

NÚCLEO EMERGENTE DE FISIOLOGIA E
FARMACOLOGIA DE PEIXES TELEÓSTEOS DO
SUDESTE DO PARÁ



I Simpósio de
**FISIOLOGIA &
FARMACOLOGIA DE
PEIXES TELEÓSTEOS**

do Sudeste do Pará
18 a 20 de setembro de 2023
Marabá

BY WINSTON BROWN

A THRILLING NOVEL



Caderno de Resumos do I Simpósio de Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará

Caio Maximino, Monica Lima-Maximino, Diógenes Henrique de Siqueira Silva (orgs.)

ISBN: 978-65-00-97354-9

Realização

Núcleo Emergente em Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará
Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff” – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa)

Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos – Unifesspa

Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica – Universidade do Estado do Pará (UEPA)

Apoio

Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA)

Comissão Técnico-Científica do Simpósio

Prof. Dr. Caio Maximino – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff” / Unifesspa • Prof. Dr. Diógenes Henrique de Siqueira Silva – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos / Unifesspa • Monica Lima Maximino – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica / UEPA

Avaliadores

Prof. Dr. Rafael Henrique Nóbrega – Instituto de Biociências / Universidade Estadual Paulista (Unesp) • Prof. Dr. José Nazareno Araújo dos Santos Júnior – • Profa. Dra. Clarissa Mendes Knoechelmann – Faculdade de Ciências Biológicas / Unifesspa • Marina Melo – Instituto de Estudos em Saúde e Biológicas / Unifesspa

Comissão organizadora

Ana Luiza de Souza Caldas • Aurora Rubria Batista Pantoja • Caio Maximino • Diógenes Henrique de Siqueira Silva • Carlos Eduardo dos Santos Almeida • Carolainy Lorrany Duarte de Sousa • Larissa Nunes de Oliveira • Leonardo Miranda Feitosa • Loanne Valéria Bruce de Souza • Marcelle Fernanda de Oliveira Barbosa • Monica Lima Maximino • Natália Rodrigues da Silva • Patrícia de Souza Lima • Saulo Rivera Ikeda

Revisão textual

Diógenes Henrique de Siqueira Silva • Larissa Nunes de Oliveira • Loanne Valéria Bruce de Souza • Monica Lima Maximino

Diagramação / Formatação / Projeto Gráfico

Caio Maximino



Sumário

Apresentação.....	3
Sessão Temática: Neurociências e Comportamento.....	5
Courtship ethogram of <i>Astyanax bimaculatus</i> dyads in the laboratory.....	6
Participation of cGMP in sensitizing anxiety-type responses in post-traumatic stress disorder.....	7
The participation of channels linked to cyclic nucleotides and potassium-dependent calcium channels in response to PTSD.....	8
Behavioral effects of time-dependent sensitization to heterotypic stressors in different zebrafish lineages (<i>Danio rerio</i> , Hamilton 1822).....	9
Efeitos do Estresse Agudo de Contenção sobre parâmetros comportamentais tipo ansiedade em zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	11
Analysis of the late effects of exposure to an extreme stressor in a model of post-traumatic stress disorder with zebrafish (<i>Danio rerio</i> , Hamilton 1822).....	13
Sessão Temática: Fisiologia Reprodutiva.....	15
Ciclo reprodutivo do peixe voador <i>Hemiodus unimaculatus</i> (Bloch, 1794) (Characiformes: Hemiodontidae) na área a montante da usina hidrelétrica de Tucuruí, Pará, Brasil.....	16
Oogenesis and in vitro reproduction of the twospot astyanax <i>Astyanax bimaculatus</i> (Linnaeus, 1758) exposed to conspecific alarm substance.....	17
A influência da temperatura elevada no desenvolvimento embrionário do lambari amazônico <i>Astyanax bimaculatus</i>	18
Análise do retorno reprodutivo em cachara (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>) após sucessivas induções reprodutivas.....	20
Efeito do estresse agudo de contenção sobre o desenvolvimento oocitário de <i>Astyanax bimaculatus</i>	21
Sessão Temática: Farmacologia e Biotecnologia.....	24
O papel do receptor 5-HT _{2C} no comportamento tipo-ansiedade em zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	25
Anesthesia or seizure-like behavior? The effects of two Amazonian plants, <i>Acmella</i>	26
Bioherbicide and anesthetic potential of <i>Aniba canelilla</i> essential oil, a contribution to the demands of the agricultural sector.....	27
Desenvolvimento embrionário e morfologia larval do lambari amazônico <i>Astyanax bimaculatus</i> (Linnaeus 1758) submetidos a solução de cloroquina.....	28
Effects of the 5-HT _{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT in anxiety-like behavior in social investigation and social novelty in zebrafish.....	29
O efeito da crisina no comportamento tipo-ansiedade em peixes zebra (<i>Danio rerio</i>).....	30
Participation of nitric oxide synthase 1 (NOS-1) in a model of post-traumatic stress disorder with adult zebrafishes (<i>Danio rerio</i> Hamilton 1822).....	31
Psychoactive effect of the flavonoid quercetin on an anxiety model in zebrafish (<i>Danio rerio</i> Hamilton 1822).....	32



Apresentação

O Núcleo Emergente de Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará, vinculado ao Instituto de Estudos em Saúde e Biológicas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará e ao Campus Marabá da Universidade do Estado do Pará, têm desenvolvido diversas pesquisas com peixes teleósteos enquanto modelo animal. Essas pesquisas resultaram do trabalho conjunto e multidisciplinar de três grupos de pesquisa: o Grupo de Pesquisas em Neurociências, Comportamento & Cognição, focado no campo da neurociência comportamental; o Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, focado no campo da fisiologia reprodutiva; e o Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, focado na farmacologia comportamental e bioquímica. A partir da aproximação desses três grupos, vindos de áreas diversas, o Núcleo elegeu o campo do estresse como ponto focal para a pesquisa multidisciplinar, por considerar esse construto como uma variável que só pode ser entendida a partir de respostas integrativas do organismo como um todo.

Um ano após a fundação do Núcleo, com apoio da Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através do edital de apoio a núcleos emergentes, o I Simpósio de Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará representa a culminância da primeira fase dessa aproximação. Apoiado com recursos da FAPESPA direcionados à realização de eventos científicos, o Simpósio objetivou consolidar a relevância da região Sudeste do Pará em pesquisas relacionadas à fisiologia reprodutiva, comportamento e farmacologia de peixes teleósteos. Para tal, o evento realizou palestras com referências nacionais e internacionais sobre fisiologia, reprodução e comportamento de peixes, e estimulou a apresentação de trabalhos vinculados às instituições de ensino e pesquisa da região, expondo as pesquisas realizadas tanto sob o guarda-chuva do edital de apoio a núcleos emergentes, quanto pesquisas em áreas correlatas.

Este Caderno de Resumos é fruto dos textos aprovados nas diferentes Sessões Temáticas do evento, com trabalhos abordando os mais diversos assuntos relacionados à fisiologia e à farmacologia focada em peixes teleósteos. As sessões de apresentações de trabalhos, sempre abarrotadas e elogiadas tanto pelos avaliadores quanto pelos passantes, reuniram trabalhos em torno dos temas “Farmacologia e biotecnologia”, “Neurociências e comportamento”, e “Fisiologia reprodutiva”. Esses textos buscam dar visibilidade às pesquisas e pesquisadores/as que fazem parte do Núcleo Emergente de Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará, sublinhando a importância do fomento à pesquisa multidisciplinar, em colaboração, e fora das capitais – em especial na Região Amazônica, área de tantas disparidades macro- e microrregionais.

