peixes têm contribuído de modo significativo para elevar o nível de conhecimento sobre o controle do comportamento alimentar nestes animais.

#### *POMC – Melanocortinas (ACTH, $\alpha$ -, $\beta$ - e $\gamma$ -MSH)*

As melanocortinas são peptídeos derivados de uma única molécula precursora, o Pró-opiomelanocortina (POMC). Estes peptídeos exercem forte inibição do apetite, sendo este efeito mediado pela interação com dois dos cinco receptores (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R e MC5R), todos ligados à proteína G. Destes, o MC4R foi identificado em várias espécies de peixes, como o peixe-dourado, o peixe-zebra e a truta arco-íris, sendo apontado como a principal via de sinalização das melanocortinas na regulação do apetite (SANCHEZ et al., 2009; SCHJOLDEN et al.; 2009; WAN et al., 2012).

O POMC é expressado principalmente por neurônios da glândula pituitária, mas também por neurônios do núcleo arqueado (ARC), e em peixes pelo núcleo tuberal lateral, que equivale ao ARC de mamíferos (CÉRDA-REVERTER et al., 2011). Injeções ICV de um agonista de  $\alpha$ -MSH induz redução da ingestão alimentar em Cypriniformes e, ainda, injeção de um agonista do receptor MC4R (Melanotan II) reduz a expressão no hipotálamo do NPY (KOJIMA et al., 2010), o que sugere que o efeito anoréxico das melanocortinas é parcialmente mediado pela inibição da ação orexígena do NPY.

Segundo os dados de Kojima et al. (2010) existe uma íntima relação entre neurônios contendo NPY e neurônios que contém  $\alpha$ -MSH. Injeções IP, tanto de POMC quanto de  $\alpha$ -

MSH, reduzem a ingestão alimentar do Salmão, mas animais transgênicos com maior expressão de GH não apresentaram alterações no padrão alimentar depois de tratados com  $\alpha$ -MSH (WHITE et al., 2016), sugerindo que a ação desta melanocortina pode ser inibida por alta expressão de GH. Este hormônio reduz a expressão de POMC baixando os níveis de  $\alpha$ -MSH, mas também há evidências que o GH estimula a expressão de peptídeos orexígenos como o AgRP, que é um antagonista do receptor MC4R, impedindo a ação do  $\alpha$ -MSH (SANCHEZ et al., 2009; WHITE et al., 2016).

Em peixe-dourado existem evidências da interação de melanocortinas, como o hormônio concentrador de melanina (MCH). Este exerce seu efeito anorexígeno via receptores MC4R e também há evidências de que o MCH estimula a expressão de POMC e reduz a expressão de NPY nesta espécie (MATSUDA et al., 2009, KOJIMA et al., 2010).

## PEPTÍDEOS PERIFÉRICOS

### *Grelina (GRLN)*

A GRLN foi originalmente identificada em estômago de ratos. Este é o único peptídeo do trato gastrointestinal identificado, até o momento, que estimula o apetite em mamíferos. As evidências da existência deste peptídeo em peixes, como de sua ação orexígena, foi um achado recente mais apropriadamente no início do ano 2000 (VOLKOFF, 2016). Os principais sítios de produção da GRLN são o estômago e o intestino, mas já foram descritas células secretoras de GRLN no hipotálamo e no fígado de algumas espécies (JÖNSSON, 2013).

Atualmente, vários estudos realizados com várias espécies, como peixe-dourado, carpa gibel (*Carassius auratus gibelio*), piranha vermelha (*Pygocentrus nattereri*), tilápia (*Oreochromis mossambicus*), etc., vêm demonstrando a ação da GRLN como estimulante do apetite em peixes. O tratamento com este peptídeo aumentou a ingestão alimentar nestes animais, assim como o jejum e a alimentação levam a variações nos níveis plasmáticos de GRLN nos mesmos (SCHWANDT et al., 2010; NISEMBAUM et al., 2014; VOLKOFF, 2015; BLANCO et al., 2016; VOLKOFF, 2016; ZHOU et al., 2016). No entanto, há

controvérsias devido a dados obtidos de estudos com salmoniformes e siluriformes, por exemplo. Em truta arco-íris o tratamento com GRLN reduziu a ingestão alimentar; em salmão do atlântico os níveis plasmáticos do peptídeo diminuíram após a privação alimentar dos animais; e no bagre do canal não houveram alterações pré- nem pós-prandial nos níveis plasmáticos e de expressão da GRLN, demonstrando que nestas espécies este peptídeo exerce pouco efeito no controle alimentar ou um efeito anorexígeno (JÖNSSON et al., 2010; HEVRØY et al., 2011).

Nos mamíferos, os efeitos orexígenos da GRLN são mediados principalmente pela ativação de vias aferentes glutamatérgicas para o ARC, onde são sintetizados e armazenados o NPY/AgRP. Em peixes, não apenas núcleos hipotalâmicos orexígenos, mas também anorexígenos (CART e POMC) e entéricos (CCK e GLP-1), estão envolvidos na ação da GRLN (JÖNSSON et al., 2010; LOH et al., 2015; HEISLER e LAM, 2017). Esta informação fornece pistas para explicar os efeitos supressores do apetite em algumas espécies, que dependendo do estado nutricional pode ter maior ativação de centros inibidores que de centros estimulantes do apetite.

A ação da GRLN é efetivada pela ligação ao seu receptor, já identificado em várias espécies de peixes. Este é também conhecido como receptor secretagogo de GH (GHS-R), que é um receptor ligado a proteína G, sendo expresso em vários órgãos como cérebro, fígado, estômago e intestino (JÖNSSON, 2013). O tratamento com antagonistas dos receptores para NPY e orexinas, Y1 e OX<sub>1</sub>R respectivamente, inibem o efeito orexígeno da GRLN e injeção ICV de MCH reduz a expressão de GRLN no hipotálamo do peixe-dourado (KANG et al., 2011).

Há relatos da ação deste hormônio sobre a atividade locomotora, porém seu papel não é claro. Estudos apresentando respostas diferentes ao tratamento com GRLN, dependendo do local (IP ou ICV) e da espécie utilizada no estudo, os animais podem apresentar aumento ou redução da atividade locomotora, demonstrando que o papel deste peptídeo pode mudar devido a espécies, e suas ações centrais e periféricas também diferem (KANG et al., 2011).

Mais recentemente foi verificada a ação da enzima butirilcolinesterase (BChE; EC 3.1.1.8) controlando os níveis plasmáticos de GRLN. Esta enzima é capaz de hidrolisar a GRLN impedindo sua ação biológica. Tal mecanismo previne o aumento descontrolado da ingestão alimentar estimulado pelo peptídeo em ratos, desta forma prevenindo a obesidade nestes animais (BRIMIJOIN et al., 2016).

Nos peixes ainda é incipiente o conhecimento sobre a ação da GRLN no controle do comportamento alimentar, devido a uma variedade de respostas deste hormônio nos diversos estudo que apresentam ações contraditórias, o que enfatiza a necessidade de estudos que utilizem outras espécies para um entendimento mais completo e conclusivo.

### *Colecistocinina (CCK)*

A CCK é um peptídeo formado por 115-aa, sintetizado no cérebro e intestino, e neste a CCK é liberada por células endócrinas, estimuladas pela presença de alimento no trato gastrointestinal (YUAN et al., 2014). Já foram identificadas algumas formas biologicamente ativas da CCK, sendo a CCK-8 a mais potente na redução do apetite. No bagre do canal foram identificados dois genes que codificam a mesma CCK-8, um com 255 pares de base e o outro com mais de 3800, o que difere de mamíferos (humanos e ratos) que apresentam apenas um único gene para este peptídeo (PETERSON et al., 2012).

Nos mamíferos a CCK retarda o esvaziamento do estômago, reduzindo a motilidade gastrointestinal e promovendo saciedade. Também estimula a secreção gástrica, promove a contração biliar e a secreção de enzimas pancreáticas, sendo estes efeitos também evidentes em peixes (RUBIO et al., 2008; DOCKRAY, 2012; VOLKOFF et al. 2017). Os sinais periféricos da CCK trafegam por fibras vagais, e esta sinalização está envolvida nas respostas do trato gastrointestinal (TGI) à presença de subprodutos dos alimentos (DOCKRAY, 2012). Atualmente se conhece dois subtipos de receptores para CCK. O subtipo-1 é expresso principalmente no TGI, enquanto o subtipo-2 é presente predominantemente no cérebro (YUAN et al., 2014). Neste local, a CCK exerce um efeito anorexígeno, reduzindo a ingestão alimentar. Em peixes já foi reportada a presença de células contendo CCK no hipotálamo, telencéfalo e pituitária (RUBIO et al., 2008).

Vários estudos demonstram mudanças nos níveis de expressão de CCK em peixes alimentados e não alimentados, e a relação com o tecido/órgão em cada espécie. Por exemplo, em *Seriola quinqueradiata*, *Schizothorax prenanti* e no bagre do canal, há aumento da expressão de CCK no TGI após a alimentação. Diferente resultado ocorre no cérebro do peixe de caverna mexicano (*Astyanax fasciatus mexicanus*) e no bagre do canal, que mantem os níveis de expressão de CCK cerebrais imutáveis nos peixes alimentados. Porém, nesta

mesma circunstância, há aumento da expressão de CCK no hipotálamo em dourados (*Salminus brasiliensis*) e salmão do atlântico (VALEN et al., 2011; PETERSON et al., 2012; WALL e VOLKOFF, 2013; YUAN et al., 2014 VOLKOFF et al., 2016). No estudo de Volkoff et al. (2017) a expressão de CCK reduziu no intestino, mas não no hipotálamo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) durante o jejum e ocorreram mudanças na expressão após a alimentação, o que sugere a maior participação da CCK como fator periférico no controle da ingestão alimentar nesta espécie.

O conhecimento da ação da CCK em peixes ainda é inicial se levado em consideração o grande número de espécies existente e o reduzido número de espécies as quais foram submetidas a estudos desta natureza, porém nos animais estudados fica evidente a ação anorexígena da CCK. Mesmo assim se faz necessária a ampliação das espécies estudadas para melhor esclarecimento do papel da CCK no controle do comportamento alimentar neste grupo.

### *Leptina*

A leptina foi originalmente identificada em ratos obesos, sendo sintetizada no tecido adiposo. Este peptídeo tem papel importante não apenas no controle da ingestão alimentar e no balanço energético, mas também em processos reprodutivos e na resposta ao estresse, apresentando estas funções tanto em mamíferos quanto em peixes (ROUBOS et al., 2012; GORISSEN e FLIK, 2014; PARK e AHIMA, 2015). O trabalho de Volkoff et al. (2003), foi o primeiro a sugerir a ação da leptina como inibidor do apetite em peixes. Neste trabalho, injeções ICV de leptina humana reduziu a ingestão alimentar no peixe-dourado.

Atualmente a leptina é isolada em várias espécies de peixes, onde apresenta variadas funções biológicas e, diferindo da leptina de mamíferos, que apresenta um único gene, em peixes algumas espécies possuem vários genes para leptina (ex: lepA e lepB), que codificam diferentes subtipos (ex: lepa1 e lepa2), como visto em salmão do atlântico. Também em contraste com mamíferos, a leptina nos peixes é produzida e secretada por vários tecidos, principalmente o fígado (COPELAND et al., 2011; TROMBLEY et al., 2012; ANGOTZI, et al., 2013; BIRSOY et al., 2013; LONDRAVILLE et al., 2014). O efeito anoréxico da leptina se dá pela ligação ao seu receptor (LEPR), que é amplamente

distribuído nos diferentes tecidos, com maior expressão nos rins, nas gônadas, no coração e no cérebro em salmão do atlântico (TROMBLEY et al., 2012). Este receptor está associado aos centros de controle alimentar estimulando sistemas anoréxicos (ex: CART, POMC e CCK) e inibindo sistemas orexígenos (ex; NPY, OXs e AgRP). Este efeito foi visto no trabalho de YAN et al. (2016), utilizando o peixe-dourado como modelo biológico. Como ocorre no peixe-dourado, o tratamento com leptina reduz a ingestão alimentar e eleva a expressão de CART e POMC no hipotálamo de truta arco-íris e na carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*). Injeção IP reduziu os níveis de NPY hipotalâmico em relação ao grupo controle (VOLKOFF et al., 2003; LI et al., 2010; GONG et al., 2016). O trabalho de Murashita et al. (2011), com salmão do atlântico tratado com leptina recombinante de salmão (rsLepA1), mostrou que 10 ng/g de peso corporal reduziu a taxa de crescimento e aumentou a expressão de POMC, sugerindo que leptina reduz o crescimento afetando a ingestão de alimento pela via das melanocortinas.

Também há evidências da ação da leptina no metabolismo da glicose em peixe-zebra. A falta de um receptor para leptina em animais knockout nesta espécie leva a alterações nos níveis plasmáticos de insulina e glicose (MICHEL et al., 2016). Em uma espécie de peixe elétrico, o *Eigenmannia virescens*, injeção de leptina aumentou a taxa de descarga do órgão elétrico (DOE) nos animais em restrição alimentar, mas não em animais normalmente alimentados, sugerindo a resposta da leptina ao estresse metabólico (SINNETT e MARKHAM, 2015). Vários estudos recentes apontam a leptina como atuante no controle da ingestão alimentar em peixes, porém a ação dela em outras vias metabólicas ainda não é bem esclarecida, e vários dados divergentes entre as espécies dificultam ainda mais este entendimento.

