

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de veterinária

Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Maíra Lucas De Oliveira

**EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NO BEM-ESTAR DE DUAS ESPÉCIES
DE PEIXES ORNAMENTAIS *Cyprinus carpus var. koi* E *Betta splendens***

Belo Horizonte

2020

Maíra Lucas De Oliveira

**EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NO BEM-ESTAR DE DUAS ESPÉCIES
DE PEIXES ORNAMENTAIS *Ciprinus carpio* E *Betta splendens*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Daniela Chemim de Melo Hoyos

Co-Orientador: Galileu Crovatto Veras

Belo Horizonte

2020

O48e

Oliveira, Maíra Lucas de, 1992-

Efeito da densidade de estocagem no bem-estar de duas espécies de peixes ornamentais
Cyprinus carpus var. koi E *Betta splendens* / Maíra Lucas de Oliveira. – 2020.
83.:il.

Orientadora: Daniela Chemim de Melo Hoyos

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção animal.

Bibliografia: f. 77 a 83

1. Peixe ornamental – Teses – 2. Aquicultura – Teses -3. Água – Qualidade – Teses – I. Hoyos, Daniela Chemim de Melo – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título.

CDD – 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Efeito da densidade de estocagem no bem-estar de duas espécies de peixes ornamentais *Ciprinus carpio* e *Betta splendens*.

Maíra Lucas De Oliveira

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **30 de julho de 2020**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes professores:

Delcio César Cordeiro Rocha


UFMG



Prof. Delcio César Cordeiro Rocha

Fabiola de Oliveira Paes Leme


UFMG



Prof. Fabiola de Oliveira Paes Leme

Daniela Chemim de Melo Hoyos – Orientador

UFMG



Prof. Daniela Chemim de Melo Hoyos

Belo Horizonte, 30 de julho de 2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS e a JESUS CRISTO por me proporcionar a oportunidade de trabalhar com a pesquisa e com isso, ter colocado em meu caminho pessoas incríveis e especiais que vou levar em meu coração pelo resto da vida;

A minha mãe Berenice, pai Tarcísio e ao meu irmão Tarcio, por todo apoio, carinho e dedicação nessa jornada;

Esse parágrafo é dedicado à minha orientadora Daniela Chemim de Melo Hoyos, que foi muito mais que uma orientadora e com toda paciência do mundo me ajudou a realizar esse sonho. Nunca saberei agradecer toda ajuda e dedicação que me foi prestada. A senhora com certeza é uma pessoa muito especial e um exemplo para mim;

Ao meu Co-orientador Galileu Crovatto Veras por toda ensinamentos ajuda e dedicação;

Aos docentes Carlos Augusto Gomes Leal, Fabíola de Oliveira Paes Leme, Felipe Pierezan, Gilcinéa de Cássia Santana e Kleber Campos Miranda Filho por toda ajuda que possibilitou a realização desse trabalho;

Ao professor Delcio César Cordeiro Rocha por ser a pessoa que plantou a sementinha do saber em minha alma há anos quando eu estava no início da graduação e por hoje ser, além de um grande amigo, um exemplo;

Aos meus amigos Adriana Xavier, Caroline Teixeira, Gean Reis, Williane Menezes, Ragli Azevedo, Rafael Bahiense e Walisson de Souza por toda ajuda, carinho e amizade;

A Universidade Federal de Minas Gerais por me propiciar a realização deste sonho e aos queridos colegas de laboratório por toda ajuda e alegria que me proporcionaram.

Muito Obrigada!

”Não há diferença fundamental entre o Homem e os animais nas suas faculdades mentais. Os animais, como o Homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento.”

Charles Darwin

Resumo

O cultivo de organismos aquáticos para fins ornamentais é uma vertente promissora para a Aquicultura. Dentre os peixes utilizados com fins ornamentais, as espécies de carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*) e beta (*Betta splendens*) possuem importância econômica para a aquicultura sendo os peixes ornamentais mais comercializados no Brasil e no mundo. O objetivo do presente estudo foi avaliar se os principais volumes nos quais as espécies beta (*Bettas splendens*) e carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*) são acondicionadas em lojas de aquarismo estão apropriados para as espécies e se podem causar algum prejuízo ao bem-estar dos animais. O estudo foi dividido em duas etapas, ambos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos (5,10,20,30,45 e 90 L/animal) em quadruplicata para as carpas e cinco tratamentos (150, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mL/animal) e dez repetições para o beta. As duas etapas tiveram duração de 30 dias ao qual foram analisados comportamento, histologia de fígado e brânquias, parâmetros de qualidade de água, parâmetros bioquímicos e sanguíneos. Em relação aos betas, os tratamentos 150 e 500 mL apresentaram os piores valores para os parâmetros de água, e para a maioria dos parâmetros bioquímicos. Em relação às carpas, os dois volumes mais adensados (5 e 10 L) apresentaram brigas constantes e alterações nos parâmetros de água. Os maiores valores para os parâmetros sanguíneos foram alcançados entre 50 e 70 L/animal. O volume de acondicionamento influencia no bem-estar de carpas coloridas e beta, logo, várias lojas têm acondicionado esses animais em volumes inadequados para o comércio. Recomenda-se o acondicionamento dos peixes ornamentais beta machos adultos e carpas coloridas de 15 cm em recipientes contendo um mínimo de 01 L e 30 a 45 L de água/animal, respectivamente.