Cabe salientar também que o presente Caderno de Resumos também discrimina aqueles trabalhos que foram escolhidos pelas/os avaliadoras/es das Sessões Temáticas nas categorias de Menção Honrosa e Melhor Apresentação de Trabalho, buscando valorizar não somente a troca de saberes entre investigadores/as envolvidos no projeto, mas também o esforço de estudantes (pesquisadores em formação) em expor seus trabalhos e comunicar seus resultados de pesquisa de



maneira clara, precisa, e interessante. Ao todo, foram apresentados 23 trabalhos, dos quais 8 foram selecionados com Menções Honrosas nas categorias Graduação e Pós-Graduação (4 trabalhos em cada categoria), e 3 foram premiados com Melhor Apresentação de Trabalho, também nas categorias Graduação e Pós-Graduação. Estendemos nossos parabéns aos estudantes contemplados, certos de que esse pequeno gesto servirá de estímulo à continuidade de seu treinamento científico. Estendemos também nossos agradecimentos aos avaliadores, sem os quais isso não seria possível.

Prof. Dr. Caio Maximino

Doutor em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará
Professor adjunto na Faculdade de Psicologia da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Coordenador do Núcleo Emergente de Fisiologia e Farmacologia de Peixes Teleósteos do Sudeste do Pará
Coordenador do evento

Prof. Dr. Diógenes Henrique de Siqueira Silva

Doutor em Biologia Animal pela Universidade Estadual Paulista / Universidade do Sul da Bohemia
Professor adjunto na Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Organizador do evento

Profa. Dra. Monica Lima Maximino

Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará
Professora adjunta no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade do Estado do Pará
Organizadora do evento



Sessão Temática:
Neurociências e Comportamento



Courtship ethogram of *Astyanax bimaculatus* dyads in the laboratory



Aurora Rubria Batista Pantoja^{1,5}, Ludmylla Viana Santos^{2,4}, Vanessa Conceição Coimbra^{2,4}, Eduardo Silva do Nascimento Albuquerque^{2,4}, Evagno Junior da Silva Ferreira^{2,4}, Ana Luiza de Souza Caldas^{2,4}, Monica Lima Maximino³, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁴, Caio Maximino⁵

1 – Faculdade de Psicologia, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

4 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

5 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introduction: *Astyanax bimaculatus*, also known as “Piaba” and “Lambari”, is a fish species native to South and Central America. Its courtship behavior, although it is an important reproductive strategy, had never been studied. **Aims:** To describe the courtship ethogram of *Astyanax bimaculatus*. **Methods:** This work uses recorded videos of *Astyanax bimaculatus* courtship behavior in the laboratory. Fish dyads were placed each in a water tank (21 cm X 27 cm X 23 cm) containing system water. This species presents body dimorphism, with the female being rounder and wider than the male; these morphological characteristics were used to identify males and females. Three 6 min videos were recorded, one for each dyad. Ethograms were constructed, using data from *Danio rerio* (Zebrafish 1:40-45, 2004) and *A. mexicanus* (J. Exp. Biol. 223:jeb208835, 2020) as an open-ended guide. During the first watch, notes and descriptions were taken according to their movement patterns. A second watch was made to describe the action patterns according to the other fishes behaviors. After that, graphical analysis was made using Behavioral Observation Research Interactive Software (BORIS; Methods Ecol. Evol. 7:1324-1330, 2016) was used. (Protocol: 60618CEUA). **Results:** The following behavioral units were identified: bottom swimming; chasing; approach; move away; quiver; swim around; full stop; swim in circles. Going through video frames, it was possible to create flow diagrams and sequential event plots. Differently from *A. mexicanus*, in *A. bimaculatus*, the female is more active, chasing the male more frequently. Female swimming in circles usually precedes her chasing behavior after the male. The males always delayed its female-oriented behavior until the female has chased it. **Conclusion:** *Astyanax bimaculatus* females appear to be responsible for courtship and the consequential mating (and offspring). Females also seem to be aggressive. **Funding:** FAPESPA and CNPq (PRONEM).



Participation of cGMP in sensitizing anxiety-type responses in post-traumatic stress disorder

Carlos Eduardo dos Santos Almeida^{1,3}, João Alphonse Apóstolo Heymbeeck^{1,3}, Wilker Leite do Nascimento^{1,3}, Caio Maximino², Monica Lima Maximino³

1 – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará

2 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

Introduction: PTSD is a disorder with a multifactorial etiology, therefore, it depends on influences environmental and genetic factors to develop. In general, the environmental influence includes the traumatic event and life experiences capable of helping to understand the situation, while the genetic influence is related to intrinsic factors that will direct the response in each individual. **Aims:** The present work aimed to evaluate the role of cGMP produced by the nitric oxide (NO) signaling pathway in the sensitization of anxiety-like responses observed in an animal model of Post Traumatic Stress Disorder (PTSD). **Methods:** 208 zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) of the longfin phenotype were treated with a soluble guanylate cyclase enzyme inhibitor (ODQ; 3.33 mg/kg, ip) or with vehicle (10% DMSO, ip) 30 or 90 minutes after exposure to alarm substance (SA) or distilled water (CTRL). **Results:** Behavior was analyzed 24 hours after exposure using the light/dark preference test, considering the parameters scototaxis, erratic swimming, risk assessment, thigmotaxis, freezing, jumping, duration of entries, and number of entries into the white compartment. 30 minutes after the exposure, treatment with ODQ was able to reverse the sensitization observed in scototaxis and erratic swimming, also increasing the duration of entries into the white compartment. In the treatment with ODQ occurring 90 minutes after the exposure, an increase in risk assessment episodes and frequency of entries was observed, as well as a decrease in the duration of such entries into the white compartment. The behavioral analysis of groups of animals treated with the drug vehicle 30 minutes after exposure to SA demonstrated that this stressor was able to sensitize scototaxis [$F(1,83)=9,195$; $p=0.0032$] and erratic swimming [$F(1,83)=10.16$; $p=0.0020$], given that there was a decrease in the time spent on the white side and an increase in the frequency of erratic swimming events. Furthermore, there was no effect of exposure to the stressor on the sensitization of the duration of entries in the white compartment [$F(1,83)=2,519$; $p=0.1163$], but treatment with ODQ was able to increase this time in exposed animals [$F(1,83)=4.072$; $p=0.0468$]. In the treatment performed 90 minutes after exposure to SA, there was scototaxis sensitization [$F(1,75)=10.41$; $p=0.0019$], manifested in the decrease in the time that vehicle-treated animals spent on the white side of the test apparatus. Treatment with ODQ did not reverse the effect observed on scototaxis [$F(1,75)=0.0384$; $p=0.8452$]. Another effect of administering the drug 90 minutes after stress was on the duration of entries into the white compartment [$F(1,74)=7,103$; $p=0.0094$], demonstrated by the decrease in time on the white side. **Conclusion:** It is suggested that cGMP plays a role in the initial phase of the anxiety-like response, while strongly influences cognition at a later stage. **Funding:** CNPq (Universal 2016).