## CONCLUSÃO

O conhecimento sobre os mecanismos que controlam o comportamento alimentar em peixes está sendo ampliado nos últimos anos, devido ao aumento do interesse da piscicultura por este tema, que é de grande relevância para aumentar a eficiência produtiva de diversas espécies de importância econômica, principalmente de hábito carnívoro.

Dos principais hormônios envolvidos neste complexo controle recebem destaque NPY, OXs, CART, POMC, CCK e leptina, todos com suas ações orexígenas e anorexígenas já bem elucidadas, mesmo que seus papéis em outros mecanismos regulatórios não sejam.

Em relação a AgRP e GRLN o entendimento mais aprofundado dos efeitos na ingestão alimentar se dará apenas em futuros trabalhos, pois atualmente não há um único entendimento sobre o papel destes peptídeos no controle do comportamento alimentar em peixes, como também há controvérsias em relação à ligação de alguns destes peptídeos em outras vias metabólicas além do controle do apetite.

Assim, vale salientar a necessidade de esforços para a ampliação do número de espécies estudadas, sendo esta a melhor forma para montar as peças que falta neste quebra-cabeça.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, M.; VOLKOFF, H. Thyrotropin releasing hormone (TRH) in goldfish (*Carassius auratus*): role in the regulation of feeding and locomotor behaviors and interactions with the orexin system and cocaine- and amphetamine regulated transcript (CART). **Hormones and Behavior**, v. 59, n. 2, p. 236–245, 2011.

ANGOTZI, A.R.; STEFANSSON, S.O.; NILSEN, T.O.; RATHORE, R.M.; RØNNESTAD, I. Molecular cloning and genomic characterization of novel Leptin-like genes in salmonids provide new insight into the evolution of the Leptin gene family. **General and Comparative Endocrinology**, v. 187, p. 48–59, 2013.

BARREIRO-IGLESIAS, A.; ANADON, R.; RODICIO, M.C. New insights on the neuropeptide Y system in the larval lamprey brain: neuropeptide Y immunoreactive neurons, descending spinal projections and comparison with tyrosine hydroxylase and GABA immunoreactivities. **Neuroscience**, v. 167, n. 2, p. 396–413, 2010.

BIRSOY, K.; FESTUCCIA, W.T.; LAPLANTE, M. A comparative perspective on lipid storage in animals. **Journal of Cell Science**, v. 126, n. 7, p. 1541–1552, 2013.

BLANCO, A.M.; BERTUCCI, J.I. DELGADO, M.A.J.; VALENCIANO, A.I.; UNNIAPPAN, S. Tissue-specific expression of ghrelinergic and NUCB2/nesfatin-1 systems in goldfish (*Carassius auratus*) is modulated by macronutrient composition of diets. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 195, p. 1–9, 2016.

BRIMIJOIN, S.; CHEN, V.P.; PANG, Y.-P.; GENG, L.; GAO, Y. Physiological roles for butyrylcholinesterase: A BChE-ghrelin axis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 259, p. 271-275, 2016.

CELIK, O.; AYDIN, S.; CELIK, N.; YILMAZ, M. Peptides: basic determinants of reproductive functions. **Peptides**, v. 72, p. 34–43, 2015.

CÉRDA-REVERTER, J.M.; AGULLEIRO, M.J.R.R.G.; SÁNCHEZ, E.; CEINOS, R.; ROTLLANT, J. Fish melanocortin system. **European Journal of Pharmacology**, v. 660, p. 53–60, 2011.

COPELAND, D. L., DUFF, R. J., LIU, Q., PROKOP, J., AND LONDRVILLE, R. L. Leptin in teleost fishes: an argument for comparative study. **Frontiers in Physiology**, v. 2, n. 26, p. 1-11, 2011.

DI YORIO, M., DELGADIN, T., SIRKIN, D.P., VISSIO, P., Growth hormone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone regulation by neuropeptide Y in both sexes of the cichlid fish, *Cichlasoma dimerus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 843–852, 2015.

DOCKRAY, G. J. Cholecystokinin. *Current Opinion in Endocrinology*, **Diabetes and Obesity**, v. 19, p. 8–12, 2012.

EDELSBRUNNER, M.E.; PAINSIPP, E.; HERZOG, H.; HOLZER, P. Evidence from knockout mice for distinct implications of neuropeptide-Y Y2 and Y4 receptors in the circadian control of locomotion, exploration, water and food intake. **Neuropeptides**, v. 43, p. 491-497, 2009.

ELBAZ, I.; FOULKES, N.S.; GOTHILF, Y.; APPELBAUM, L. Circadian clocks, rhythmic synaptic plasticity and the sleep-wake cycle in zebrafish. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 7, n. 9, p. 1-7, 2013.

GONG, N.; JONSSON, E.; BJÖRNSSON, B.T. Acute anorexigenic action of leptin in rainbow trout is mediated by the hypothalamic Pi3k pathway. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 56, p. 227–238, 2016.

GORISSEN, M.; FLIK, G. Leptin in teleostean fish, towards the origins of leptin physiology. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 61–62, p. 200–206, 2014.

HOSKINS, L.J.; VOLKOFF, H. The comparative endocrinology of feeding in fish: Insights and challenges. **General and Comparative Endocrinology**, v. 176, p. 327–335, 2012.

HUBERT, G.W.; JONES, D.C.; MOFFETT, M.C.; ROGGE, G.; KUCHAR, M.J. CART peptides as modulators of dopamine and psychostimulants and interactions with the mesolimbic dopaminergic system. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, p. 57–62, 2008.

HEISLER, L.K.; LAM, D.D. An appetite for life: brain regulation of hunger and satiety. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 100–106, 2017.

HEVRØY, E.M.; AZPELETA, C.; SHIMIZU, M.; LANZEN, A.; KAIYA, H.; ESPE, M.; OLSVIK, P.A. Effects of short-term starvation on ghrelin, GH-IGF system, and IGFbinding proteins in Atlantic salmon. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 217–232, 2011.

JÖNSSON, E.; KAIYA, H.; BJÖRNSSON, B.T. Ghrelin decreases food intake in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) through the central anorexigenic corticotropin-releasing factor system. **General and Comparative Endocrinology**, v. 166, p. 39–46, 2010.

JÖNSSON, E. The role of ghrelin in energy balance regulation in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 187, p. 79–85, 2013.

KANG, K.S.; YAHASHI, S.; MATSUDA, K. Central and peripheral effects of ghrelin on energy balance, food intake and lipid metabolism in teleost fish. **Peptides**, v. 32, p. 2242–2247, 2011.

KOJIMA, K.; AMIYA, N.; KAMIJO, M.; KAGEYAMA, H.; UCHIYAMA, M.; SHIODA, S.; MATSUDA, K. Relationship between alpha-melanocyte-stimulating hormone and neuropeptide Y-containing neurons in the goldfish hypothalamus. **General and Comparative Endocrinology**, v. 167, p. 366–372, 2010.

KOJIMA, K.; KAMIJO, M.; KAGEYAMA, H.; UCHIYAMA, M.; SHIODA, S.; MATSUDA, K. Neuronal relationship between orexin-A- and neuropeptide Y-induced orexigenic actions in goldfish, **Neuropeptides**, v. 43, p. 63–71, 2009.

KUKKONEN, J.P. Recent progress in orexin/hypocretin physiology and pharmacology. **Biomolecular Concepts**, v. 3, p. 447–463, 2012.

LARHAMMAR, D. Evolution of neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide. **Regulatory Peptides**, v. 62, n. 1, p. 1–11, 1996.

LESHAN, R.L.; OPLAND, D.M.; LOUIS, G.W.; LEINNINGER, C.M.; PATTERSON, G.M.; RHODES, C.J.; MÜNZBERG, H.; MYERS, M.G.Jr. Ventral tegmental area leptin receptor neurons specifically project to and regulate cocaine and amphetamine-regulated transcript neurons of the extended central amygdala. **The Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 16, p. 5713–5723, 2010.

LI, G.G.; LIANG, X.F.; XIE, Q.L.; LI, G.Z.; YU, Y.; LAI, K.S. Gene structure, recombinant expression and functional characterization of grass carp leptin. **General and Comparative Endocrinology**, v. 166, p. 117–127, 2010.

LI, M.; TAN, X.; SUI, Y.; JIAO, S.; WU, Z.; WANG, L.; YOU, F. The stimulatory effect of neuropeptide Y on growth hormone expression, food intake, and growth in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, 2016: DOI 10.1007/s10695-016-0263-x

LI, S.; ZHAO, L.; XIAO, L.; LIU, Q.; ZHOU, W.; QI, X.; CHEN, H.; YANG, H.; LIU, X.; ZHANG, Y. LIN, H. Structural and functional characterization of neuropeptide Y in a

primitive teleost, the Japanese eel (*Anguilla japonica*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 179, p. 99–106, 2012.

LOH, K.; HERZOG, H.; SHI, Y-C. Regulation of energy homeostasis by the NPY system. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 26, p. 125–135, 2015.

LONDRAVILLE, R.L.; MACOTELA, Y.; DUFF, R.J.; EASTERLING, M.R.; LIU, Q.; CRESPI, E.J. Comparative endocrinology of leptin: assessing function in a phylogenetic context. **General and Comparative Endocrinology**, v. 203, p. 146–157, 2014.

MACDONALD, E.; VOLKOFF, H. Neuropeptide Y (NPY), cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) and cholecystinin (CCK) in winter skate (*Raja ocellata*): cDNA cloning, tissue distribution and mRNA expression responses to fasting. **General and Comparative Endocrinology**, v. 161, p. 252–261, 2009.

MACDONALD, E.; VOLKOFF, H. Molecular cloning and characterization of preprorexin in winter skate (*Leucoraja ocellata*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 169, p. 192–196, 2010.

MANCEBO, M.J.; CEBALLOS, F.C.; PÉREZ-MACEIRA, J.; ALDEGUNDE, M. Hypothalamic neuropeptide Y (NPY) gene expression is not affected by central serotonin in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 166, n. 1, p. 186–190, 2013.

MATSUDA, K.; ATSUSHI, S.; ERI, Y.; MORIO, A. Neuroendocrine control of feeding behavior and psychomotor activity by neuropeptide Y in fish. **Neuropeptides**, v. 46, p. 275–283, 2012.

MATSUDA, K.; KANG, K.S.; SAKASHITA, A.; YAHASHI, S.; VAUDRY, H. Behavioral effect of neuropeptides related to feeding regulation in fish. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1220, p. 117–126, 2011.

MATSUDA, K.; KOJIMA, K.; SHIMAKURA, S.-I.; TAKAHASHI, A. Regulation of food intake by melanin-concentrating hormone in goldfish. **Peptides**, v. 30, p. 2060–2065, 2009.

MICHEL, M.; PAGE-MCCAWE, P.S.; CHEN, W.; CONE, R.D. Leptin signaling regulates glucose homeostasis, but not adipostasis, in the zebrafish. **Proceeding of the National Academy of Sciences U.S.A.**, v. 113, p. 3084–3089, 2016.

MURASHITA, K.; JORDAL, A.-E.O.; NILSEN, T.O.; STEFANSSON, S.O.; KUROKAWA, T.; BJÖRNSSON, B.T.; MOEN, A.-G.G.; RØNNESTAD, I. Leptin reduces Atlantic salmon growth through the central pro-opiomelanocortin pathway. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 158, p. 79–86, 2011.

MURASHITA, K.; KUROKAWA, T.; EBBESSON, L.O.E.; STEFANSSON, S.O.; RØNNESTAD, I. Characterization, tissue distribution, and regulation of agouti-related protein (AgRP), cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) and neuropeptide

Y (NPY) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 162, p. 160–171, 2009.

NISEMBAUM, L.G.; DE PEDRO, N.; DELGADO, M.J.; ISORNA, E. Crosstalking between the “gut-brain” hormone ghrelin and the circadian system in the goldfish. Effects on clock gene expression and food anticipatory activity. **General and Comparative Endocrinology**, v. 205, p. 287–295, 2014.

NISHIO, S.I.; GIBERT, Y.; BEREKELYA, L.; BERNARD, L.; BRUNET, F.; GUILLOT, E.; LE BAIL, J.C.; SANCHEZ, J.A.; GALZIN, A.M.; TRIQUENEAUX, G.; LAUDET, V. Fasting induces CART down-regulation in the zebrafish nervous system in a cannabinoid receptor 1-dependent manner. **Molecular Endocrinology**, v. 26, p. 1316–1326, 2012.

PARK, H.-K.; AHIMA, R.S. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. **Metabolism**, v. 64, p. 24–34, 2015.

PANULA, P. Hypocretin/orexin in fish physiology with emphasis on zebrafish. **Acta Physiologica**, v. 198, p. 381–386, 2010.

PAVLIDIS, M.; SUNDVIK, M.; CHEN, Y.C.; PANULA, P. Adaptive changes in zebrafish brain in dominant-subordinate behavioral context. **Behavioural Brain Research**, v. 225, p. 529–537, 2011.