Palavras chaves: densidade de estocagem; peixes ornamentais; estresse.

Abstract

The cultivation of aquatic organisms for ornamental purposes is a promising aspect for aquaculture. Among the fish used for ornamental purposes, the species of colored carp (*Cyprinus carpio var koi*) and beta (*Betta splendens*) have economic importance for aquaculture, being the most commercialized ornamental fish in Brazil and in the world. The aim of the present study was to assess whether the main volumes of the beta species (*Betta splendens*) and colored carp (*Cyprinus carpio var koi*) are conditioned in aquarium stores that are appropriate for the species and may be impairing well-being of the animals. The study was divided into two stages, both in a completely randomized design, with six treatments (5,10,20,30,45 and 90 L / animal) in quadruplicate for carp and five treatments (150, 500, 1,000, 5,000 and 10,000 mL / animal) and ten repetitions for the beta. The two stages lasted 30 days and were analyzed for behavior, histology of liver and gills, water quality parameters, biochemical and blood parameters. In relation to betas, treatments 150 and 500 mL showed the worst values for water parameters, and for most biochemical parameters. Regarding carp, the two most densified volumes (5 and 10 L) showed constant fights and changes in water parameters. The highest values for blood parameters were reached between 50 and 70 L / animal. The volume of packaging influences the well-being of colored carp and beta, so several stores have packed these animals in volumes unsuitable for trade. It is recommended to pack the adult male betta ornamental fish and colored carp of 15 cm in containers containing a minimum of 01 L and 30 to 45 L of water / animal, respectively.

Key words: stocking density; ornamental fish; stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. População de animais no Brasil em 2019.....	14
Figura 2. Dimorfismo sexual de peixe betas	17
Figura 3. Exemplos de carpa comum e carpas coloridas	18
Figura 4. Lesões nas carpas decorrente de brigas.....	41
Figura 5. Resultados dos parâmetros sanguíneos de hemoglobina, eritrócito e proteína total de carpas coloridas acondicionadas em diferentes volumes de água	42
Figura 6. Resultados dos parâmetros bioquímicos das carpas coloridas acondicionadas em diferentes volumes de água	43
Figura 7. Resultado do desdobramento da terceira semana em relação aos tratamentos para o peso	47
Figura 8. Histologia de fígado	48
Figura 9. Histologia de Brânquias	49
Figura 10. Resultados dos parâmetros bioquímicos dos betas acondicionados em diferentes volumes	65
Figura 11. Resultados médios dos parâmetros de qualidade de água dos betas acondicionados em diferentes volumes	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Método analítico utilizado para a mensuração de analitos bioquímicos séricos de carpas	38
Tabela 02. Resultado dos parâmetros de qualidade de água dos tratamentos com carpas coloridas, acondicionadas em diferentes densidades de estocagem	41
Tabela 03. Resultado do desempenho das carpas coloridas em decorrência dos tratamentos .	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABINPET - Associação Brasileira Da Indústria de Produtos para Animais de Estimação;

ALB - Albumina;

ALT - Alanina aminotransferase;

AMI - Amilase;

AST - Aspartato aminotransferase;

B. splendens - *Betta splendens*;

COL - Colesterol;

CRE - Creatinina;

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations;

FOA/FOAB/ALP - Fosfatase alcalina;

GGT - gama glutamil transferase;

GLI - Glicose;

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

PB - proteína bruta;

PRO - Proteína total;

TRI - Triglicerídeos;

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais;

URE - Ureia.