The participation of channels linked to cyclic nucleotides and potassium-dependent calcium channels in response to PTSD

Carolainy Lorrany Duarte de Sousa^{1,3}, Amanda Gabriele Oliveira Xavier^{1,3}, Patrícia Souza Lima^{1,3}, Caio Maximino², Monica Lima-Maximino³

1 – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará

2 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Laboratório de NeuroFarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará – Campus VIII

Introduction: Post-Traumatic Stress Disorder (PTSD) is a variety of physiological and behavioral disorders, after exposure to traumatic, threatening or aversive events, being linked to recurrent everyday situations, presenting itself as a public health problem. PTSD presents several psychological manifestations after exposure to trauma and has symptoms such as recollection, anxiety, nightmare and neuroendocrine hypersensitivity. Nitric Oxide (NO) acts in neurobehavioral responses to stress, presents its effects through the activation of soluble guanylate cyclase, which catalyzes the conversion of GMP into cyclic GMP (cGMP), which directly activates cyclic nucleotide-dependent chains, mediated by channels HCN; Calcium activation channels (IKCa) open in response to increased intracellular calcium, important in the modulatory performance of calcium signaling and membrane potential in voltage-sensitive excitable and non-excitable cells. **Aims:** To evaluate the role of cyclic nucleotide-gated ion channels (HCN) and calcium-gated potassium channels (IKCa), after NOS stimulation, in the regulation of behavioral responses, in time-dependent sensitization in zebrafish. **Methods:** 288 wild adult Zebrafish were treated with vehicles, either NO substrate (L-arginine; 100 mg/kg), or a CGN inhibitor (Ivabradine; 10mg/kg), or an IKCa inhibitor (TRAM-34; 40 mg/kg), 30' or 90' after exposure to water or alarm substance (SA). After 24h, the animals behaviors were evaluated in the lightdark preference test. The parameters analyzed were: scotaxia, risk assessment, erratic swimming, thigmotaxis, frequency and duration of freezing. The obtained data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey's post-test, considering $p < 0.05$ as significant. **Results:** For ivabradine, exposure to the stressor sensitized scotaxia at both times [30': $F(1.58) = 37.48$, $P < 0.0001$; 90': $F(1.58) = 14.56$, $P = 0.0003$]. Ivabradine was able to block risk assessment sensitization with treatment 90' after exposure [$F(2, 59) = 10.63$, $P = 0.0001$, interaction effect]. TRAM-34 blocked risk assessment sensitization at 30' and 90', and thigmotaxis at 90' [30 min: $F(2, 61) = 0.9466$, $p = 0.0204$ (interaction effect); 90 min: $F(2.63) = 3.205$, $p = 0.0472$], [90 min: $F(2.63) = 3.924$, $p = 0.0248$]. **Conclusion:** It is concluded that CGN and IKCa participate in modulating the defensive behavior of animals in the model. **Funding:** CNPq (Universal 2016).



Behavioral effects of time-dependent sensitization to heterotypic stressors in different zebrafish lineages (*Danio rerio*, Hamilton 1822)

Patrícia de Souza Lima^{1,3}, Larissa Mota de Freitas^{1,3}, Carolainy Lorrany Duarte de Sousa^{1,3}, Carlos Eduardo dos Santos Almeida^{1,3}, Caio Maximino², Monica Lima Maximino³

1 – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará

2 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Laboratório de NeuroFarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará – Campus VIII

Introduction: PTSD is a disorder that affects behavior through the involvement of neuronal and neuroendocrine systems, which induce a defense reaction, stimulated by the action of the amygdala, prefrontal cortex and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) axis. **Aims:** The present study aimed to evaluate the effects of social isolation (SI) together with the effects of the conspecific alarm substance (SA) 24 hours after exposure, through behavioral and gender analysis of zebrafish from longfins and leopards lineages. **Methods:** A total of 144 adult paulistinhas were used, being 72 longfins and 72 leopards, exposed to SA or distilled water. After a recovery time of 24 hours, in a group of 6 animals or alone, they were evaluated individually in the Light-Dark Preference Test. Behavioral analysis was verified with events such as: scototaxis, erratic swimming, risk assessment, thigmotaxis, freezing, jumping, duration and number of entries into the white compartment. Statistical analysis was performed using two-way ANOVA and Tukey's post-test, with statistical values considered significant when $p < 0.05$. **Results:** The results obtained show that the longfin strain that remained isolated presented varied responses related to avoidance and fear, demonstrating a significant influence between stress and IS. It was also possible to observe that longfin females were more sensitized in some behaviors. Leopards showed a lower number of sensitized behaviors, suggesting that these animals may have a different stressor stimulus or that they need combined stressors to be sensitized, since isolated animals exposed to SA performed a higher frequency of erratic swimming. With this, it is suggested that longfins, females and socially isolated, demonstrate more PTSD-like behaviors. The animals of the longfin lineage that went through the incubation period (24 hours) in isolation remained longer in the white compartment [$F(1.65)=4.068$; $p= 0.0478$] and performed more thigmotaxis [$F(1.65)=4.267$; $p=0.429$]. Leopard lineage animals obtained statistically significant results for erratic swimming, in relation to exposure [$F(1.68)=10.850$; $p=0.0016$] and accommodation [$F(1.68)=4.369$; $p=0.0403$], where animals exposed to SA and isolated had higher erratic swimming events, contrasted with group-housed animals exposed to SA, and CTRL and isolated animals had a longer behavior time compared to animals exposed to SA and isolated. **Conclusion:** That animals of the longfin lineage, female and socially isolated, demonstrate an accentuation of PTSD-like behavior. These data can help in future studies of the neural, biochemical and hormonal bases between males and females of distinct lineages, as well as using social isolation. Furthermore, there is a need in the investigation



of stimuli and brain areas that are involved in this pattern behavior, as well as the difference of these stimuli between males and females, and between longfin and leopard lineages. **Funding:** FAPESPA and CNPq (PRONEM).



Efeitos do Estresse Agudo de Contenção sobre parâmetros comportamentais tipo ansiedade em zebrafish (*Danio rerio*)

Elissandra da Conceição Araújo^{1,7}, Caio Henrique Moura Mendes^{1,7}, Milenna do Nascimento Almeida^{1,7}, Evagno Junior da Silva Ferreira^{2,5}, Maria Clara Rosa Silva^{2,5}, Aurora Rubria Batista Pantoja^{1,7}, Sara Ferreira Pedrosa^{2,5}, Loanne Valéria Xavier Bruce de Souza^{3,7}, Larissa Nunes de Oliveira^{3,7}, Bruna Patrícia Dutra

Costa^{4,7}, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁵, Monica Lima Maximino⁶, Caio Maximino⁷

1 – Faculdade de Psicologia, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

4 – Rede de Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal

5 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

6 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

7 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: O estresse agudo de contenção (EAC) tem sido utilizado como um importante indutor de respostas comportamentais em estudos de cunho farmacológico, patológico e fisiológico em animais. Em vertebrados, respostas de estresse estão relacionadas às respostas de ansiedade, mas a neurobiologia destes mecanismos complexos ainda não é clara. Por conseguinte, modelos animais têm sido utilizados experimentalmente para investigar a fisiopatologia desses mecanismos. O zebrafish (*Danio rerio*) tem emergido como um organismo-modelo essencial para essas investigações, devido às suas características genéticas homólogas e ao seu potencial em testes comportamentais. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do EAC em parâmetros comportamentais tipo ansiedade no zebrafish. **Métodos:** 12 animais foram expostos a 90 min de contenção em microtubos de 1,5 ml, posicionados em uma estante de plástico dentro de um aquário, e um grupo controle com 12 animais foi mantido nas mesmas circunstâncias, mas sem a restrição nos microtubos. Após os 90 min, todos os animais foram submetidos ao teste de distribuição vertical eliciada pela novidade e ao teste de preferência claro/escuro. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através do teste t de Student, com nível de significância em $p < 0,05$. **Resultados:** Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e expostos ao EAC nas variáveis observadas em ambos os testes, com exceção do aumento de congelamento do animal na parte clara do teste de preferência claro/escuro ($t(22) = -1,82$; $p = 0,041$). Quando comparados com pesquisas anteriores, esses achados são, ao mesmo tempo, concordantes e discordantes em relação às variáveis estudadas. Na literatura analisada, há uma inconsistência entre os protocolos adotados nas pesquisas com EAC,



com diferenças importantes nos procedimentos de execução do estressor e dos testes comportamentais, que poderiam explicar as divergências entre os achados desta pesquisa e de outros estudos envolvendo exposição ao EAC. Além do mais, a literatura apresenta diferenças entre os testes comportamentais utilizados neste estudo que podem ter influenciado no aumento de congelamento do animal apenas no teste de preferência claro/escuro. **Conclusões:** Observamos a necessidade de uma melhor padronização dos procedimentos de execução do EAC e dos referidos testes comportamentais. Também, mais pesquisas na área se mostram cruciais para compreender os fenômenos observados neste trabalho e na complexidade do estresse, ansiedade e comportamento animal. **Financiamento:** FAPESPA e CNPq (Chamada PRONEM).