PETERSON, B.C.; WALDBIESER, G.C.; RILEY, L.G. Jr; UPTON, K.R.; KOBAYASHI, Y.; SMALL, B.C. Pre- and postprandial changes in orexigenic and anorexigenic factors in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 176, n. 2, p. 231–239, 2012.

PITTS, P.M.; VOLKOFF, H. Characterization of appetite-regulating factors in platyfish, *Xiphophorus maculatus* (*Cyprinodontiformes Poeciliidae*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 208, p. 80–88, 2017.

ROUBOS, E.W.; DAHMEN, M. KOZICZ, T.; XU, L. Leptin and the hypothalamo pituitary–adrenal stress axis. **General and Comparative Endocrinology**, v. 177, p. 28–36, 2012.

RUBIO, V.C.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; MADRID, J.A. Role of cholecystinin and its antagonist proglumide on macronutrient selection in European sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. **Physiology & Behavior**, v. 93, p. 862–869, 2008.

SANCHEZ, E.; RUBIO, V.C.; THOMPSON, D.; METZ, J.; FLIK, G.; MILLHAUSER, G.L.; CERDA-REVERTER, J.M. Phosphodiesterase inhibitordependent inverse agonism of agouti-related protein on melanocortin 4 receptor in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 296, n. 5, p. 1293–1306, 2009.

SCHJOLDEN, J.; SCHIÖTH, H.B.; LARHAMMAR, D.; WINBERG, S.; LARSON, E.T. Melanocortin peptides affect the motivation to feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 160, p. 134–138, 2009.

SINNETT, P. M.; MARKHAM, M.R. Food deprivation reduces and leptina increases the amplitude of an active sensory and communication signal in a weakly electric fish. **Hormones and Behavior**, v. 71, p. 31–40, 2015.

SCHWANDT, S.E.; PEDDU, S.C.; RILEY, L.G. Differential roles for octanoylated and decanoylated ghrelins in regulating appetite and metabolism. **International Journal of Peptides**, v. 2010, p. 1-6, 2010.

TASAN, R.O.; LIN, S.; HETZENAUER, A.; SINGEWALD, N.; HERZOG, H.; SPERK, G. Increased novelty-induced motor activity and reduced depression-like behavior in neuropeptide Y (NPY) -Y4 receptor knockout mice. **Neuroscience**, v. 158, p. 1717-1730, 2009.

TATEMOTO, K.; CARLQUIST, M.; MUTT, V. Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. **Nature**, v. 296, p. 659-660, 1982.

TROMBLEY, S.; MAUGARS, G.; KLING, P.; BJÖRNSSON, B.T.; SCHMITZ, M. Effects of long-term restricted feeding on plasma leptin, hepatic leptina expression and leptin receptor expression in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **General and Comparative Endocrinology**, v. 175, p. 92–99, 2012.

VALEN, R.; JORDAL, A.E.O.; MURASHITA, K.; RONNESTAD, I. Postprandial effects on appetiterelated neuropeptide expression in the brain of Atlantic salmon, *Salmo salar*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 171, p. 359–366, 2011.

VOLKOFF, H.; SABIONI, R.E.; COUTINHO, L.L.; CYRINO, J.E.P. Appetite regulating factors in pacu (*Piaractus mesopotamicus*): Tissue distribution and effects of food quantity and quality on gene expression. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 203, p. 241–254, 2017.

VOLKOFF, H.; SABIONI, R.E.; CYRINO, J.E.P. Appetite regulating factors in dourado, *Salminus brasiliensis*: cDNA cloning and effects of fasting and feeding on gene expression. **General and Comparative Endocrinology**, v. 237, p. 34–42, 2016.

VOLKOFF, H. The Neuroendocrine Regulation of Food Intake in Fish: A Review of Current Knowledge. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, n. 540, p. 1-31, 2016.

VOLKOFF, H. Cloning, tissue distribution and effects of fasting on mRNA expression levels of leptin and ghrelin in red-bellied piranha (*Pygocentrus nattereri*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 217–218, p. 20–27, 2015.

VOLKOFF, H. The effects of amphetamine injections on feeding behavior and the brain expression of orexin, CART, tyrosine hydroxylase (TH) and thyrotropin releasing hormone (TRH) in goldfish (*Carassius auratus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 39, p. 979–991, 2013.

VOLKOFF, H.; EYKELBOSH, A.J.; PETER, R.E. Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. **Brain Research**, v. 972, p. 90–109, 2003.

VOLKOFF, H.; PETER, R.E. Characterization of two forms of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide precursors in goldfish: molecular cloning and distribution, modulation of expression by nutritional status, and interactions with leptin. **Endocrinology**, v. 142, n. 12, p. 5076–5088, 2001.

XU, L.; BLOEM, B.; GASZNER, B.; ROUBOS, E.W.; KOZICZ, T. Stress-related changes in the activity of cocaine- and amphetamine-regulated transcript and nesfatin neurons in the midbrain non-preganglionic Edinger–Westphal nucleus in the rat. **Neuroscience**, v. 170, p. 478–88, 2010.

WALL, A.; VOLKOFF, H. Effects of fasting and feeding on the brain mRNA expressions of orexin, tyrosine hydroxylase (TH), PYY and CCK in the Mexican blind cavefish (*Astyanax fasciatus mexicanus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 183, p. 44–52, 2013.

WAN, Y.; ZHANG, Y.; JI, P.; LI, Y.; XU, P.; SUN, X. Molecular characterization of CART, AgRP, and MC4R genes and their expression with fasting and re-feeding in common carp (*Cyprinus carpio*). **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 3, p. 2215–2223, 2012.

WHITE, S.L.; VOLKOFF, H.; DEVLIN, R.H. Regulation of feeding behavior and food intake by appetite-regulating peptides in wild-type and growth hormone-transgenic coho salmon. **Hormones and Behavior**, v. 84, p. 18–28, 2016.

WONG, K.K.Y.; Ng, S.Y.L.; LEE, L.T.O.; Ng, H.K.H.; CHOW, B.K.C. Orexins and their receptors from fish to mammals: a comparative approach. **General and Comparative Endocrinology**, v. 171, p. 124–130, 2011.

WU, S.; LI, B.; LIN, H.; LI, W. Stimulatory effects of neuropeptide Y on the growth of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 179, n. 2, p. 159–166, 2012.

YAN, A.-F.; CHEN, T.; CHEN, S.; REN, C.-H.; HU, C.-Q.; CAI, Y.-M.; LIU, F.; TANG, D.-S. Goldfish leptin-AI and leptin-AII: function and central mechanism in feeding control. **International Journal of Molecular Science**, v. 17:783, 2016.

YOKOBORI, E.; AZUMA, M.; NISHIGUCHI, R.; KANG, K.S.; MAEJIMA, S.; UCHIYAMA, M.; MATSUDA, K. Neuropeptide Y Stimulates Food Intake in the Zebrafish, *Danio rerio*. **General and Comparative Neuroendocrinology**, v. 24, p. 766–773, 2012.

YOKOBORI, E.; KOJIMA, K.; AZUMA, M.; KANG, K.S.; KAMIJO, M.; UCHIYAMA, M.; MATSUDA, K. Stimulatory effect of intracerebroventricular administration of orexin A on food intake in the zebrafish, *Danio rerio*. **Peptides**, v. 32, p. 1357–1362, 2011.

YUAN, D.; WANG, T.; ZHOU, C.; LIN, F.; CHEN, H.; WU, H.; WEI, R.; XIN, Z.; LI, Z. Leptin and cholecystokinin in *Schizothorax prenanti*: molecular cloning, tissue expression, and mRNA expression responses to periprandial changes and fasting. **General and Comparative Endocrinology**, v. 204, p. 13–24, 2014.

ZAWILSKA, J.B.; URBAŃSKA, A.; SOKOTOWSKA, P. Orexins/hypocretins stimulate accumulation of inositol phosphate in primary cultures of rat cortical neurons. **Pharmacological Reports**, v. 65, p. 513-516, 2013.

ZHANG, M.; HAN, L.; XU, Y. Roles of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the central nervous system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 6, p. 586–592, 2012.

ZHOU, C.; ZHENG, J.; LEI, L.; YUAN, D.; ZHU, C.; YE, H.; ZHANG, C.; WANG, D.; YANG, M.; WU, J.; ZHU, L.; ZENG, B. Evidence that ghrelin may be associated with the food intake of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 1637–1646, 2016.

ZHOU, Y.; LIANG, X-F.; YUAN, X.; LI, J.; HE, Y.; FANG, L.; GUO, X.; LIU, L.; LI, B.; SHEN, D. Neuropeptide Y stimulates food intake and regulates metabolism in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. **Aquaculture**, v. 380-383, p. 52–61, 2013.

#### 4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO, CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E ZOOTÉCNICAS DO SURUBIM (*Pseudoplatystoma* sp.) JUVENIL ESTIMULADO COM CAMPO ELÉTRICO DE BAIXA INTENSIDADE E FREQUÊNCIA

Luciano Clemente da Silva<sup>a-b</sup>; Handerson Costa Guedes<sup>a</sup>; Dijanah Cota Machado<sup>a</sup>; Caio Rodrigo Dias de Assis<sup>a-b</sup>; Valdir Luna da Silva<sup>a</sup>; Ranilson de Souza Bezerra<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Fisiologia Comparada e Comportamento Animal, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Recife, Pernambuco; <sup>b</sup> Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica – UFPE, luciano\_tempus@yahoo.com.br

#### RESUMO

O surubim é uma espécie de peixe neotropical de grande valor econômico, bastante apreciado pelo mercado nacional e internacional, porém esta espécie ainda apresenta problemas em seu processo de produção, principalmente nas fases iniciais do desenvolvimento, na aceitação de ração. Uma alternativa para solucionar este problema é a estimulação elétrica de baixa intensidade no momento da alimentação desses animais, no entanto, testes que confirmem a segurança desta técnica são necessários. Este trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros hematológicos e relacionados ao estresse oxidativo dos surubins submetidos à estimulação elétrica. Foram utilizados 80 juvenis do gênero *Pseudoplatystoma* com  $16,2 \pm 4,42$  g de peso e  $13,1 \pm 1,20$  cm de comprimento total, divididos em grupo estimulado com campo elétrico de  $2,5 \mu\text{V}/\text{cm}^2$  e frequência de 30 Hz e grupo controle, com quatro réplicas cada. Foram realizadas coletas de dados biométricos quinzenalmente, e de materiais biológicos para as análises hematológicas e bioquímicas mensalmente. Uma vez por mês, dois indivíduos de cada réplica eram sacrificados com imersão em solução de MS-222 em água e eram retirados o sangue e o fígado. Este último foi utilizado para as análises de estresse oxidativo. Os resultados demonstram que esta técnica é eficiente na melhoria do desempenho produtivo, com os animais estimulados apresentando diferença significativa no ganho de peso, 30% maior, e no consumo de ração, quando comparado com o controle ( $p < 0,05$ ) (ANOVA-Tukey). Esta técnica também se mostra segura pois não foi identificada diferença entre os grupos experimentais, tanto nos

parâmetros hematológicos quanto nos relacionados com o estresse oxidativo, indicando que os animais estimulados têm o mesmo estado de sanidade dos animais controle.

A estimulação elétrica dos animais demonstra ser segura e sua associação com o manejo apropriado de cultivo é promissor.

## INTRODUÇÃO

Surubim é o nome genérico dado aos peixes da família Pimelodidae, do gênero *Pseudoplatystoma*, que ocorrem nas principais bacias hidrográficas da América do Sul. Estes são dos maiores bagres da ordem Siluriformes (ROMAGOSA et al., 2003). A qualidade de sua carne, de sabor suave e livre de espinhas, gera um grande interesse comercial, porém seu estoque natural vem se tornando limitado devido à sobrepesca e a problemas causados pelo uso dos rios, como a geração de energia elétrica, que impendem sua migração para reprodução (SILVA et. al., 2015). Isto vem incentivando o cultivo de surubins, que demonstram um grande potencial produtivo, com uma produção de 15.860 toneladas em 2016 (IBGE, 2016).

O aumento significativo na produção do surubim nos últimos anos tem relação com a formação de híbridos como o ponto e vírgula um cruzamento entre *P. corruscans* com *P. reticulatum*. Estes indivíduos apresentam melhor desempenho produtivo que seus parentais (ALVES et. al., 2014). O processo de produção das espécies do gênero *Pseudoplatystoma* ainda não está completamente dominado, sendo as principais limitações relacionadas à reprodução e nutrição, principalmente nas fases jovens. Nesse período ocorre a baixa aceitação da ração pelos animais, resultando em alto índice de mortalidade devido às deficiências nutricionais e ao canibalismo (CREPALDI, 2006).