Sumário

1. Introdução	13
2. Revisão Bibliográfica.....	13
2.1 Panorama da aquicultura Ornamental.....	13
2.2 <i>Betta splendens</i> (Regan, 1910)	15
2.3 Carpas Ornamentais	17
2.4 Densidade de estocagem	18
2.5 Estresse	20
2.6 Bem-estar de peixes.....	22
2.6.1 Bem-estar de peixes na aquicultura	22
2.6.2 Relação: Comportamento e bem-estar.....	24
3. Objetivo	32
3.1 Objetivos Gerais	32
3.2 Objetivos Específicos	32
Capítulo 1: Efeito da densidade de estocagem no bem-estar de carpas ornamentais (<i>Ciprinus carpio var koi</i>)	
4. Introdução	35
5. Materiais e Métodos	35
5.1 Instalações e delineamento experimental.....	35
5.2 Análise de desempenho	36
5.3 Coleta de Material	36
5.4 Análise sanguínea.....	36
5.4.1 Eritrócitos.....	36
5.4.2 Hematócrito e proteína total.....	37
5.4.3 Hemoglobina	37
5.5 Avaliações histológicas de brânquias e fígado.....	37
5.6 Análises bioquímicas	38
5.7 Análises dos parâmetros limnológicos	39
5.8 Comportamento	39
5.9 Análise Estatística	40
6. Resultados.....	40
6.1 Parâmetro Limnológicos.....	41
6.2 Parâmetros sanguíneos.....	42

6.3 Parâmetros bioquímicos.....	42
6.4 Desempenho.....	47
6.5 Histologia.....	47
6.6 Comportamento.....	49
7. Discussão.....	50
7.1 Parâmetros limnológicos.....	50
7.2 Parâmetros sanguíneos.....	51
7.3 Parâmetros bioquímicos.....	52
7.4 Histologia.....	53
8. Conclusão.....	54
Capítulo 2: Efeito da densidade de estocagem no bem-estar de peixes betaS (<i>Betta splendens</i>)	
9. Introdução.....	61
10. Materiais e Métodos.....	61
10.1 Instalações e delineamento experimental.....	61
10.2 Análises bioquímicas.....	62
10.3 Análises de parâmetros limnológicos.....	62
10.4 Comportamento.....	63
10.5 Análise Estatística.....	64
11. Resultados.....	64
12. Discussão.....	70
13. Conclusão.....	72
14. Considerações Finais.....	72
15. Referências Bibliográficas.....	74

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de organismos aquáticos para fins ornamentais é uma vertente promissora para a Aquacultura. Seu crescimento é devido à grande variedade de espécies, facilidade de manejo, necessidade de pouco tempo e espaço para criação e à indicação de alguns especialistas no tratamento ao combate contra o estresse.

Em decorrência do crescimento do setor e da atual preocupação com o bem-estar e manejo livre de estresse e sofrimento, é criada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a Instrução Normativa nº 56 de 2008 que estabelece os procedimentos gerais de “Recomendações de Boas Práticas de Bem-Estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico”. Atualmente vem se buscando mais conhecimento sobre o bem-estar e práticas que possam diminuir o estresse na criação de peixes, visando principalmente um melhor tratamento e longevidade dos animais.

No presente trabalho foram utilizadas as espécies de peixes ornamentais *Bettas splendens* e *Cyprinus carpio var koi*. Essas espécies foram utilizadas, pois, dentre os peixes ornamentais, o *Betta splendens* possui fácil aceitação no mercado de aquarismo, possui uma ampla variedade de cores e formato de nadadeiras, é um animal rústico e, possui respiração aérea, o que lhe permite viver em pequenos aquários sem necessitar de equipamentos de oxigenação, além de ser considerado o peixe de entrada para o aquarismo devido sua resistência, beleza e facilidade de manejo. Outro peixe bastante aceito pelo mercado ornamental são as carpas coloridas (*Cyprinus carpio vr. koi*). Segundo Ribeiro, *et. al.* (2008) estima-se que as carpas estão entre as principais espécies de peixes ornamentais comercializadas mundialmente e sua venda está atrás apenas dos betas e kinguios (*Carassius auratus*).

Dessa Forma, foi proposto nesse trabalho avaliar se os principais volumes nos quais as espécies beta (*Bettas splendens*) e carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*) são acondicionadas em lojas de aquarismo estão apropriados para as espécies e se podem causar algum prejuízo ao bem-estar dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A revisão a seguir aborda o panorama da aquacultura ornamental, processos fisiológicos do estresse, densidade de estocagem, bem-estar e as características das espécies de peixes que foram estudadas neste trabalho.

2.1 Panorama da aquacultura Ornamental

Atualmente, manter peixes ornamentais de água doce e marinhos em aquários é um hobby popular em residências e espaços públicos (Magalhaes e Jacobi, 2013). Segundo a ABINPET (2020), no Brasil os peixes ornamentais ocupam o 4º lugar no ranking de principais animais pets, atrás apenas de cães, gatos e aves canoras e ornamentais (Figura 1). Isso ocorre pelo fato do Brasil possuir uma grande variedade de peixes nativos, juntamente com o clima tropical adequado para o cultivo e o crescente surgimento de comércios e equipamentos especializados para aquarismo (Igarashi, *et al.* 2016).