Analysis of the late effects of exposure to an extreme stressor in a model of post-traumatic stress disorder with zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton 1822)

Saulo Rivera Ikeda^{1,4}, Leonardo Miranda Feitosa^{2,4}, Caio Maximino³, Monica Lima Maximino⁴

1 – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará

2 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

3 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

Introduction: Time-Dependent Sensitization is an animal model for investigating the biological and behavioral basis of Post-Traumatic Stress Disorder. PTSD patients experience symptoms 1 to 3 months after a traumatic event. However, 25% of PTSD patients experience later symptoms. **Aims:** The objective of this work was to evaluate the duration of the effects of the co-specific alarm substance in zebrafish, at intervals of 24 hours and 48 hours after exposure, on their exploratory behavior. **Methods:** 120 zebrafishes longfin phenotype were used. The extraction of the alarm substance (AS) was used as stressor. The experiments were divided into two parts: i) analysis 24 hours after exposure; ii) analyze 48 hours after exposure. In both experiments, the behavioral assessment was based on the Light-Dark Preference Test. In the experiment, the data were analyzed using unilateral t tests with Welch corrections for continuous variables and MannWhitney tests for discrete variables. **Results:** Analysis of effects 24 hours after exposure to AS showed a decrease in time in the white compartment ($p < 0.0001$), with no effect on the number of entries into the white compartment ($p = 0.3702$). SA decreased the duration of entries ($p = 0.0048$) and increased the frequency of risk assessment ($p < 0.0001$). There was an increase in erratic swimming ($p < 0.0001$). There was also an increase in thigmotaxis ($p < 0.0001$). There was no increase in freezing time ($p = 0.2302$) or jump frequency ($p = 0.1981$). Analysis of the effects 48 hours after exposure to SA showed a decrease in time in the white compartment ($p = 0.0019$), with no changes in the number of entries in the white compartment ($p = 0.2632$). There was a decrease in the duration of entries ($p = 0.0274$) and an increase in the frequency of risk assessment ($p = 0.0276$). No effects on erratic swimming ($p = 0.3706$). The time of thigmotaxis decreases in animals exposed to SA ($p = 0.0163$), and freezing also decreases ($p = 0.021$). SA had no effect on jumping frequency ($p = 0.04671$). The results shows sensitized responses in the space-time variables. **Conclusion:** In parallel with what was seen previously, the results found in this work show that zebrafishes are sensitive and capable of demonstrating time-dependent responses, and that this effect varies depending on the time interval after stress. **Financiamento:** FAPESPA e CNPq (Chamada PRONEM).





Sessão Temática:
Fisiologia Reprodutiva



Ciclo reprodutivo do peixe voador *Hemiodus unimaculatus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Hemiodontidae) na área a montante da usina hidrelétrica de Tucuruí, Pará, Brasil

Maria Clara Rosa Silva^{1,6}, Jeane Rodrigues Rodrigues^{2,6}, Hadda Tercya Lima Silva^{1,6}, Paulo de Souza Jesus^{1,6}, Cristiane Vieira da Cunha³, Keid Nolan Silva Sousa¹, Larissa Nunes de Oliveira^{4,5}, Caio Maximino⁵, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁶

1 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará

3 – Faculdade de Educação do Campo, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

5 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

6 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: A pesca no rio Tocantins é uma importante atividade econômica para as populações ribeirinhas locais e o peixe voador *Hemiodus unimaculatus* se destaca como uma das principais espécies desembarcadas na região. Por conta do esforço pesqueiro concentrado há indícios de que seu tamanho de captura vem sofrendo redução e por isso os pescadores locais se interessaram em conhecer sua reprodução e ciclo reprodutivo. Apesar da sua alta adaptabilidade a ambientes represados, sua plasticidade alimentar e sua importância para a pesca local, suas estratégias reprodutivas são pouco elucidadas. **Objetivos:** Este estudo teve por objetivo avaliar o ciclo reprodutivo da espécie *H. unimaculatus* pós barramento do rio Tocantins na área a montante da usina Hidrelétrica de Tucuruí, Pará, Brasil. **Métodos:** Os animais foram coletados mensalmente de maio de 2021 a abril de 2022 na vila Tauiry, localizada às margens do Rio Tocantins, no município de Itupiranga no Pará. Os indivíduos tiveram sua biometria aferida e suas gônadas foram removidas e pesadas para o cálculo do índice gonadossomático e processadas histologicamente para análises morfológicas. **Resultados:** Foram coletados 103 animais, sendo 87 fêmeas e 16 machos, com proporção de 5 fêmeas: 1 macho ($\chi^2 = 9$; $P = 0,05$). O comprimento total e peso dos animais não variaram significativamente no decorrer do ano, as fêmeas apresentaram comprimento médio de $21,867 \pm 1,55$ cm e peso médio de $118,63 \pm 23,4$ g. Os machos apresentaram comprimento médio de $20,353 \pm 1,39$ cm e peso médio de $96,90 \pm 20,2$ g. A partir das análises histológicas observamos fêmeas e machos em fase de desenvolvimento durante outono e inverno e aptos a reprodução na primavera e verão. Também observamos fêmeas aptas a reprodução no outono. **Conclusão:** Ao associar o Índice gonadossomático com as análises histológicas das gônadas, foi possível perceber que o período de defeso não abrange totalmente o período reprodutivo da espécie. Sendo assim, o desequilíbrio da razão sexual, indício de declínio populacional e o período de defeso que não abrange todo o período reprodutivo da espécie pode estar levando a população ao declínio à montante do reservatório de Tucuruí, no rio Tocantins.



Oogenesis and in vitro reproduction of the twospot astyanax *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) exposed to conspecific alarm substance

Jeane Rodrigues Rodrigues^{1,5}, Maria Clara Rosa Silva^{2,5}, Hadda Tercya Lima Silva^{2,5}, Paulo de Souza Jesus^{2,5}, Saynara Souza dos Santos Miranda^{3,5}, Hingrid Suzzan Tarso de Oliveira e Oliveira^{2,5}, Bianca Lima de Sousa^{2,5}, Ludmylla Viana Santos^{2,5}, Caio Maximino⁴, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁵

1 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

2 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará

4 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

5 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introduction: Stress situations can be essential to trigger reproduction in fish; however, it may also inhibit it. One of those situations involves the release of the conspecific alarm substance (CAS), a natural stressor, into the water by specific fish epidermal cells after a predator attack. Little is known about the effects of that substance on fish reproduction. **Aims:** This study aimed to evaluate the effects of CAS exposure on the oogenesis and reproduction of the twospot astyanax *Astyanax bimaculatus* before the hormonal induction for artificial reproduction. **Results:** No macroscopic or cellular changes in the ovaries were observed for the females exposed to CAS, and the oocyte stages show all females in the same phase of maturation (Spawning Capable). Females exposed to CAS spawned 20 min before the females without exposure. On the other hand, they ovulated only once, whereas the females from the control group ovulated multiple times for approximately two hours after hormonal induction. Moreover, the precocious ovulation of the females submitted to CAS did not generate offspring, since all generated zygotes did not develop. In contrast, the control group females produced more than 11 thousand healthy larvae. **Conclusions:** Exposing the female fish to CAS during their reproductive management in captivity may reduce breeding success. **Funding:** FAPESPA and CNPq (PRONEM).