Na maioria das espécies, os diversos sistemas sensoriais colaboram nas diferentes fases do comportamento alimentar (atração, percepção, captura, etc.), participando das várias etapas do processo e com importância diferente. A eletorrecepção é uma modalidade sensorial observada em várias espécies, e de modo geral está relacionada à percepção e captura de presas (BULLOCK et al., 1979; ZAKON, 1988; KRAMER, 1996; PETTIGREW, 1999). Na tentativa de auxiliar o surubim na percepção da ração e, conseqüentemente, aumentar sua atração por esta, Silva et al. (2014) propuseram em sua patente a estimulação

destes animais no momento da alimentação com um campo elétrico de baixa frequência e voltagem. Neste estudo os autores observaram que animais estimulados com tal campo elétrico apresentavam melhor desempenho zootécnico (ganho em peso e comprimento total) no final do cultivo que animais não estimulados. No entanto, não se sabe quais os mecanismos pelos quais o estímulo elétrico age nem os efeitos no metabolismo, ou ainda se este estímulo pode causar estresse nos animais. Assim é de relevante importância conhecer estes efeitos para garantir a segurança deste método no processo de produção do surubim, afirmando sua eficiência, uma vez que estímulos estressores podem levar ao desequilíbrio fisiológico dos animais, aumentando principalmente sua suscetibilidade a infecções oportunistas, (Fagundes 2009). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros do estresse oxidativo e as características hematológicas da série branca e hematócrito de animais estimulados com campo elétrico de baixa intensidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O uso dos animais foi avaliado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), processo nº 23076.022419/2015-29, sendo o parecer favorável aos protocolos experimentais realizados.

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Comparada e Comportamento Animal do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A coleta dos dados foi iniciada em março de 2016, e finalizada em julho do mesmo ano totalizando 120 dias de cultivo.

Foram utilizados 80 juvenis de surubim com média de peso e comprimento inicial de  $16,2 \pm 4,42$  g e  $13,1 \pm 1,2$  cm, respectivamente. Foram formados dois grupos experimentais: um estimulado com um campo elétrico com frequência de 30 Hz e intensidade de 2,5 mV/cm, segundo Silva et al. (2014) e um grupo controle, ambos com quatro réplicas contendo 10 animais. O formato de onda utilizado na estimulação foi o dente de serra. O sistema de estimulação foi composto por duas hastes metálicas ligadas por fios condutores a um circuito gerador de sinal, calibrado na frequência e intensidade desejada. As hastes eram fixadas em um flutuador feito com tubos de PVC. Neste também foram fixados eletrodos de

referência, ligados a um osciloscópio (Tektronix 2225 50 MHz) para confirmação das características do sinal. Os animais foram acondicionados em oito tanques de PVC com volume de 60 litros cada, interligados por um sistema de recirculação com filtro biológico com vazão de 2.000 L/h e aeração constante. Durante o experimento, cerca de 20% do volume dos tanques foi substituído diariamente. Os parâmetros de qualidade de água foram mensurados três vezes por semana, sendo eles: oxigênio dissolvido com concentração de  $5,01 \pm 1,05$  mg/l, temperatura de  $24,86 \pm 2,71^\circ\text{C}$ , pH de  $7,38 \pm 0,27$  e a concentração de amônia que foi de  $0,005 \pm 0,002$  ppm. Para avaliar estes parâmetros foram utilizados os seguintes equipamentos: oxímetro portátil (Instrutherm, MO-910) com termômetro, pHmetro de bolso (Instrutherm, PH-1700) e kit Labcon amônia tóxica água doce. A alimentação foi *ad libitum* ofertada uma vez ao dia com ração comercial extrusada 32% de proteína bruta durante todo experimento.

A estimulação dos animais ocorreu no momento da alimentação, com duração de 10 minutos sempre as 10 horas da manhã, tempo em que o alimento ficou disponível para os animais. Após este período as sobras eram retiradas dos tanques. Para avaliar o consumo foi ofertada uma quantidade conhecida de pellets (inicialmente contados), cujo peso médio era de 0,65 g cada. Após a contagem das sobras de cada tanque, era possível estimar a quantidade consumida da ração em gramas por tanque. Para o grupo controle foram seguidos todos os passos citados, exceto a estimulação. Esta etapa durou 120 dias. Neste período foram feitas biometrias quinzenais para coleta de dados zootécnicos, peso e comprimento total. Outros parâmetros, como ganho em peso médio diário (GPM) que foi obtido pela fórmula peso inicial menos peso final dividido por dias de cultivo, ( $GPM = \frac{pi-pf}{D}$ ),

(Taxa de conversão alimentar =  $\frac{\text{peso seco ofertado (g)}}{\text{ganho de peso úmido (g)}}$ ) e (Eficiência alimentar =  $\frac{\text{ganho de peso úmido (g)}}{\text{peso seco ofertado (g)}}$ ), segundo Santos et al. (2016).

No final de cada mês foram coletados fígado e sangue de dois indivíduos de cada tanque, previamente anestesiados com Tricaina metanosulfonato (MS-222, sigma), na concentração de 150 mg/L, para a realização das análises hematológicas e de estresse oxidativo.

A latência para a alimentação foi mensurada diariamente pela observação no momento da oferta do alimento, onde se iniciava o cronometro e este só era parado quando fosse observado o comportamento alimentar do grupo em foco.

## Hematologia

O sangue foi obtido por punção cardíaca com auxílio de seringa de 1 ml acoplada a uma agulha hipodérmica de 25x0,8 mm contendo solução de EDTA 3%. Em seguida foram feitos os esfregaços sanguíneos em lâminas comuns, em duplicatas, que posteriormente foram coradas pelo panótico rápido (Laborclin®). O restante do material sanguíneo foi utilizado para o microhematócrito. Esta técnica, descrita por Goldenfarb et al. (1971), consiste no preenchimento de micro capilar até 2/3 do seu volume seguido de centrifugação realizada em microcentrífuga (SPIN, 1000) à 12000 rpm durante 5 minutos, para evidenciar as fases de divisão sanguínea: eritrócitos, leucócitos e soro. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico com objetiva de 100x e óleo de imersão. Foi realizada a contagem direta de 100 células da série branca, (leucócitos) por lâmina, quantificando os diferentes tipos encontrados segundo Sousa et al. (2013).

## Estresse Oxidativo

Para as análises de estresse oxidativo o material utilizado foi o fígado. Este foi homogeneizado em tampão tris-base 50 mM com EDTA 1mM e pH 7,4 ajustado com adição de HCl, e posteriormente foram adicionados os inibidores de proteases Ortovanadato de Sódio e Fluoreto de fenilmetano sulfonil (PMSF), ambos da Sigma-Aldrich e na concentração de 1mM. Os homogenatos foram centrifugados a 12000 rpm durante 10 minutos e o sobrenadante foi separado e congelado em freezer -20 para posteriores análises.

O ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizado em tubos de ensaios contendo a amostra com adição de dodecil sulfato de sódio (SDS) 8,1%, ácido acético 20% e TBA 0,8%. Esta solução foi incubada em banho Maria a 95 °C por uma hora. Após o resfriamento dos tubos foi adicionado o n-butanol e estes foram centrifugados a 2500 g por 10 minutos. Em seguida foi retirada a fase orgânica e feita a leitura fotométrica a 532 nm em microplacas transparentes de 96 poços. Foi utilizada a curva do malondialdeído como padrão.

Para o ensaio da L-glutationa oxidada (GSSG) foi utilizado NaOH 0,1M, N-etilmaleimida (NEM) na concentração de 5mg/ml em água destilada e O-ftalaldeído (OPT) na concentração de 1 mg/ml em metanol. O padrão de L-glutationa oxidada foi utilizado na concentração aproximada de 8,16  $\mu\text{mol/L}$ . A amostra foi incubada junto com o NEM por 30 minutos em temperatura ambiente e posteriormente foi acrescentado o NaOH. Em seguida, 200  $\mu\text{l}$  da solução foi adicionado em placa preta de 96 poços com OPT. A leitura foi realizada no equipamento Varioskan flash (Thermo Fisher Scientific Waltham, Massachusetts, EUA) com comprimentos de onda de 350 nm de excitação e 420 nm de emissão.

Para o ensaio da L-glutationa reduzida (GSH) foi utilizado o tampão fosfato de sódio 0,1 M mais EDTA 5 mM pH 8, OPT 1 mg/ml em metanol. O padrão L-glutationa reduzida foi utilizado na concentração 32,5  $\mu\text{mol/L}$ . Foi preparada uma mistura de 50  $\mu\text{l}$  da amostra e 450  $\mu\text{l}$  do tampão fosfato. Posteriormente foi pipetado em placa preta de 96 poços. 50  $\mu\text{l}$  da mistura e 140  $\mu\text{l}$  do tampão fosfato mais 10  $\mu\text{l}$  de OPT. Após 15 minutos incubando em temperatura ambiente e no escuro, foi feita a leitura em Varioskan flash com 350 nm de excitação e 420 nm de emissão.

Para a quantificação das espécies reativas de oxigênios (ROS) foi utilizado o diacetato diclorofluorescina (DCFDA) 5  $\mu\text{mol/L}$  em água deionizada. Posteriormente foi pipetado em placa preta de 96 poços 100  $\mu\text{l}$  do extrato e 100  $\mu\text{l}$  do DCFDA e incubado em 37 °C durante 45 minutos no escuro. Após este período foi feita a leitura no equipamento Varioskan flash com 504 nm de excitação e 529 nm de emissão.

Todos os protocolos utilizados neste trabalho foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Endocrinologia do DFF – UFPE.

As análises estatísticas foram realizadas no programa origin 8 utilizando como modelo estatístico a ANOVA one-way e Tukey como pós teste, foram considerados significativo os resultados cujo  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Aspectos Zootécnicos

Os resultados zootécnicos corroboraram os resultados obtidos no estudo realizado por Silva et al. (2014), confirmando o bom rendimento e a mudança no comportamento alimentar do surubim estimulado com campo elétrico de baixa intensidade e frequência de 30 Hz. Os animais submetidos a este estímulo apresentaram menor latência para alimentação (fig. 7 A), como também aumentos no consumo da ração (fig. 7 B).

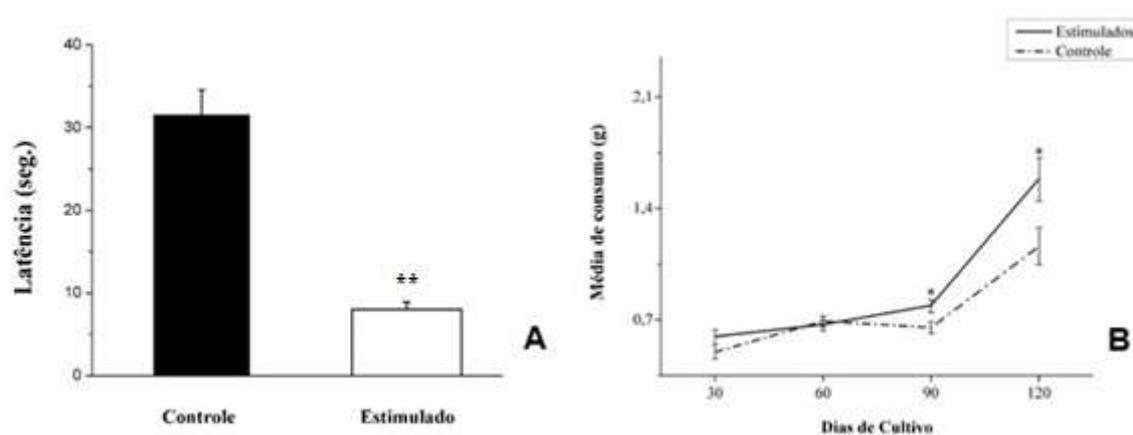


Fig. 7. (A) Comparação da latência para alimentação, em segundos, dos grupos controle média  $31,51 \pm 3,5$  e estimulados com média  $8 \pm 0,868$ , significativamente diferentes; (B) Média de consumo diário dos grupos controle e estimulado no período de 120 dias de cultivo. Diferença entre as médias é observada a partir dos 90 dias de cultivos, valores representados em média e erro padrão ( $p < 0,05$ ; ANOVA-Tukey).

Esta mudança comportamental está influenciando positivamente os parâmetros zootécnicos, como peso final, ganho em peso médio diário (GPMD), taxa de conversão alimentar e eficiência alimentar (Tabela 3) dos animais estimulados, o que confere a estes um desempenho significativo quando comparados com o controle. Em cativeiro esta espécie apresenta problemas na aceitação de ração principalmente em fases iniciais do desenvolvimento (INOUE *et al.*, 2009). Inicialmente podemos inferir que a estimulação elétrica de baixa intensidade melhora os aspectos atrativos da ração, que a princípio estimula apenas o olfato e a visão dos animais.

Tabela 3. Parâmetros zootécnicos mensurados durante os 120 dias de cultivo dos grupos controle e estimulado.

<b>Parâmetros</b>	<b>Controle</b>	<b>Estimulado</b>
Peso inicial (g)	16,3 ± 0,7	16,02 ± 0,6
Peso Final (g)	44,5 ± 2,6	53,7 ± 1,8*
GPMD (g)	0,24 ± 0,03	0,32 ± 0,002*
Comprimento Total Inicial (cm)	13,1 ± 0,2	13,02 ± 0,17
Comprimento Total Final (cm)	19,6 ± 0,5	20,6 ± 0,2
Taxa de Conversão Alimentar (g)	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,01*
Eficiência Alimentar (%)	0,41 ± 0,03	0,55 ± 0,003*

Ganho em peso médio diário (GPMD), valores são média ± SE. (\*) indica diferença significativa entre médias da mesma linha;  $p < 0,05$ ,  $n = 4$  (ANOVA-Tukey).