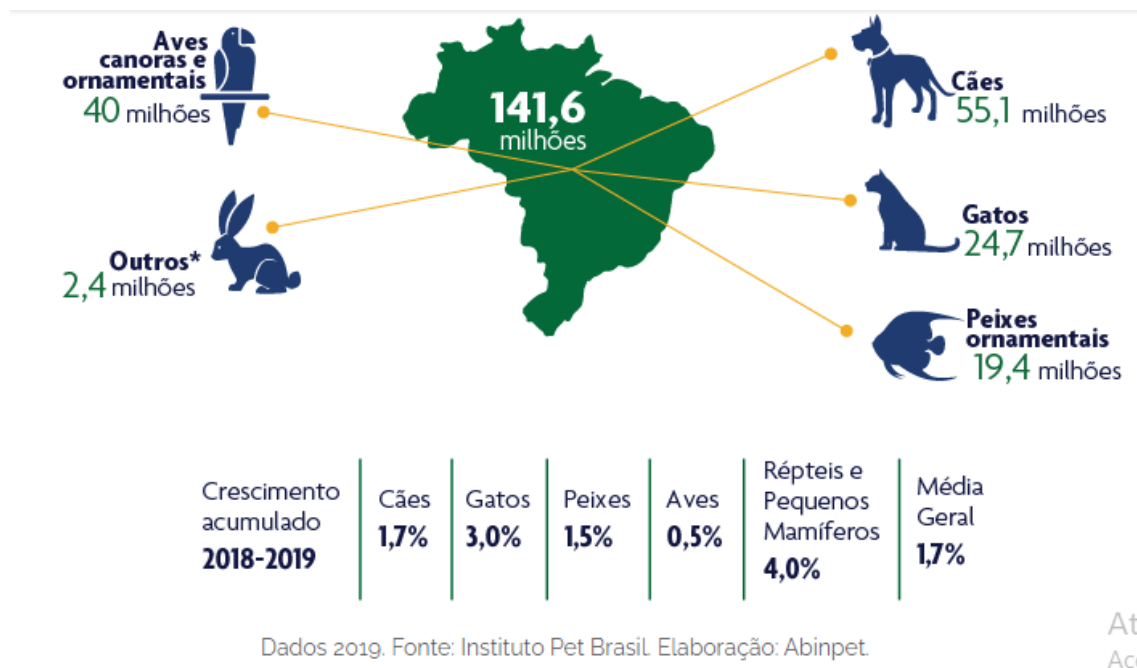


Figura 1. População de animais no Brasil em 2019. Fonte:(Abimpet, 2020)

Além disso, equipes multidisciplinares recomendam o hobby do aquarismo como uma terapia no tratamento de transtornos mentais como ansiedade, crise do pânico e depressão (Levinson, 1979; Barker, *et al.*, 2003; Son; Choi; Cho, 2018) ou para melhoria do bem-estar humano (Clements, *et al.*, 2019). Essas indicações associadas ao avanço da tecnologia em equipamentos para aquários como filtros e alimentadores automáticos, contribui para a popularização do aquarismo.

No cenário econômico, a produção de organismos aquáticos ornamentais é uma atividade extremamente rentável e apresenta crescimento anual médio de 14% desde 1985 (Bartley, 2000; Zuanon; Salaro; Furuya, 2011) e representa 80 a 90% da comercialização de peixes de água doce (Sales, *et al.*, 2016). Isso possibilita a utilização de pequenas áreas para produção, o que demanda baixo custo de investimento para instalações (Zuanon, 2007). Além disso, o rápido

ciclo de produção possibilita maior produção ao longo do ano e, conseqüentemente, uma maior rentabilidade da produção.

Segundo Zuanon, *et al.* (2011) apesar da importância econômica da produção de peixes ornamentais, existem poucas informações e protocolos a respeito dos sistemas de cultivos e nutrição focados na produção de peixes ornamentais. Conseqüentemente, o cultivo de peixes ornamentais é realizado utilizando os mesmos princípios básicos da produção de peixes de corte, com algumas adaptações específicas.

Apesar do Brasil possuir um grande potencial para produção e um amplo mercado para organismos aquáticos ornamentais, existe uma carência em relação à informações precisas sobre o tamanho do mercado de aquarofilia, ou seja, não existem dados precisos a respeito da quantidade de produtores, lojas e número de animais comercializados, etc. (De Araújo *et al.*, 2018; De Faria, *et al.*, 2019).