A influência da temperatura elevada no desenvolvimento embrionário do lambari amazônico *Astyanax bimaculatus*

Ludmylla Viana Santos^{1,5}, Saynara Souza dos Santos Miranda^{2,5}, Eduardo Silva do Nascimento Albuquerque^{1,5}, Paulo de Souza Jesus^{1,5}, Jeane Rodrigues Rodrigues^{3,5}, Bianca Lima da Sousa^{1,5}, Ana Luiza de Souza Caldas^{1,5}, Suianny Nayara da Silva Chaves^{2,5}, Evagno Junior da Silva Ferreira^{1,5}, Vanessa Conceição Coimbra^{1,5}, Caio Maximino⁴, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁵

1 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará

3 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

4 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

5 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: O grupo dos peixes é um dos mais afetados pela intensificação do aquecimento global. Faz-se necessário, portanto, descrever a influência da elevação de temperatura da água sobre o desenvolvimento embrionário das espécies. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento embrionário do lambari amazônico *Astyanax bimaculatus* submetido à elevação de temperatura da água. **Métodos:** Para isso, cinco machos e cinco fêmeas da espécie foram submetidos a indução hormonal, com extrato bruto de hipófise de carpa, e reprodução artificial para obtenção dos embriões. Os gametas de machos e fêmeas foram coletados por extrusão, depositados em placas de petri e, em seguida, homogeneizados com 5 ml de água para ativação dos espermatozoides e fertilização *in vitro*. Os embriões obtidos foram divididos, aleatoriamente, em dois aquários de 8 litros cada nos tratamentos com temperatura da água em 25°C e 30°C. As coletas foram realizadas a cada 10 minutos nas primeiras 2 horas de incubação, a cada 20 minutos até 4 horas e, a partir de então, a cada 30 minutos até a eclosão, sendo todos os embriões coletados fixados em solução de Karnovsky para posterior análise. **Resultados:** No tratamento de 25°C (temperatura ambiente), em 20 min pós-fertilização (mpf) os embriões encontravam-se ainda em zigoto, 1:20 horas pós fertilização (hpf) em clivagem 64 células, 2 hpf em blástula, 4 hpf em gástrula, 5 hpf em neurula, 10 hpf em processo de segmentação, com eclosão as 16 hpf (equivalente a 364 horas grau). As larvas obtidas eram morfológicamente normais, desenvolvendo-se mais tarde em juvenis e peixes sexualmente maduros. Em contraste, no tratamento de 30°C (temperatura elevada) em 30 mpf os embriões ainda era zigotos, 1:30 hpf em clivagem 64 células, 2:20 hpf em blástula, 5:40 hpf em gástrula, e 11 hpf em processo de segmentação, que ocorreu de maneira acelerada quando comparada com a temperatura ambiente, e a eclosão ocorreu 11:30 hpf (314 horas grau). Além disso, as larvas apresentavam deformidades morfológicas e sobreviveram somente até o quinto dia pós-eclosão. **Conclusão:** Em suma, a elevação da temperatura acelera o desenvolvimento embrionário de *A. bimaculatus*, altera a



morfologia (mal formações) e promove a morte das larvas, podendo contribuir negativamente com a reprodução e sobrevivência de espécies de peixes.



Análise do retorno reprodutivo em cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) após sucessivas induções reprodutivas

Eduardo Silva do Nascimento Albuquerque^{1,2}, Diógenes Henrique de Siqueira Silva², Louise Nex Spica³

1 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

Introdução: A piscicultura no Brasil tem crescido consideravelmente nas últimas décadas. Este crescimento pode estar atrelado à otimização do espaço para a produção de mercadoria por m³. Espécies utilizadas como o Tambaqui, Curimatã, Jundiá e Cachara, possuem uma estação reprodutiva de 6 meses. Os protocolos convencionais utilizados na reprodução destas espécies não otimizam o estoque disponível, uma vez que cada espécime é utilizado apenas uma vez ao ano, sendo separada para recuperação até o próximo período reprodutivo. Uma alternativa a este manejo vem sendo testada, com a premissa de ocorrer várias reproduções com intervalos de descanso entre as mesmas, a fim de otimizar o aumento de proles destes animais em cativeiro durante a sua estação reprodutiva. **Objetivos:** O objetivo do trabalho foi avaliar a plasticidade reprodutiva de fêmeas de *Pseudoplatystoma reticulatum*, submetidas a induções sucessivas na mesma estação reprodutiva. **Métodos:** O experimento foi realizado na piscicultura Piraí (20°25'57"S e 55°17'11"W). Ao todo foram utilizadas 19 fêmeas alocadas em viveiro do tipo escavado, nos parâmetros físicos e químicos de água foram acompanhados: temperatura média 28±0,98°C; O₂ dissolvido de 8,0±0,26mg/L; e pH de 8,0±0,05. Possuíam peso corporal médio de 5,0±1,0 kg, comprimento médio de 74,0±5,8 cm e circunferência abdominal média de 42,0±3,7cm. Todas foram devidamente microchipadas para serem distinguidas e identificadas umas das outras. As fêmeas receberam uma dosagem de 5mg/kg de hipófise de carpa, e foram submetidas à primeira indução: 2 fêmeas previamente selecionadas tiveram suas gônadas retiradas sem a primeira indução e 2 fêmeas tiveram suas gônadas retiradas, de forma imediata, após a primeira indução. Após um intervalo de aproximadamente 28 dias de descanso, as fêmeas submetidas a primeira indução foram induzidas novamente: 2 fêmeas submetidas a primeira indução e após o período de descanso foram eutanaziadas e retiradas as gônadas, sem que passassem pela segunda indução e 2 fêmeas que foram submetidas a primeira indução, passaram pela segunda indução reprodutiva pós-descanso. As gônadas foram fixadas em Glutaraldeído 2,5% e passaram por técnicas usuais de inclusão em historesina LEICA. Utilizando as técnicas estereológicas, sendo realizada a contagem dos complexos foliculares pós-ovulatório (POC) entre 3 regiões gonadais definidas como: cranial, medial e caudal, a fim de comparar presença de POCs por toda a gônada e entre os intervalos. **Resultados:** Obteve-se uma média de 4,6±1,2; 7,4±1,7; 8,4±2,2; 7,4±4,3; 18,2±5; 22,7±4,8; 20,2±5,8; 22,2±7 de complexos foliculares pós-ovulatórios, sucessivamente, para os peixes 1, 2, 3 e 4. **Conclusões:** Conclui-se que em *P. reticulatum* a técnica de várias induções dentro de um mesmo período reprodutivo é totalmente viável, tendo em vista que houve um recrutamento de novas células reprodutivas ao longo do período, possibilitando uma plasticidade funcional para a espécie após um período de descanso.