Um fator importante a ser observado é a projeção destes dados na curva de crescimento destes grupos, que demonstra uma estimativa de ganho de aproximadamente 30% no peso ao final de 365 dias de cultivo para o grupo estimulado (Tabela 4). Também é possível observar nesta projeção que o grupo estimulado atinge um determinado peso cerca de 150 dias antes que o controle.

Tabela 4. Projeção estimada do peso dos grupos controle e estimulado em um ciclo de cultivo com duração de um ano em ambiente de laboratório.

<b>Dias de cultivo</b>	<b>Peso (g)</b>		<b>Ganho (%)</b>
	<b>Controle</b>	<b>Estimulado</b>	
115	43,97	50,88 <sup>a</sup>	15,70
120	44,30	51,46 <sup>a</sup>	16,15
150	46,06	54,63 <sup>a</sup>	18,61
200	48,39	59,04	22,00
270	50,91 <sup>a</sup>	64,06	25,83
300	51,81 <sup>a</sup>	65,93	27,24
365	53,52 <sup>a</sup>	69,57	29,97

Valores obtidos pela equação  $y = A2 + (A1-A2)/(1+(x/x0)^p)$ . Letras iguais indicam similaridade entre valores.

Vale salientar que, mesmo sob forte controle, as condições de cultivo em laboratório não são as ideais e mais confortáveis para os animais, devido a diversos fatores de manejo neste ambiente que é menos resiliente. Segundo Kubitz et al. (1998) e Campos (2010), para um bom desempenho no cultivo de surubins deve ser ofertado de três a seis lances de ração 45% de PB por dia e de 4 a 10% do peso vivo de cada tanque. Em nosso estudo ofertamos o alimento apenas uma vez ao dia com ração 32% PB o que explica os valores de crescimento inferiores que em situação real de cultivo. Mesmo assim fomos capazes de demonstrar que a eletroestimulação é eficiente em molhorar o desempenho do surubim. E podemos esperar resultados ainda melhores em campo e sobre condições reais de cultivo.

### **Análises Hematológicas**

As células observadas no sangue dos animais neste estudo não diferiram dos demais estudos de caracterização sanguínea de teleósteos no que se refere à morfologia. Pequenas variações na quantidade e nos tipos de células encontradas são aceitáveis devido às variações entre as espécies (JERÔNIMO *et al.*, 2009; TAVARES-DIAS *et al.*, 2008). Os critérios para identificação dos tipos celulares foram os mesmos descritos por Sousa et al. (2013), sendo eles a morfologia do núcleo, a relação deste com o citoplasma, a distribuição dos grânulos no citoplasma e a coloração, que por sua vez seguiu o princípio de coloração de Romanowsky. Na tabela 5 encontram-se os resultados do hematócrito realizado com o sangue dos grupos controle e estimulado, cujos valores não apresentaram diferença estatística.

Tabela 5. Valores (%) do hematócrito dos grupos controle e estimulado nos meses de cultivo (ANOVA-Tukey).

<b>Dias de Cultivo</b>	<b>Grupos Experimentais</b>		<b>Valor de Referência</b>
	<b>Controle</b>	<b>Estimulado (30Hz)</b>	
30	24,9 ± 1,8	26,7 ± 2,08	
60	32,3 ± 2,5	30,4 ± 2,06	25,0 - 41,0
90	23,8 ± 2,8	23,7 ± 2,3	
120	27,7 ± 3,7	32,5 ± 1,8	

Os valores estão dentro do esperado para a espécie e correspondem aproximadamente aos valores encontrados por Tavares-Dias et al. (2009) em seu estudo. Isso demonstra que neste aspecto, a estimulação elétrica de baixa intensidade não leva a alterações eritrocitárias nesta espécie. Uma vez que animais expostos a agentes estressores apresentam estas alterações em até 72 h, como descrito por Cyriac et al. (1989), e tais alterações não ficaram evidentes durante os 120 dias deste estudo, é aceitável afirmar que estes animais estão em boas condições de saúde e bem-estar. Segundo Bezerra et al. (2013) outras indicações de estresse como retardo do crescimento, redução na alimentação e suscetibilidade a infecções podem ocorrer, porém tais indicações não foram evidenciadas neste estudo.

Os parâmetros leucocitários também não diferiram entre os grupos. Os valores percentuais da contagem diferencial estão expressos abaixo (tabela 6) juntamente com a relação neutrófilos/linfócitos, onde os linfócitos foram as células mais abundantes seguidos de monócitos e neutrófilos, estando em conformidade aos trabalhos de Davis et al. (2008), Tavares-dias *et al.* (2008), Jerônimo *et al.* (2009) realizados com outras espécies, estando estes valores dentro da normalidade.

Tabela 6. Perfil leucocitário e relação neutrófilo/linfócito dos grupos controle e estimulado nos 120 dias de cultivo,  $p < 0,05$  (ANOVA-Tukey).

Dias de Cultivo	Tipos Celulares	Grupos Experimentais		Relação N/L	
		Controle	Estimulado	Controle	Estimulados
30	Neutrófilos	7,87 ± 4,94	5,37 ± 3,73	0,1471 ± 0,044	0,0998 ± 0,045
	Monócitos	32,13 ± 8,29	32,29 ± 11,71		
	Linfócitos	59,33 ± 10,32	60,38 ± 11,28		
60	Neutrófilos	2,74 ± 1,80	2,56 ± 1,45	0,0506 ± 0,01	0,0445 ± 0,022
	Monócitos	19,38 ± 8,56	21,56 ± 9,07		
	Linfócitos	76,44 ± 9,09	75,19 ± 11,09		
90	Neutrófilos	3,62 ± 1,57	1,62 ± 0,75	0,0692 ± 0,045	0,0113 ± 0,006
	Monócitos	36,5 ± 10,21	42,38 ± 8,46		
	Linfócitos	56,5 ± 10,19	47,5 ± 10,60		
120	Neutrófilos	2,58 ± 0,49	1,83 ± 0,32	0,0885 ± 0,069	0,0371 ± 0,006
	Monócitos	44,08 ± 12,35	38,58 ± 10,66		
	Linfócitos	50,83 ± 10,27	49,42 ± 5,34		

Segundo Davis et al. (2008) estes parâmetros são bons indicadores de estresse, principalmente a relação entre neutrófilos e linfócitos. Estes resultados demonstram que provavelmente estes animais não sofreram estresse imposto pelo estímulo elétrico. Uma vez que não há diferença entre as médias dos grupos, podemos considerar o mesmo estado de sanidade entre eles. Mesmo não havendo diferença estatística entre os grupos estudados os animais estimulados apresentam uma tendência a menor valor de relação neutrófilo/linfócito, o que está associado diretamente com a redução de neutrófilos neste grupo. Esta tendência nos leva a aceitar que o estímulo elétrico aplicado em condições ideais de cultivo pode levar também a uma melhora no bem-estar dos animais, tendo em vista que as mudanças no perfil leucocitário podem ser relacionadas aos níveis de cortisol e catecolaminas no sangue destes animais (Davis et al., 2008). Aumento nos níveis desses hormônios leva a uma maior proliferação de neutrófilos e uma redução dos linfócitos.

### **Análises de estresse oxidativo**

Os resultados destas análises demonstraram um bom estado de sanidade dos animais estimulados (fig. 11), uma vez que não foi evidenciado diferença entre os grupos. Os resultados do TBARS, (fig. 11 A) níveis de Malondialdeído um subproduto da peroxidação lipídica, como os resultados apresentados na figura (11 B) que representa a quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e na figura (11 C) onde se encontra a relação entre glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSG), nos permite essa conclusão.

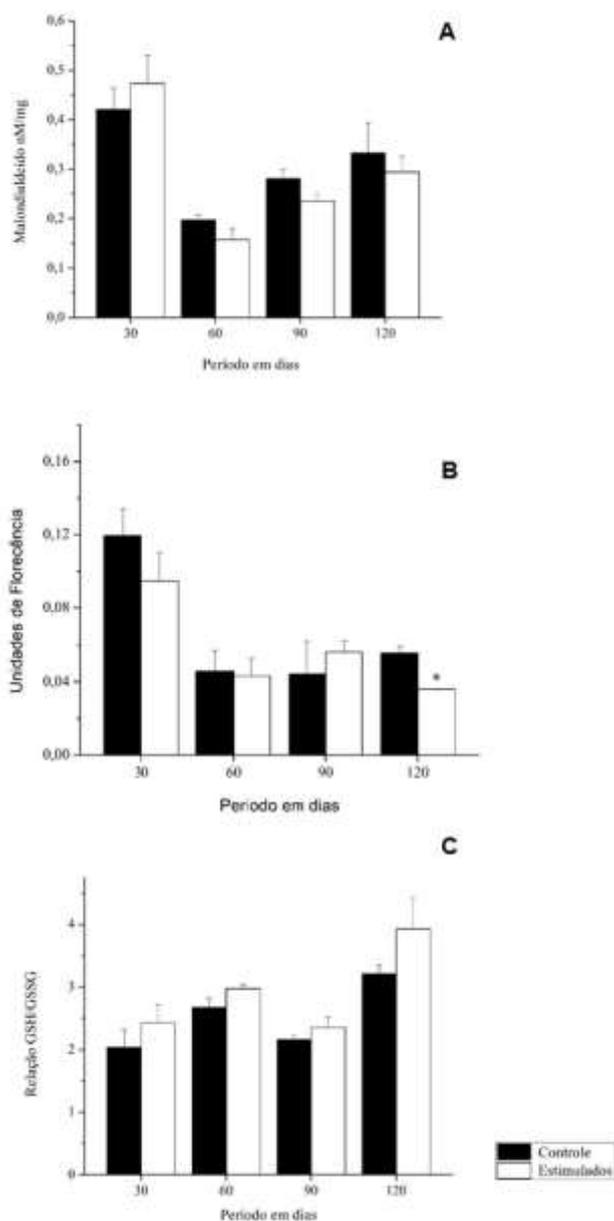


Fig. 11. (A) Quantificação indireta da peroxidação lipídica pelo ensaio TBARs nos extratos de fígado. Valores de malondialdeído expressos em nM/mg de proteína, durante os dias de cultivo nos grupos controle e estimulado, não havendo diferença entre os grupos. (B) Quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) dos extratos de fígado, durante os dias de cultivo nos grupos controle e estimulado, (\*) indica diferença entre controle e estimulados  $p > 0,05$  (ANOVA-Tukey). (C) Relação GSH/GSSG realizada como os extratos de fígado, indicação do estado redox dos grupos controle e estimulado durante os dias de cultivo que não apresenta diferença entre os grupos.

No primeiro mês de cultivo ocorreu a maior produção de malondialdeído indicando maior peroxidação lipídica, sendo este resultado esperado devido ao período de adaptação dos animais ao ambiente de laboratório. No estudo realizado por Peng-Fei et al. (2016), com alimentação de peixes onde o agente estressor foi altos níveis de gordura, os autores

observaram a maior peroxidação lipídica relacionada com maiores níveis de gordura na ração, que levava a um estado de estresse oxidativo. No entanto, não havendo diferença entre os grupos experimentais podemos afirmar que os animais estimulados, não sofrem estresse no tratamento com eletroestimulação.

A quantificação de espécies reativas de oxigênio ROS está em conformidade com os dados de TBARs, uma vez que quanto maior a produção de ROS, maior será a peroxidação lipídica (PENG-FEI et al., 2016).

Como esperado no primeiro mês, foi observado uma maior produção de ROS pelos grupos experimentais, possivelmente associado à aclimatação dos animais ao laboratório (iluminação e manejo) sem diferença entre os grupos. Porém, no quarto mês, foi observado diferença entre os grupos, onde os animais estimulados apresentaram um valor menor que o controle. Este resultado reforça a ideia que o estímulo elétrico associado à alimentação leva a uma melhor condição fisiológica, no entanto, não fica claro o porquê desta diferença. As espécies reativas de oxigênio são moléculas importantes para várias funções metabólicas nos organismos. Neste caso, é necessário estudo do metabolismo desta espécie para identificar se há influências do estímulo elétrico nesta oscilação, que neste trabalho, não demonstrou ser problemática para os animais estimulados, devido ao bom desempenho apresentado.

O estado redox dos grupos não apresentou diferença com o valor da relação entre glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG), ficando acima de um como indicado na figura (11 C) indicando maior concentração de GSH, o que é esperado em condições normais de sanidade (AMADO et al., 2009).

Estes resultados complementam os anteriores e confirmam que o estímulo elétrico não leva os animais a um estado de estresse. O que parece é que este estímulo sensorial proporciona um certo bem-estar nos animais e que a longo prazo este bem-estar fica mais evidente. É bastante plausível aceitar que a associação do estímulo elétrico com um ambiente real de cultivo venha a produzir excelentes resultados tanto nos aspectos zootécnicos quanto nos fisiológicos. Isso provavelmente se dá pelo enriquecimento ambiental que o estímulo elétrico produz quando no momento da alimentação simula uma presa viva. Isto, para uma espécie carnívora como o surubim, representa um aumento na atratividade da ração para estes.

## CONCLUSÃO

Os animais submetidos ao estímulo elétrico de 30 Hz apresentam melhor desempenho zootécnico em relação ao controle. Desta forma a estimulação elétrica de baixa intensidade mostrou-se eficiente na modulação do comportamento alimentar do surubim, aumentando a aceitação da ração e melhorando seus parâmetros zootécnicos.

A eletroestimulação é segura e eficaz, sua associação com o manejo apropriado para o cultivo do surubim pode prover melhorias no rendimento produtivo desta espécie. Há evidências que a associação da eletroestimulação com a alimentação nesta espécie proporciona mudanças fisiológicas. Porém, estudos do metabolismo da espécie são necessários para esclarecer a influência do estímulo elétrico em parâmetros que apresentam certas tendências nos animais estimulados.

## REFERÊNCIAS

AMADO, L.L. et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the total environment**, v. 407, p. 2115-2123, 2009.

ALVES, A.L.; VARELA, E.S.; MORO, G.V.; KIRSCHNIK, L.N.G. 2014. **Riscos Genéticos da Produção de Híbridos de Peixes Nativos**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 60 p. (Documentos / Embrapa Pesca e Aquicultura).

BEZERRA, R.F. et al. Pirarucu, *Arapaima gigas*, the amazonian giant fish is briefly reviewed. In: **Fish, Fishing and Fisheries**, Nova Biomedical, New York, 2013, p. 49.

BULLOCK, T.H.; NORTH CUTT, R.G.; BODZNICK, D.A. Evolution of electroreception Original Research Article **Trends in Neurosciences**, v. 5, p. 50-53, 1982.

CAMPOS, J.L. O cultivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: **BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds.)** Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, 2ª ed., 2010. p. 335-361.

CYRIAC, P.J.; ANTONY, A.; NAMBISAN, P.N.K. Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) after short term exposure to copper and Mercury. **Bulletim of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 315-320, 1989.

CREPALDI, D.V. et. al. O surubim na aquicultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3, p. 150-158, 2006.

DAVIS, A.K; MANEY, D.L; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, p. 760–772, 2008.

FAGUNDES, M. Estudos fisiológicos e metabólicos do estresse de manejo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). 2009. 139fl. Tese (Doutorado em Aquicultura) Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo, 2009.

GOLDENFARB, P.B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v.56, n.1, p.35-39, 1971.

INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; 2009. Princípios básicos para produção de alevinos de surubins (pintado e cachara). Dourados: **Embrapa Agropecuária Oeste**; Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**; Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2009, 26 p.

JERÔNIMO, G.T. et. al. Hematological parameters of *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Pimelodiade) from polluted and non-polluted sites in the Itajaí-Açu river, Santa Catarina State, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 31, p. 179-183, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da pecuária municipal 2016. **Produção Pecuária Municipal**, v.44, 2016.

KRAMER, B. Electroreception and Communication in Fishes. In: Kramer, B. **Progress in Zoology**. 42. ed. Jena, Gustav Fischer Verlag, 1996, p. 119.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. Produção Intensiva no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. **Panorama da Aquicultura**, v.8, p.41-49, 1998.

PETTIGREW, J.D. Electroreception in monotremes. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 1447-1454, 1999.

ROMAGOSA, E. et al. Biologia reprodutiva de fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae), mantidas em cativeiro. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 151-159, 2003.

SANTOS, J.F. et al. Digestive enzyme activity in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) under pond and cage farming systems. *Fish Physiology Biochemistry*, v. 42, p. 1259–1274, 2016.

SILVA, L.C. **Efeito da estimulação elétrica de baixa intensidade na aceitação do alimento inerte no surubim *pseudoplatystoma corruscans***. 2014. 50fl. Dissertação (Mestre em Bioquímica e Fisiologia), Centro e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2014.

SILVA, L.C.; BEZERRA, R.S.; SANTOS, S.D.; SILVA, V.L. Estimulador elétrico para alimentação e atração de peixes e seu processo de utilização. *Revista de Propriedade Industrial*, 2294, BR 10 2012 033510-7 A2, 2014.

SILVA, A.P.; Lima, A.F.; Lundstedt, L.M. A pesca e a aquicultura de surubins no Brasil: Panorama e considerações para a sustentabilidade. Palmas, TO: Documentos **Embrapa Pesca e Aquicultura** 21, 2015, 42 p.

SOUSA, F.M.C.; et. al. Morfologia das células sanguíneas de mandi (*Pimelodus maculatus*, lacépède, 1803). **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 21, acesso em 02/11/2016 <http://faef.revista.inf.br/site/e/medicina-veterinaria-21-edicao-julho-de-2013.html#tab906>.

TAVARES-DIAS, M. et. al. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. **In: Saran-Neto, M.; Pozzobon-Soria, W.S. (Org.). Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal** (1ª ed.), Pedro & João Editores, São Carlos, 2009.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; IMOTO, M.E. Hematological parameters in two neotropical freshwater teleost, *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) and *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). **Bioscience Journal**, v. 24, p. 96-101, 2008.

ZAKON, H.H. The electroreceptors: diversity in structure and function. **In: Sensory Biology of Aquatic Animals**. Atema, J.; Fay, R. R.; Popper, A. N.; Tavalga, W. N. (Ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1988, p. 813-850.

PENG-FEI, Z. et al. Dietary lipid concentrations influence growth, liver oxidative stress, and serum metabolites of juvenile hybrid snakehead (*Channa argus* 3 *Channa maculata*). **Aquaculture International**, v. 24, p. 1353-1364, 2016.

## 5 USO DE CAMPO ELÉTRICO DE BAIXA INTENSIDADE NO TREINAMENTO ALIMENTAR DE SURUBIM (*Pseudoplatystoma corruscans*)

Luciano Clemente da Silva<sup>a</sup>; Sergio Antônio Medeiros Marinho<sup>b</sup>; Caio Rodrigo de Assis<sup>a-c</sup>; Valdir Luna da Silva<sup>a</sup>; Ranilson de Souza Bezerra<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Fisiologia Comparada e Comportamento Animal, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Recife, Pernambuco; <sup>b</sup> Ceraqua-CODEVASF, Porto Real do Colégio-AL; <sup>c</sup> Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica – UFPE., luciano\_tempus@yahoo.com.br

### RESUMO

Com o objetivo de verificar os efeitos do uso de campo elétrico de baixa intensidade no treinamento alimentar de alevinos de *P. corruscans*, foi realizado na base da CODEVASF Ceraqua-AL, o treinamento de 600 alevinos para o consumo de ração, os animais divididos ao acaso em dois grupos experimentais, controle e estimulado, em triplicata. Nosso experimento teve duração total de 30 dias. Os animais foram mantidos em caixa de PVC 200 litros de água com renovação constante. Foram mensurados ganho em peso, comprimento total, latência e taxa de sobrevivência como parâmetros de desempenho dos grupos experimentais. Ao final do experimento a latência para o comportamento alimentar foi diferente nos grupos com média de  $7,13 \pm 0,612$  segundos no grupo estimulado e  $19,01 \pm 1,45$  para o controle, demonstrando um efeito modulador do comportamento pelo estímulo elétrico. Porém não houve aumento no desempenho (ganho em peso e comprimento total) dos animais estimulados com relação ao controle. Apesar de os benefícios da estimulação elétrica para animais em treinamento não ficarem evidentes, é possível que os peixes na fase seguinte (pós treinamento) possam apresentar resultados ainda melhores. São essenciais mais estudos que reúnam estas duas fases do desenvolvimento do surubim em um único experimento.

## INTRODUÇÃO

A aquicultura é um setor de produção de alimentos que vem demonstrando nas últimas décadas um crescimento significativo com a produção de 73,8 milhões de toneladas no ano de 2014, segundo os dados da Food and Agriculture Organization of United National – FAO (2016). Neste contexto, a piscicultura tem destaque no Brasil com a contribuição de mais de 70% do pescado que é produzido no país, sendo tilápia, tambaqui e seus híbridos, carpa e surubins (bagres do gênero *Pseudoplatystoma*) as espécies mais cultivadas (IBGE, 2016).

Os surubins são peixes de couro que alcançam grande porte com exemplares capturados na natureza com mais de 30 Kg (relatos locais) e são bastante apreciados tanto na culinária nacional quanto na internacional. O cultivo desta espécie é promissor devido ao seu bom rendimento e seu rápido crescimento (FANTINI et al., 2013), porém gargalos no processo produtivos, como alta mortalidade e dificuldades na reprodução, tornam seu cultivo oneroso principalmente para pequenos produtores (INOUE et al., 2009).

De modo geral a piscicultura de peixes carnívoros e também de algumas espécies onívoras apresentam, em fases iniciais do desenvolvimento como larvicultura e alevinagem, uma baixa aceitação do alimento inerte e conseqüentemente alto índice de canibalismo (DEIMER et al 2010). Estes problemas dificultam o alcance do grande potencial que tem este setor, devido às taxas de sobrevivência de algumas espécies de interesse comercial não chegarem a 20%, da eclosão ao abate, elevando o custo do produto final.

Vários estudos tentam encontrar soluções para este problema, tais como pesquisas da fisiologia, das exigências nutricionais e do comportamento de várias espécies, estudos estes que vêm fomentando novas técnicas que possibilitam a utilização destes animais no sistema de cultivo (SOUZA et al., 2015; SILVA et al., 2014; SOUZA et al., 2014; SANTOS et al., 2013; ANDRADE et al., 2004).

Um avanço significativo nas últimas décadas foi o desenvolvimento de técnicas para o treinamento dos alevinos para a aceitação do alimento seco. Mesmo com taxas de sobrevivência ainda baixa para algumas espécies, o treinamento alimentar viabilizou o cultivo de espécies como o *P. corruscans* (surubim) e *Arapaima gigas* (pirarucu) (INOUE et al., 2009; RODRIGUES et al., 2015).

Porém estudos sobre estímulos que podem modular comportamentos não são os mais comuns, embora possam proporcionar avanços nos métodos já existentes. O estímulo elétrico é, para algumas espécies, mais significativo que estímulos visuais ou olfativos (GIAQUINTO e HOFFMANN, 2010), e levam o animal a apresentar comportamentos variados como fuga (medo), agressividade e comportamentos de alimentação (predação, forrageio etc.). Estudos como os de Collin e Whitehead (2004), Hanika e Kramer (2000), Asano e Hanyu (1986), Peters e Buwalda (1972) e Roth (1968) demonstraram a sensibilidade dos bagres com relação a campos elétricos com baixa intensidade e frequência, o que levou a Silva et al. (2014) a desenvolverem e patentearem o sistema de estimulação elétrica, que aumenta o consumo de ração por surubins já treinados em aproximadamente 30% em relação ao grupo não estimulado. Assim, o objetivo neste estudo foi avaliar os efeitos do uso de campo elétrico de baixa intensidade no treinamento alimentar de alevinos de *P. corruscans*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na base da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (CODEVASF) Ceraqua-AL, localizado em Porto Real do Colégio – Alagoas, no período de 22 de maio a 26 de junho de 2017. Foram treinados para o consumo de ração 600 alevinos de *P. curruscans*, no período de cultivo de 30 dias. A média geral dos animais foi de  $314.17 \pm 14.06$  mm e  $0.353 \pm 0.015$  g de comprimento total e peso, respectivamente. Após a biometria inicial os animais foram divididos em dois grupos em triplicata aleatoriamente: um grupo foi estimulado com campo elétrico de baixa intensidade (2,5 mV/cm) e frequência de 30 Hz, e um grupo controle, formando assim seis caixas de 200 L com 100 alevinos cada. Os animais foram mantidos em caixas circulares de PVC com renovação constante de água e vazão de 106,5 Litros/hora. Os parâmetros de água foram mensurados a cada três dias com auxílio de oxímetro portátil, pHmetro de bolso e kit Labcon amônia tóxica para água doce. Os valores obtidos foram  $5,8 \pm 1,35$  mg/L oxigênio dissolvido, a temperatura teve a média de  $25,9 \pm 0,72$  °C, o pH ficou na média de  $7,4 \pm 0,35$  e a amônia variou com média de  $0,034 \pm 0,03$  todos os valores ficaram dentro da faixa aceitável para o cultivo da espécie.

Todas as manhãs era realizada a manutenção nas caixas para remoção dos resíduos de alimento e fezes. Neste momento era realizada a inspeção para contabilizar os animais mortos para avaliação da taxa de sobrevivência.

A estimulação elétrica foi feita duas vezes ao dia, as 5:00 h da manhã e as 16:30 h da tarde, sempre no momento em que os animais foram alimentados todo este processo que abrange alimentação e eletroestimulação teve duração de 15 min. O treinamento alimentar foi realizado com ração comercial para peixes carnívoros NANOLIS 45% de proteína bruta (PB) extrusada, com pellets de 1.8 a 2.0 mm e coração bovino triturado. A quantidade de alimento ofertada foi igual para todos os grupos, sendo de mais de 15% do peso vivo por caixa diariamente. Este treinamento se constituiu na substituição de forma gradual do alimento inerte mais palatável, o coração bovino, pela ração comercial, sendo dividido em cinco etapas segundo Inoue et al. (2009). Na primeira etapa foi ofertado apenas coração bovino, que na sequência foi sendo substituído por uma mistura com 20, 50, 80% de ração até que foi ofertado a ração pura, momento o qual foi considerado o término do treinamento.