Efeito do estresse agudo de contenção sobre o desenvolvimento oocitário de *Astyanax bimaculatus*

Evagno Junior da Silva Ferreira^{1,8}, Marissol Leite da Silva^{2,8}, Eduardo Silva do Nascimento Albuquerque^{1,8}, Elissandra da Conceição Araújo^{3,7}, Maria Clara Rosa Silva^{1,8}, Otávio Antunes Lacerda^{1,8}, Raquel Santos⁴, Jeane Rodrigues Rodrigues^{2,8}, Milenna do Nascimento Almeida^{3,7}, Bianca Lima de Sousa^{1,8}, Bruna Patrícia Dutra Costa^{5,7}, Monica Lima Maximino⁶, Caio Maximino⁷, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁸

1 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

3 – Faculdade de Psicologia, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

5 – Rede de Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal

6 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

7 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

8 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: A resposta do organismo aos estressores é uma área de grande interesse na pesquisa biológica, para entender como o corpo reage a eventos que podem sobrecarregar o organismo levando a ajustes fisiológicos. Isso envolve a liberação de cortisol, um hormônio ligado ao estresse, que fornece energia para lidar com situações desafiadoras, porém, níveis elevados de estresse podem afetar a saúde e a reprodução dos animais. Estudos com zebrafish mostraram que, através do Estresse Agudo de Contenção (ARS), metodologia bastante utilizada para induzir a resposta de estresse, causa alterações nos níveis de cortisol e comportamentos relacionados à ansiedade. Já no contexto reprodutivo dos peixes nativos, há poucas pesquisas sobre como o ARS pode afetar a reprodução das espécies. **Objetivos:** Nesta ótica, o *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), um peixe nativo, comumente utilizado como modelo em estudos de toxicologia, indução hormonal e reprodução, foi avaliado sobre o efeito do estressor (ARS) sobre seu comportamento reprodutivo. **Métodos:** Para isso, foram utilizadas 24 fêmeas sexualmente maduras. O experimento de contenção foi uma adaptação do protocolo Piato et al. (2011) que consistiu em transferir um grupo de 3 animais para um suporte contendo 3 tubos Falcon de plástico de (50 mL) por 90 min, dividido em dois tratamentos: (a) ARS e (b) controle (animais não estressados). Posteriormente, os animais foram eutanasiados com eugenol para coleta das gônadas, e o material foi fixado em Karnovsky por 24 horas, e armazenado até o início do processamento histológico. A definição das fases de maturação foi realizada de acordo com Brown-Peterson et al. (2011), bem como a contabilização de oócitos em crescimento primário, vitelogênico, atresia e complexos foliculares pós-ovulatórios (POC), os dados obtidos foram analisados entre os dois grupos através de ANOVA, para amostras independentes, sendo considerado o nível de significância em $p < 0,05$ em todas as análises e os dados são expressos como média e desvio padrão. **Resultados:** Houve diferença significativa em todas as variáveis analisadas. **Conclusão:** O estresse agudo de contenção produz alterações



importantes no desenvolvimento oocitário de *A. bimaculatus*. **Financiamento:** FAPESPA e CNPq (Chamada PRONEM).





Sessão Temática:
Farmacologia e Biotecnologia



O papel do receptor 5-HT_{2C} no comportamento tipo-ansiedade em zebrafish (*Danio rerio*)

Larissa Nunes de Oliveira^{1,4}, Loanne Valéria Xavier Bruce de Souza^{1,4}, Bruna Patrícia Dutra Costa^{2,4}, Monica Gomes Lima Maximino³, Caio Maximino⁴

1 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

2 – Rede de Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal

3 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

4 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: Os transtornos mentais comuns são frequentemente incapacitantes e estão aumentando em número em todo o mundo. A psicopatologia experimental é uma área de estudo dos fenômenos psíquicos geracionais de tais transtornos, por meio de experimentos com modelos animais em busca de possíveis causas e tratamentos. Distúrbios de diferentes grupos podem ter base patológica compartilhada, com sintomas compartilhados, como a participação do sistema serotoninérgico nesses distúrbios. Este sistema é composto por vários receptores, sendo o 5-HT_{2C} um deles. Em geral, sabe-se que os agonistas 5-HT_{2C} aumentam os comportamentos de ansiedade, mas o seu papel nos transtornos de humor permanece controverso. O zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton 1822) pode servir como um modelo animal interessante para se aprofundar no assunto, pois alia a relevância de ser um vertebrado com a escala de um invertebrado que demanda espaço pequeno para sua manutenção, baixo custo e praticidade para triagem em larga escala. **Objetivos:** O presente estudo tem como objetivo compreender o papel do receptor 5-HT_{2C} em diversos domínios comportamentais relacionados a transtornos mentais com possível relevância translacional. **Métodos:** Os experimentos foram aprovados pela UEPA sob protocolo 18/06. 18 peixes-zebra foram utilizados nos experimentos. 6 animais foram injetados com a droga MK-212, agonista do receptor 5-HT_{2C}; 6 animais foram injetados com a droga RS-102221, antagonista do receptor 5-HT_{2C} e um terceiro grupo com 6 animais, o grupo controle, com solução veículo. Os três grupos passaram no teste comportamental de distribuição vertical provocado pela novidade. **Resultados:** Tais testes resultaram em diferença significativa apenas no parâmetro tempo de permanência no fundo do aquário para o grupo sob efeito da droga antagonista do receptor 5HT_{2C} ($F_{[2,18]} = 5,58$; $p=0,015$). **Conclusão:** Sugere-se então que a inativação do receptor serotoninérgico tenha caráter ansiolítico no organismo do animal. **Financiamento:** CAPES.



Anesthesia or seizure-like behavior? The effects of two Amazonian plants, *Acmella oleracea* and *Piper alatabaccum* in zebrafish (*Danio rerio*)

Marissol Leite da Silva^{1,7}, Hadda Tercya Lima Silva^{2,7}, Bianca Gomes do Nascimento^{2,6}, Jeane Rodrigues Rodrigues^{1,7}, Bruna Patrícia Dutra da Costa^{3,6}, Raquel Santos^{4,7}, Wilker Leite do Nascimento⁵, Caio Maximino de Oliveira⁶, Zanderluce Gomes Luis¹, Monica Gomes Lima Maximino⁵, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁷

1 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

2 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Rede de Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal

4 – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

5 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

6 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

7 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introduction: Currently, available fish anesthetics can produce important side effects, including respiratory arrest and distress. Easy-to-implement alternatives with low toxicity are needed to ensure fish health as well as to help artisanal fisheries and fish sellers in handling and transporting fishes, and native plants seems to be the best alternative. Aims: We aimed to implement an anesthetic protocol using crude ethanolic extracts from flowers and leaves of two Amazonian plants, the *Acmella oleracea* and *Piper alatabaccum*. Methods: We first tested the extracts for anesthesia, using the zebrafish as model. Even though in some treatments the animals apparently entered deep anesthesia, many of them presented aberrant behaviors and even died. Thus, we performed new experiments testing the extracts effects on seizure-like behaviors of the fish. **Results:** Only the leaf extract of *A. oleracea* has potential effects for fish anesthesia. Both the flower extract from this plant and the leaf extract from *P. alatabaccum* induced seizure-like behavior in the animals. **Conclusions:** besides bringing a possible new anesthetic protocol for fish, our work draws attention for the neurotoxic effects the anesthetic solutions may cause, since several studies defend other *Piper* species as anesthetic for fish and *A. oleracea* flowers extract was already pointed as fish anesthetic.