Durante o processo de treinamento foi observada a aceitação do alimento pelos alevinos. Sempre que foi constatado que os animais estavam se alimentando era então passada a etapa seguinte. Esta transição entre o tipo de alimento ofertado levou em média 42h de uma para a outra. A latência para a alimentação foi mensurada assim que os animais apresentaram o comportamento alimentar na lamina d'água, que ocorreu 8 dias após o início do treinamento. Outros parâmetros, como comprimento total, ganho em peso, taxa de sobrevivência e taxa de conversão, também foram utilizados para avaliar o desempenho dos animais comparando os grupos controle e estimulado. Os dados biométricos foram coletados no início do experimento e após decorrido 30 dias deste. Estes parâmetros foram analisados utilizando o programa OriginPro 8.0 e o modelo estatístico utilizado foram a comparação de médias pelo Paired sample t Test e ANOVA-one-way Tukey. Os resultados são apresentados como média e erro padrão e foram considerados significativamente diferentes quando  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS

Como resultado do treinamento alimentar foi observada a mudança comportamental dos animais, que inicialmente não aceitavam a ração comercial na sua dieta. O treinamento em si teve duração de 12 dias com aceitação de dieta composta por 100% de ração seca, e já sendo observado anteriormente a este período o comportamento alimentar dos animais na lamina d'água. Na tabela 10 encontram-se os valores de peso inicial e final, comprimento total inicial e final, o percentual de ganho em peso e taxa de conversão dos grupos controle e estimulados. Tais parâmetros não apresentaram diferença entre os grupos, apenas uma discreta tendência no percentual de ganho em peso dos animais estimulados e um aumento no peso e comprimento total de ambos os grupos com relação ao peso inicial.

Tabela 10. Parâmetros biométricos dos grupos experimentais, inicial e após 30 dias de experimento com os animais já treinados para o consumo de ração.

Parâmetros	Grupos	
	Controle	Estimulados
Peso inicial (g)	0,366 ± 0,048	0,340 ± 0,05
Peso final (g)	0,693 ± 0,03	0,673 ± 0,02
Comprimento inicial (cm)	3,196 ± 0,083	3,086 ± 0,574
Comprimento final (cm)	4,853 ± 0,112	4,666 ± 0,122
Ganho em peso (%)	89,57 ± 14,04	103,92 ± 8,54
Taxa de conversão (%)	2,54 ± 0,151	2,53 ± 0,107

ANOVA-one-way, Tukey,  $p > 0,05$ .

A sobrevivência dos grupos experimentais também foi similar com valores médios de  $89,66 \pm 1,66\%$  no grupo controle e  $84,5 \pm 6,06\%$  para os animais estimulados (fig. 12A). Enquanto que, latência para exibição do comportamento alimentar mostrou diferença entre os animais controle e estimulados, tendo estes um tempo de resposta menor à oferta do alimento, com médias de  $7,13 \pm 0,612$ , em comparação com o grupo controle, com média de  $19,01 \pm 1,45$  (fig. 12B).

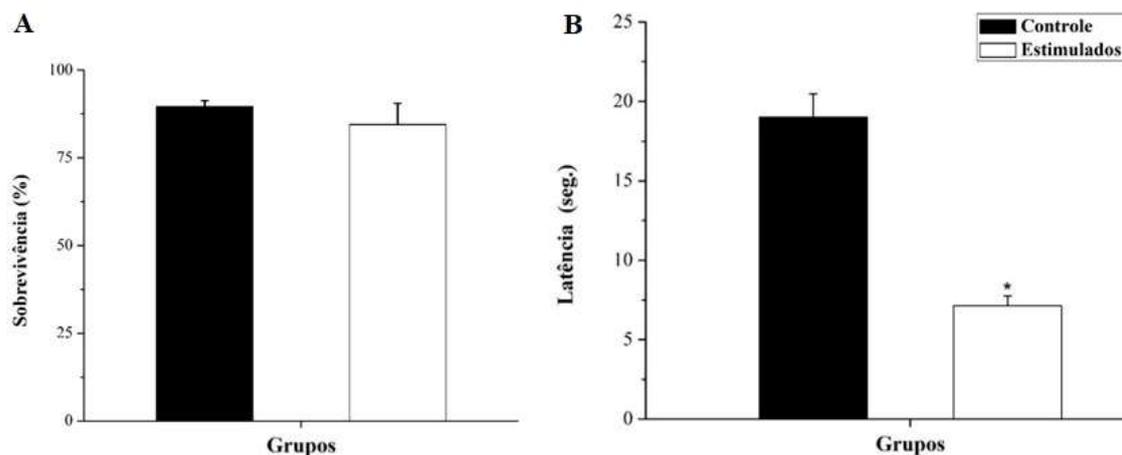


Fig. 12. (A) taxa de sobrevivência dos grupos controle e estimulados não apresenta diferença entre os grupos, ambos os grupos ficaram acima de 80% de sobrevivência o que é considerado um bom resultado para esta fase do desenvolvimento desta espécie. (B) latência para o comportamento alimentar expressa em segundos, demonstra diferença entre os grupos controle e estimulado. Este último apresenta uma latência significativamente menor, comparação entre médias Test-t erro padrão,  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

Segundo Inoue et al., (2009) o treinamento alimentar do surubim tem duração entre 15 e 18 dias após seu início. No presente trabalho, o tempo foi de 12 dias. Neste período os animais já apresentaram a aceitação da ração seca sem qualquer aditivo. Uma vez que os parâmetros zootécnicos entre os grupos não apresentaram diferença, associamos esta redução no período de treinamento com as boas condições nos parâmetros da água e a baixa densidade de estoque que são importantes para o bom desempenho no cultivo de surubins (SILVA et. al., 2015), assim não podemos associar a boa taxa de sobrevivência a estimulação elétrica.

Ambos os fatores, densidade e qualidade da água são relevantes para o bem-estar dos animais no ambiente de cultivo (FAGUNDES, 2009; ANDRADE, et al., 2004), permitindo uma maior resiliência e uma melhor adaptação às mudanças no manejo, que por sua vez, conferem bom desempenho produtivo. Tal afirmação pode ser sustentada pelos bons resultados em ambos os grupos experimentais, que apresentaram alta taxa de sobrevivência quando comparamos com o trabalho de Inoue et al. (2009), que relata sobrevivência de 30% a 40% após 30 dias de alevinagem, bem como os trabalhos de Wenderlaar Bonga (1997), Pankhurst et al. (2008) e Fagundes (2009), que relacionam os problemas de desempenho no

cultivo de peixes com práticas e fatores estressores. Estes relacionam o bem-estar dos animais nos diversos sistemas de cultivo com o bom desempenho produtivo dos mesmos.

Em testes anteriores (SILVA et al., 2014), a estimulação elétrica de baixa intensidade mostrou-se eficaz como modulador do comportamento alimentar de peixes já treinados para comer ração, que apresentaram aumento significativo no consumo após 90 dias de cultivo.

Considerando tais resultados e associando aos aqui expostos, isso nos sugere que o estímulo elétrico atue como um indicador da presença e disponibilidade do alimento no ambiente, que para um animal já condicionado ao consumo de alimento seco é a única barreira para o comportamento alimentar. A detecção do alimento ou presa e a captura desta são etapas do processo de alimentação que devem ser seguidos para a realização deste comportamento. Segundo o estudo de Dill (1983), o comportamento alimentar de peixes exibe uma flexibilidade moldada por fatores ambientais e aprendizagem como disponibilidade e preferência por determinado alimento, o que ocorre para um animal não treinado cujo hábito carnívoro o leva a busca de presas vivas, e mesmo o estímulo elétrico indicando a presença e disponibilidade do alimento, estes não identificam a ração inerte como tal.

No entanto, durante o treinamento foi observado, através da latência dos grupos controle e estimulados, mudança comportamental gerada pela eletroestimulação que pode ser significativa no período de engorda, pós treinamento alimentar. Animais treinados para o consumo de ração com o estímulo elétrico apresentam um menor tempo para a detecção, apreensão e consumo do alimento, o que favorece a conservação das propriedades nutricionais do mesmo devido ao menor tempo de exposição da ração à água, e levando em consideração os dados de Silva et al. (2014) cujo estímulo elétrico aumenta o consumo de ração podemos esperar benefícios no cultivo destes animais. Segundo Freitas et al., (2016) a lixiviação de nutrientes da ração é um fator que prejudica a qualidade nutricional da mesma como também a qualidade da água, uma vez que a ração é constituída de nutrientes essenciais que podem causar eutrofização. Quanto maior for o tempo de exposição à água, maiores serão as alterações físicas e químicas do alimento.

Também é provável que diferenças zootécnicas apenas sejam evidentes após um determinado tempo de cultivo, como foi visto por Silva et al. (2014), que manteve o cultivo do surubim por mais de 90 dias. Para comprovar esta teoria são necessários estudos que mantenham o cultivo dos animais por alguns meses pós treinamento, assim teremos um

entendimento do real potencial da eletroestimulação nesta fase do desenvolvimento do surubim.

## CONCLUSÃO

O treinamento alimentar se mostra bastante eficiente com taxa de sobrevivência maior que 80% quando controlados os fatores que podem causar estresses aos alevinos, como densidade e qualidade da água, como foi observado neste estudo. A eletroestimulação modulou o comportamento dos animais reduzindo a latência para alimentação dos indivíduos estimulados de modo significativo. Os benefícios da eletroestimulação no treinamento desses animais não são evidentes de forma isolada. Mesmo assim, não se pode refutar prováveis benefícios da eletroestimulação aplicada ao treinamento em fases seguintes a este, sendo assim necessários estudos que possam testar tal hipótese.

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Julieta de Fatima Xavier da Silva, professora adjunta da universidade federal de Alagoas e à equipe de técnicos da base da CODEVASF Ceraqua-AL.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, L.S.; HAYASHI, C.; SOUZA, S.R.; SOARES, C.M. Canibalismo entre larvas de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*, cultivadas sob diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 299-302, 2004.

ASANO, M.; HANYU, I. Sensitivity to electricity in the catfish, *Parasilurus asotus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 86, n. 3, p. 485-489, 1987.

COLLIN, S.P.; WHITEHEAD, D. The functional roles of passive electroreception in nonelectric fishes. **Animal Biology**, v. 54, n. 1, p. 1-25, 2004.

DIEMER, O.; NEU, D.H.; SARY, C.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.A. Manejo alimentar na larvicultura do mandi-pintado (*Pimelodus britskii*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.3, p. 903-908, 2010.

DILL, L.M. Adaptive Flexibility in the foraging behavior of fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 40, p. 398-408, 1983.

FAGUNDES, M. Estudos fisiológicos e metabólicos do estresse de manejo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). 2009. 139fl. Tese (Doutorado em Aquicultura) Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo, 2009.

FANTINI, L.E.; RODRIGUES, R.A.; NUNES, A.L.; SANCHEZ, M.S.S.; USHIZIMA, T.T.; CAMPOS, C.M. Rendimento de carcaça de surubins *Pseudoplatystoma* spp. produzidos em tanquerede e viveiro. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.14, n.3, p. 538-545, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONAL (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**, 2016.

FREITAS, L.E.L.; RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; LUNDSTEDT, L.M. Práticas para avaliação da qualidade física em rações para peixes. **Embrapa Palmas –TO**, Circular Técnica 3, 2016, 7 p.

GIAQUINTO, P.C.; HOFFMANN, A. Role of olfaction and vision cues in feeding behavior and alarm reaction in the catfish pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*. **Journal of Ethology**, v. 28, p. 21-27, 2010.

HANIKA, S.; KRAMER, B. Electrosensory prey detection in the African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Clariidae), of a weakly electric mormyrid fish, the bulldog (Marcusenius macrolepidotus). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, n. 48, p. 218–228, 2000.

INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; 2009. Princípios básicos para produção de alevinos de surubins (pintado e cachara). Dourados: **Embrapa Agropecuária Oeste**; Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**; Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2009, 26 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da pecuária municipal 2013. **Produção Pecuária Municipal**, v.44, 2016.

PANKHURST, N.W.; LUDKE, S.L.; KING, H.R.; PETER, R.E. The relationship between acute stress, food intake, endocrine status and life history stage in juvenile farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v. 275, p. 311-318, 2008.

PETERS, R.C.; BUWALDA, R.J.A. Frequency response of the electroreceptors of the cat fish, *Ictalurus nebulosus* LeS. **Journal of Comparative Physiology**, n. 79, p. 29-38, 1972.

RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; SANTOS, V.R.V. Alimentação e nutrição do pirarucu (*Arapaima gigas*). **Embrapa Pesca e Aquicultura**, Palmas TO, 2015, 24p.

ROTH, A. Electroreception in the Catfish, *Amiurus nebulosus*. **Zeitschrift für vergleichende Physiologie**, v. 61, p. 196-202, 1968.

SANTOS, E.L.; CAVALCANTI, M.C.A.; FREGADOLLI, F.L.; MENESES, D.R.; TEMOTEO, M.C.; LIRA, J.E.; FORTES, C.R. Considerações sobre o manejo nutricional e alimentar de peixes carnívoros. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, n. 01, p. 2216-2255, 2013.