Bioherbicide and anesthetic potential of *Aniba canelilla* essential oil, a contribution to the demands of the agricultural sector

Joseila Maldaner¹, Marilene Nunes Oliveira², Darlisson de Alexandria Santos², Simone Yasue Simote Silva², Sebastião da Cruz Silva², Tatiane da Costa Lima², Marissol Leite da Silva^{3,4}, Hadda Tercya Lima Silva^{3,5}, Diógenes Henrique Siqueira-Silva³, Gerusa Pauli Kist Steffen¹, Ricardo Bemfica Steffen⁶

1 – Centro de Pesquisa em Florestas, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural do Rio Grande do Sul

2 – Faculdade de Química, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

3 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

5 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

6 – BioTec RS

Introduction: In this scenario of continuous population growth and accentuated technological development, it has been necessary to develop strategies that contribute to a better quality of life for human beings. In this context, faced with the demand for efficient and sustainable solutions, the agricultural sector is undergoing accelerated growth in the adoption of biological inputs in the integrated management of pests and diseases. **Aims:** In order to meet the growing demand of the agricultural sector for sustainable alternatives, this work was developed to explore the bioherbicide and anesthetic potential of *Aniba canelilla* essential oil, a natural Amazonian resource. **Methods:** Leaves and fine branches, collected in two seasons of the year, were subjected to hydrodistillation, and the essential oils obtained were analyzed by GC-MS and GCFID for chemical characterization of their components. At different concentrations (0.005; 0.01; 0.05; 0.1; 0.5; 1.0 and 1.5%), the essential oil was tested in order to inhibit capim annoni seedlings germination and development. To perform the anesthesia test, the guppy fish (*Poecilia reticulata*), used as a sample, was treated with an essential oil solution at a 0.0001 v/v concentration. **Results:** The *A. canelilla* leaves oil promoted a 90% inhibition of capim annoni germination in the treatment with 0.05% of the oil, reaching 100% inhibition in treatments above 0.1%. It also showed potential as fish anesthetic, inducing the animals to profound anesthesia with subsequent short recovery, causing no mortality. **Conclusion:** The promising effects observed in this work may be due to the essential oil major component characterized as 1-nitro-2-phenylethane, expanding the knowledge already recorded in the literature for *A. canelilla* and highlighting the oils potential as a natural matrix candidate for obtaining a bioproduct.



Desenvolvimento embrionário e morfologia larval do lambari amazônico *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus 1758) submetidos a solução de cloroquina

Ana Luiza de Souza Caldas^{1,4}, Jeane Rodrigues Rodrigues^{2,4}, Bianca Lima de Sousa^{1,4}, Eduardo Silva do Nascimento Albuquerque^{1,4}, Vanessa Conceição Coimbra^{1,4}, Ludmylla Viana Santos^{1,4}, Otávio Antunes Lacerda^{1,4}, Caio Maximino³, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁴

1 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

2 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia

3 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: A cloroquina é um medicamento comumente utilizado para tratar malária em humanos, sendo ampla e erroneamente disseminada para o combate à COVID-19 durante a pandemia. Entretanto, este fármaco pode causar infertilidade em outros mamíferos. Em peixes, porém, já se verificou efeito benéfico na qualidade do sêmen, melhorando aspectos como a motilidade espermática. **Objetivos:** Avaliar as consequências que a exposição a esse medicamento pode provocar no desenvolvimento embrionário do lambari *Astyanax bimaculatus*. **Métodos:** Utilizou-se 400 mg de cloroquina macerada e diluída em diferentes concentrações em tampão fosfato de sódio bibásico (pH 7.2) constituindo 4 tratamentos (t1= 1 microgramas de solução de cloroquina, t2= 6 microgramas t3= 12 microgramas, t4= 24 microgramas), mais o tratamento controle, constituído de água do aquário. Após a fertilização seminatural, os embriões foram imediatamente recolhidos e aleatoriamente distribuídos em cinco placas de cultivo celular com 24 poços (3ml cada poço). Cada placa representou um tratamento e cada poço recebeu três embriões, totalizando 72 animais por tratamento. As análises foram realizadas a cada 60 minutos até o momento da eclosão com auxílio de estereoscópio. **Resultados:** As eclosões no grupo controle e t4 iniciaram as 242 horas graus, enquanto nos demais tratamentos a eclosão ocorreu uma hora antes (220 horas grau), com taxas de 65% no grupo controle, 94% para t4, 80% para t3, 81% para t2 e 90% em t1. No grupo controle 87,2% das larvas eram normais e 12,8% apresentaram algum tipo de má formação; 73% normais e 22% anormais em t4; 77,6% e 22,4% em t3; 72,9% e 27,1% em t2 e por fim, 76% larvas normais e 12,8% anormais em t1. As anormalidades incluíram escoliose; larvas curtas; vitelo desproporcional ao corpo. **Conclusões:** A cloroquina parece melhorar as taxas de eclosão e reduzir as taxas de mortalidade em *A. bimaculatus*, além de acelerar o processo de desenvolvimento embrionário. Levando em consideração os resultados positivos aqui apresentados para o desenvolvimento embrionário de *A. bimaculatus*, o aumento das taxas de fertilidade do bagre amarelo (Aquaculture 468: 307-313, 2017), e o reduzido número de estudos realizados em peixes, novos estudos devem ser conduzidos com esse fármaco, pois sua disseminação através do descarte inadequado pode levar a contaminação de habitats naturais, resultando em danos irreversíveis às populações naturais de peixes.



Effects of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT in anxiety-like behavior in social investigation and social novelty in zebrafish

Loanne Valéria Xavier Bruce de Souza^{1,5}, Larissa Nunes de Oliveira^{1,5}, Bruna Patrícia Dutra da Costa², Monica Gomes Lima Maximino³, Hellen Vivianni Veloso Corrêa⁴, Caio Maximino de Oliveira⁵

1 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

2 – Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal

3 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

4 – Núcleo de Teoria e Pesquisa do Comportamento, Universidade Federal do Pará

5 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introduction: Anxiety can bring damages to the individual's quality of life as it becomes persistent, uncontrollable, and inappropriate. The serotonin system is related to this behavior and is composed of several receptors, one of them being 5-HT_{1A}. With this in mind, the use of the zebrafish (*Danio rerio* Hamilton 1822), also known as paulistinha, proves to be an ideal model organism to study the role of this receptor in behavior, due to the homologies described between the 5-HT_{1A} receptor of mammals and teleost fish. **Aims:** To evaluate the participation of the serotonergic 5-HT_{1A} receptor in the anxiety-like behavior pattern in zebrafish. **Methods:** 24 adult zebrafish were used in the experiments as focal fish, and 48 as stimuli in the test, with an approximate age of 3 months, being quarantined for two weeks. Animals were group-housed in 40 L tanks, with a maximum density of 25 fish per tank, for the aforementioned quarantine before experiments began. For experiment, 12 animals were injected intraperitoneally with the vehicle solution (0,3 mg/kg dose) (Cortlands salt solution) named group A and 12 animals with 5-HT_{1A} receptor agonist (0,3 mg/kg dose) 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) named group B. The social investigation (SI) and social novelty (SN) tests were performed 30 min. after intraperitoneal injection, where the focal fish were transferred to the main tank (15 x 25 x 20 cm) were acclimated for 3 min., and then they were removed, allowing visual access to the side tanks for 6 min. for both SI and SN. Experiments were approved by UEPAs under protocol 06/18. **Results:** There were significant effects 8-OH-DPAT in the following variables: SI test erratic swimming ($t=4.08$, $p 0,001$) and time near stimulus stranger 1 ($t=5.67$, $p 0,001$); SN test erratic swimming ($t=4.99$, $p 0,001$) and time near stimulus stranger 1 ($t=4.25$, $p 0,001$). **Conclusions:** Receptor agonist 8-OH-DPAT decreased investigation social and social novelty preference. **Funding:** CAPES.