SILVA, L.C.; BEZERRA, R.S.; SANTOS, S.D.; SILVA, V.L. Estimulador elétrico para alimentação e atração de peixes e seu processo de utilização. **Revista de Propriedade Industrial**, 2294, BR 10 2012 033510-7 A2, 2014.

SILVA, W.S.; CORDEIRO, N.I.S.; COSTA, D.C.; TAKATA, R.; LUZ, R.K. Frequência alimentar e taxa de arraçoamento durante o condicionamento alimentar de juvenis de pacamã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.8, p.648-651, 2014.

SILVA, A.P.; LIMA, A.F.; LUNDSTEDT, L.M. A pesca e a aquicultura de surubins no Brasil: Panorama e considerações para a sustentabilidade. Palmas, TO: Documentos **Embrapa Pesca e Aquicultura** 21, 2015, 42 p.

SOUZA, R.F.C.; ROMÃO JÚNIOR, J.G.; FONSECA, A.F.; LUZ, R.K.; TAKATA, R. Períodos de condicionamento alimentar de juvenis de pirarucu na transição da alimentação de ração úmida para seca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.7, p. 622-625, 2015.

SOUZA, M.G.; COSTA, M.M.; SEABRA, A.G.L.; BALEN, R.E.; MEURER, F. Alimento vivo e inerte para alevinos de pacamã. **Revista Agrarian**, v.7, n.24, p.360-364, 2014.

WENDERLAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.

## 6 CONCLUSÃO GERAL

A eletroestimulação é uma ferramenta eficaz e segura na modulação do comportamento alimentar de surubins e deve ser utilizada no período de engorda. Animais estimulados apresentam melhor desempenho, principalmente quando previamente treinados para o consumo de ração comercial.

Durante o treinamento alimentar de surubim a eletroestimulação proporcionou redução na latência indicando sua eficiência na modulação do comportamento também nesta fase, porém devido o curto período de cultivo não foi possível verificar diferenças nos parâmetros zootécnicos dos alevinos treinado com e sem o estímulo elétrico.

Devido à grande complexidade dos mecanismos que regulam o comportamento alimentar, são necessários estudos mais direcionados e com metodologias mais apropriadas na busca dos efeitos da eletroestimulação nestes mecanismos, para um melhor entendimento das possíveis mudanças metabólicas neste processo.

## REFERÊNCIAS

AMADO, L.L.; GARCIA, M.L.; RAMOS, P.B.; FREITAS, R.F.; ZAFALON, B.; FERREIRA, J.L.R.; YUNES, J.S.; MONSERRAT, J.M. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the total environment**, v. 407, p. 2115-2123, 2009.

ARAÚJO, A.A. **Desenvolvimento do sistema sensorial do jundiá *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae)**. 2011. 83fl. Dissertação (Mestre em Biologia Celular e Molecular) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR 2011.

ARAÚJO, D.M.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; NAKAGOME, F.K. Hematologia de tilápias-do-nylo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária brasileira*, v. 46, n. 3, p. 294-302, 2011.

ASANO, M.; HANYU, I. Sensitivity to electricity in the catfish, *Parasilurus asotus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 86, n. 3, p. 485-489, 1987.

BROAD, A. et al. Effects of a shark repulsion device on rocky reef fishes: no shocking outcomes. **Marine Ecology Progress Series**, v. 408, p. 295-298, 2010.

BUITRAGO-SUÁREZ, U.A.; BURR, B.M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Blecker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, v. 1512, n. 1, p. 1-38, 2007.

BULLOCK, T.H.; NORTHUTT, R.G.; BODZNICK, D.A. Evolution of electroreception Original Research Article **Trends in Neurosciences**, v. 5, p. 50-53, 1982.

CAMPOS, J.L. O cultivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: **BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds.)** Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, 2ª ed., 2010. p. 335-361.

CARVALHO, E.G.; SEIBERT, C.S.; COELHO, M.S.; MARQUES, E.E. Parâmetros ematológicos de espécies nativas do rio Tocantins, *Auchenipterus nuchalis*, *Psectrogaster amazonica* e *Squaliforma emarginata* (Teleostei, Ostariophysi). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 31, n. 2, p. 173-177, 2009.

COELHO, S.R.C.; CYRINO, J.E.P. **Custos na produção intensiva de surubins em gaiolas**. *Informações Econômicas*, v.36, n.4, 2006. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/tec1-0406.pdf>

COLLIN, S.P.; WHITEHEAD, D. The functional roles of passive electroreception in nonelectric fishes. **Animal Biology**, v. 54, n. 1, p. 1-25, 2004.

COOMBS, S.; NEW, J.G.; Nelson, M. Information-processing demands in electrosensory and mechanosensory lateral line systems. **Journal of Physiology**, v. 96, p. 341-354, 2002.

- COUBES, P. et al. Electrical stimulation of the globus pallidus internus in patients with primary generalized dystonia: long-term results. **Journal of Neurosurgery**, v. 101, p. 189-194, 2004.
- CZECH-DAMAL, N.U.; LIEBSCHNER, A.; MIERSCH, L.; KLAUER, G.; HANKE, F.D.; MARSHALL, C.; DEHNHARDT, G.; HANKE, W. Electroreception in the Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*). *Proceedings of the Royal Society B*, v. 279, p. 663-668, 2012.
- DAVIS, A.K; MANEY, D.L; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, p. 760-772, 2008.
- DOMINGOS, G.A. **Eletróestimulação torácica no tratamento da dor em pacientes com fibromialgia**. 2010. 61fl. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Fisioterapia) Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC, 2010.
- ECARD, L. et al. Os efeitos da estimulação elétrica funcional na assimetria cortical inter-Hemisférica. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 65, n. 3, p. 642-646, 2007.
- FAGUNDES, M. Estudos fisiológicos e metabólicos do estresse de manejo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). 2009. 139fl. Tese (Doutorado em Aquicultura) Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo, 2009.
- FAGUNDES, M.; URBINATI, E.C. Stress in pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) during farming procedures. **Aquaculture**, v. 276, p. 112-119, 2008.
- FANTINI, L.E.; RODRIGUES, R.A.; NUNES, A.L.; SANCHEZ, M.S.S.; USHIZIMA, T.T.; CAMPOS, C.M. Rendimento de carcaça de surubins *Pseudoplatystoma spp.* produzidos em tanque-rede e viveiro. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 3, p. 538-545, 2013.
- FARIA, P.M.C *et al.* Produção do híbrido "cachadia" em diferentes densidades de estocagem em sistema de recirculação de água. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.5, p.1208-1214, 2011.
- FISHER, R. et al. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. **Epilepsia**, v. 51, n. 5, p. 899-908, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONAL (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**, 2016.
- FREIRE, K.M.F; CARVALHO FILHO, A. Richness of common names of Brazilian reef fishes. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, n. 2, p. 96-145, 2009.
- FREITAS, R. et al. Developmental origin of shark electrosensory organs. **Evolution & Development**, v. 8, n. 1, p. 74-80, 2006.
- GODINHO, H.P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

GOMIDES, P.F.V. **Densidade de estocagem do híbrido pintado amazônico (*Pseudoplatystoma tigrinum* fêmea x *Leiarius marmoratus* macho) em viveiros escavados**. 2011. 61fl. Dissertação (Mestre em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

HANIKA, S.; KRAMER, B. Electrosensory prey detection in the african sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Clariidae), of a weakly electric mormyrid fish, the bulldog (Marcusenius macrolepidotus). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, n. 48, p. 218–228, 2000.

INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; 2009. Princípios básicos para produção de alevinos de surubins (pintado e cachara). Dourados: **Embrapa Agropecuária Oeste**; Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**; Corumbá: **Embrapa Pantanal**, 2009, 26 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da pecuária municipal 2016. **Produção Pecuária Municipal**, v.44, 2016.

KRAMER, B. Electroreception and Communication in Fishes. In: Kramer, B. **Progress in Zoology**. 42. ed. Jena, Gustav Fischer Verlag, 1996. p. 119.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. Produção Intensiva no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. **Panorama da Aquicultura**, v.8, p.41-49, 1998.

LIRANÇO, A.D.S.; ROMAGOSA, E.; SCORVO-FILHO, J.D. Desempenho produtivo de *Pseudoplatystoma corruscans* estocados em sistemas de criação: semi-intensivo (viveiro escavado) e intensivo (tanque-rede). **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 524-530, 2011.

LOCKLEAR, D. Inventor. Electrical control device for marine animals. **United States Patent US 7174668 B2**, 2007.

MACHADO, N.G; VENTICINQUE, E.M.; PENHA, J. Effect of environmental quality and mesohabitat structure on a Biotic Integrity Index based on fish assemblages of cerrado streams from Rio Cuiabá basin, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.3, p. 577-586, 2011.

MELO, T.L.; TEJERINA-GARRO, F.L.; MELO, C.E. Diversidade biológica da comunidade de peixes no baixo rio das Mortes, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 3, p. 657-665, 2007.

NOGUEIRA, A. **Diversidade do repertório eletrocomunicativo de *Microsternarchus cf. bilineatus* Fernández – Yépez, 1968 (Pisces: Gymnotiformes) durante a manutenção sexual em cativeiro**. 2006. 80fl. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, 2006.

PANKHURST, N.W.; LUDKE, S.L.; KING, H.R.; PETER, R.E. The relationship between acute stress, food intake, endocrine status and life history stage in juvenile farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v. 275, p. 311-318, 2008.

PEREIRA, G.V.; SILVA, B.C.; VIEIRA, F.N.; SEIFFERT, W.Q.; USHIZIMA, T.T.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, L.M. Vaccination strategies with oral booster for surubim hybrid (*Pseudoplatystoma corruscans* x *P. reticulatum*). **Aquaculture Research**, v. 46, p. 1831–1841, 2015.

PETERS, R.C.; BUWALDA, R.J.A. Frequency response of the electroreceptors of the cat fish, *Ictalurus nebulosus* LeS. **Journal of Comparative Physiology**, n. 79, p. 29-38, 1972.

PETTIGREW, J.D. Electroreception in monotremes. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 1447-1454, 1999.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; ALVES, A.L.; ALMEIDA, R.B.C.; SENHORINI, J.A.; BORTOLOZZI, J.; FORESTI, F. Cytogenetic markers as diagnoses in the identification of the hybrid between Piaçu (*Leporinus macrocephalus*) and Piapara (*Leporinus elongatus*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 195-202, 2008.

PRADO, F.D. **Caracterização citogenética e molecular das espécies pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e seus híbridos utilizados na piscicultura brasileira**. 2010. 107fl. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2010.

RIBEIRO, L.P.; MIRANDA, M.O.T. Rendimentos de processamento do surubim *Pseudoplatystoma corruscans*. In: **Miranda, M.O.T.** (Org.). Surubim. Belo Horizonte: IBAMA, 1997. p.101-111.

ROTH, A. Electroreception in the Catfish, *Amiurus nebulosus*. **Zeitschrift für vergleichende Physiologie**, v. 61, p. 196-202, 1968.

RUIZ-SILVA, C. **Efeito da corrente elétrica de baixa intensidade em feridas cutâneas de ratos**. 2006. 129fl. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia), Instituto de Pesquisa e desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, 2006.

SALVINI, T.F. et al. Efeito da eletroestimulação e do alongamento muscular sobre a adaptação do músculo desnervado – implicações para a fisioterapia. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 16, n. 3, p. 175-183, 2012.

SCORVO FILHO, J.D.; ROMAGOSA, E.; AYROZA, L.M.S.; FRASCÁ- SCORVO, C.M.D. Desempenho produtivo do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829), submetidos a diferentes densidades de estocagem em dois sistemas de criação: intensivo e semi-intensivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 2, p. 181-188, 2008.

SILVA, L.C. **Efeito da estimulação elétrica de baixa intensidade na aceitação do alimento inerte no surubim *pseudoplatystoma corruscans***. 2014. 50fl. Dissertação (Mestre em Bioquímica e Fisiologia), Centro e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2014.

SILVA, A.P.; LIMA, A.F.; LUNDSTEDT, L.M. A pesca e a aquicultura de surubins no Brasil: Panorama e considerações para a sustentabilidade. Palmas, TO: Documentos **Embrapa Pesca e Aquicultura** 21, 2015, 42 p.

TAVARES-DIAS, M.; TENANI, R.A.; GIOLI, L.D.; FAUSTINO, C.D. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intensivo. **Revista brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 423-431, 1999.

TAVARES-DIAS, M.; ISHIKAWA, M.M.; MARTINS, M.L.; SATAKE, F.; HISANO, H.; PÁDUA, S.B.; JERÔNIMO, G.T.; SANT'ANA, A.R. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: Saran-Neto, M.; Pozzobon-Soria, W.S. (Org.). **Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal** (1ª ed.), Pedro & João Editores, São Carlos, 2009.

TURRA, E.M.; QUEIROZ, B.M.; TEIXEIRA, E.A.; FARIA, P.M.C.; CREPALDI, D.V.; RIBEIRO, L.P. Densidade de estocagem do surubim *Pseudoplatystoma spp.* cultivados em tanques rede. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.177-187, 2009.

WENDERLAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.

ZAKON, H.H. The electroreceptors: diversity in structure and function. In: **Sensory Biology of Aquatic Animals**. Atema, J.; Fay, R. R.; Popper, A. N.; Tavolga, W. N. (Ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1988, p. 813-850.