O efeito da crisina no comportamento tipo-ansiedade em peixes zebra (*Danio rerio*)

Bruna Patrícia Dutra Costa^{1,7}, Marissol Leite da Silva^{2,6}, Loanne Valéria Xavier Bruce de Souza^{3,7}, Leonardo Miranda Feitosa^{3,5}, Larissa Nunes de Oliveira^{3,7}, Paulo de Souza Jesus^{4,6}, Saulo Rivera Ikeda⁵, Diógenes Henrique de Siqueira Silva⁶, Caio Maximino⁷

- 1 – Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal
- 2 – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia
- 3 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará
- 4 – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
- 5 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará
- 6 – Grupo de Estudos da Reprodução de Peixes Amazônicos, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
- 7 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introdução: A crisina, isolada de plantas como *Passiflora coerulea*, *Passiflora incarnata* e *Matricaria chamomilla*, ou mesmo como droga sintética, produz efeitos ansiolíticos, anticonvulsivante e antidepressivos. Esse flavonoide tem atividades ansiolíticas em ratos Wistar machos e zebrafish (*Danio rerio*). **Objetivos:** A presente pesquisa tem como objetivo avaliar a participação de receptores GABAérgicos nos efeitos causados pela crisina em zebrafish adultos. **Métodos:** Os experimentos foram aprovados pela UEPA sob protocolo n° 06/18. 30 zebrafish foram utilizados nos experimentos. Grupo P+C: 10 animais foram injetados com a picrotoxina (1mg/kg), agonista do GABAA e após 10 minutos ministrou 1mg/kg de crisina; Grupo P+VD: 10 animais foram injetados intraperitoneal com a picrotoxina (1mg/kg) e após 10 minutos ministrou dimetilsulfóxido (DMSO 10%) e o terceiro grupo VC+VD: com 10 animais, o grupo controle, com solução de cortland e após 10 minutos aplicou DMSO (10%). Os três grupos passaram no teste comportamental claro e escuro e utilizou ANOVA a um fator. **Resultados:** Foram observadas diferenças significativas entre os grupos nas variáveis tempo no claro ($F[2, 14,8] = 3,47, p = 0,058$); entradas no compartimento claro ($F[2, 15,5] = 7,92, p = 0,004$); avaliação de risco ($F[2, 16,7] = 5,57, p = 0,014$); tigmotaxia (n) ($F[2, 16,0] = 3,75, p = 0,046$) e tigmotaxia (%) ($F[2, 13,5] = 7,65, p = 0,006$). **Conclusão:** Sugere-se que o efeito ansiolítico foi bloqueado por uma administração posterior de picrotoxina, antagonista sobre os receptores GABAA, estimulante do sistema nervoso central.



Participation of nitric oxide synthase 1 (NOS-1) in a model of post-traumatic stress disorder with adult zebrafishes (*Danio rerio* Hamilton 1822)

Leonardo Miranda Feitosa^{1,2}, Saulo Rivera Ikeda², Caio Maximino³, Monica Lima Maximino²

1 – Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará

2 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

3 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Introduction: Post-traumatic stress disorder (PTSD) is characterized by symptoms of anxiety, recollection, neuroendocrine and autonomic hyperexcitability after experiencing a traumatic event. Pharmacotherapy occurs after the onset of the disorder and is of low efficacy. In previous studies, we showed the participation of nitric oxide in the phenomenon of time- dependent sensitization (TDS) in zebrafish as an animal model of PTSD. Aims: To evaluate the participation of Nitric Oxide Synthase 1 (NOS 1) in TDS by blocking this enzyme with 7-nitroindozaline (7-NI). **Methods:** 58 zebrafish of the longfin strain were used, which were exposed to the alarm substance (AS) or distilled water (control) and after 30 or 90 min the animals were treated with 7-NI (30mg/kg), 24 hours after the exposure the animals were submitted to the light/dark test and the following behaviors were recorded: time in the white compartment, entries into the white compartment, duration of entries into the white compartment, risk assessment, erratic swimming, thigmotaxis and freezing. All experimental protocols were approved by the Committee for Ethics in Use with Animals (CEUA-UEPA), under decision 07/18. Results were analyzed by two-way ANOVA and Tukey post-tests ($p < 0.05$). **Results:** 7-NI given 30 min after exposure blocks the effects of sensitization on risk assessment ($p < 0.0001$), erratic swimming ($p < 0.0001$) and thigmotaxis ($p < 0.0001$). 7-NI given after 90 min also blocks the effects of sensitization on risk assessment ($p = 0.0233$), erratic swimming ($P = 0.0003$) and thigmotaxis ($p < 0.0001$). There were no significant differences in the other variables analyzed. **Conclusions:** These results suggest the participation of NOS-1 in TDS behaviors in zebrafish, and also as an animal model for the study of the neurobiology of Post-Traumatic Stress Disorder. **Funding:** CNPq (Universal 2016)



Psychoactive effect of the flavonoid quercetin on an anxiety model in zebrafish (*Danio rerio* Hamilton 1822)

Sara Torres^{1,4}, Jonabeto Vasconcelos Costa^{2,4}, Caio Maximino³, Monica Lima Maximino⁴

1 - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará

2 – Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal

3 – Laboratório de Neurociências e Comportamento “Frederico Guilherme Graeff”, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

4 – Laboratório de Neurofarmacologia e Biofísica, Universidade do Estado do Pará

Introduction: Anxiety is characterized by a state of negative mood with the presence of physical symptoms of physical tension, apprehension related to the future and what cannot be predicted or controlled. It corresponds to a natural emotion, essential for the survival of the organism, which arises in response to new and potentially dangerous situations. At moderate levels, anxiety is beneficial because it enhances social, physical, and intellectual performance. However, it can take on a pathological role when it is aroused in inappropriate contexts or when it reaches high levels that disrupt normalcy and quality of life. It is therefore a common neurobehavioral disorder with a multifactorial etiology and genetic, environmental and neurobiological determinants. Anxiety-like behaviors in zebrafish often overlap with fear-related behaviors and can be modulated bidirectionally by drugs acting on systems such as the monoaminergic system. **Aims:** To determine an optimal dose of quercetin and to evaluate the psychoactive effect of the flavonoid on defensive behavior in an animal model of acute exposure in zebrafish (*Danio rerio*). **Methods:** We used 24 adult zebrafish of the longfin phenotype, of both sexes, obtained from a local supplier. The animals were housed in 50 L aquaria filled with mineral water at room temperature ($28\pm 2^\circ\text{C}$) and pH between 7.0-8.0. Quercetin (Sigma-Aldrich) was dissolved in 5% dimethyl sulfoxide and administered intraperitoneally to the animals at doses of 5, 50, and 300 mg/kg. **Results:** Animals at the 50 mg/kg dose spent less time at the bottom of the tank than those at the 5 and 300 mg/kg doses. Consequently, this dose showed an increase in the time spent in the upper part of the tank compared to the other groups, as well as a reduction in the duration of freezing events compared to the animals in the control group. In view of this, the dose of quercetin at a concentration of 50 mg/kg was chosen as appropriate. The experiments carried out with the animals subjected to the novelty induced vertical distribution test showed that there were no significant effects on the freezing time for any of the groups tested [$F(3,20) = 1.998$, $P=0.1467$], nor were there any significant effects on erratic swimming [$F(3,20) = 0.6357$, $P=0.6007$]. Regarding the duration of geotaxis events, there were again no significant differences between the flavonoid treated groups and the control group [$F(3,20) = 0.6887$, $P=0.5695$], as well as for the time at the top [$F(3,20) = 1.254$, $P=0.3167$]. Finally, average speed was recorded as a parameter of locomotion and negative control, with no significant difference [$F(3,20) = 1.030$, $P=0.4007$]. **Conclusions:** The analysis of acute toxicity made it possible to establish the 50 mg/kg dose of quercetin as ideal. On the other hand, the variables



recorded in the DVEN to assess the psychoactive effect of the flavonoid reflect an inhibitory effect on anxiety, while anxiety was increased.