Há falhas nas estatísticas nacionais e a identificação de produtores por parte dos órgãos de fiscalização e controle, devido aos altos índices de ilegalidade dos empreendimentos, são sempre subdimensionadas, o que impossibilita a atuação dos setores privado e público no desenvolvimento deste agronegócio (Igarashi *et al.*, 2016; De Faria, *et al.*, 2019;).

Levantamentos para identificação dessa cadeia produtiva são realizadas em alguns estados através de publicações científicas ou dados não oficiais de forma isoladas (De Faria, *et al.*, 2019) mas com o tempo, os dados ficam obsoletos por falta de atualização e acompanhamento dos desdobramentos dessa cadeia produtiva.

2.2. *Betta splendens* (Regan, 1910)

O *Betta splendens* ou popularmente conhecido como peixe-beta, peixe lutador, peixe-de-briga-siamês ou Siamese fighting fish, devido à sua agressividade, principal característica da espécie, é um peixe nativo de pequenos riachos turvos e lagos do sudeste da Ásia (Jaroensutasinee, 2001; Jaroensutasinee, 2003; LuchiarI, 2016), pertencente à classe Actinopterygii, ordem Perciformes e família Osphronemidae.

Dentro do gênero *Betta* são conhecidos mais de 23 espécies, mas o *Betta splendens* é a espécie mais difundida (Hui; Ng, 2005) sendo um dos peixes ornamentais mais populares no mundo (Srikrishnan, 2017; Amparyup, 2020). Sua popularidade é devido ao fato de possuir uma grande variedade de cores e uma exuberante nadadeira caudal, os machos vivem sozinhos, necessitando de pouco espaço para sua criação e principalmente por possuírem respiração aérea (Mendez-sanchez; Burggren, 2019). O que permite sua manutenção em pequenos aquários sem aeração, popularmente conhecidos como “*beteiras*”.

O *B. splendens* é considerado um animal rústico tolerando uma faixa de pH de 6,8 a 7,2 e temperaturas entre 23°C e 34°C (Faria, *et. al.*, 2006). Esses peixes são onívoros (Srikrishnan, 2017) possuem dimorfismo sexual, sendo os machos caracterizados por possuírem nadadeiras maiores que as fêmeas (Snekser, 2006) (Figura 2). Os machos domesticados possuem $4,18 \pm 0,39$ cm de comprimento (Oliveira *et al.*, 1998) e as fêmeas 3 a 5 cm (Chalokpunrat, 1982). Ambos os sexos são agressivos entre si (Goldstein, 1975) e por isso, em habitat natural vivem em uma densidade de 1,7 peixes/m² (Snekser, 2006).

Em habitat natural os betas preferem áreas rasas e próximas à margem (Jaroensutasinee, 2001). Essa preferencia se deve ao fato dos betas se beneficiarem de uma menor ameaça por parte dos predadores, pois, habitando águas rasas, os betas evitam a predação por peixes maiores que se limitam a águas mais profundas (Winemiller e Leslie, 1992). Ao viverem em águas rasa com baixa disponibilidade de oxigênio os betas também se beneficiam de baixa competição interespecífica por recursos para sobreviver. Além disso, a temperatura da água aumenta mais rapidamente em uma área rasa do que em águas mais profundas (Jaroensutasinee, 2001), o que melhora o sucesso reprodutivo dessa espécie, já que a temperatura ideal para criação e desenvolvimento dos ovos é de 30°C (Gordon e Axelrod, 1968).

Em relação à reprodução, os machos possuem cuidado parental. São os machos desta espécie que constroem o ninho de bolha, cortejam as fêmeas e cuidam de uma única ninhada dos ovos em desenvolvimento e dos peixes larvais recém-eclodidos de cada vez, não praticando canibalismo nos ovos e larvas durante esse período (Jaroensutasinee, 2003).

O sucesso da reprodução está interligado ao fato dos machos serem maiores que suas parceiras. Durante o período reprodutivo, os machos afugentam as fêmeas após o acasalamento, pois as fêmeas comem seus próprios ovos fertilizados, além de ficar mais fácil de dar o “abraço nupcial” (Gordon e Axelrod, 1968; Jaroensutasinee, 2001). Além disso, machos maiores produzem ninho de bolhas maiores, em relação á machos menores e possuem mais sucesso nas disputas, com outros machos, pelas fêmeas (Hastings, 1988). Machos bem-sucedidos podem ter 2 a 3 sucessivas ninhadas por período reprodutivo. (Jaroensutasinee, 2003).

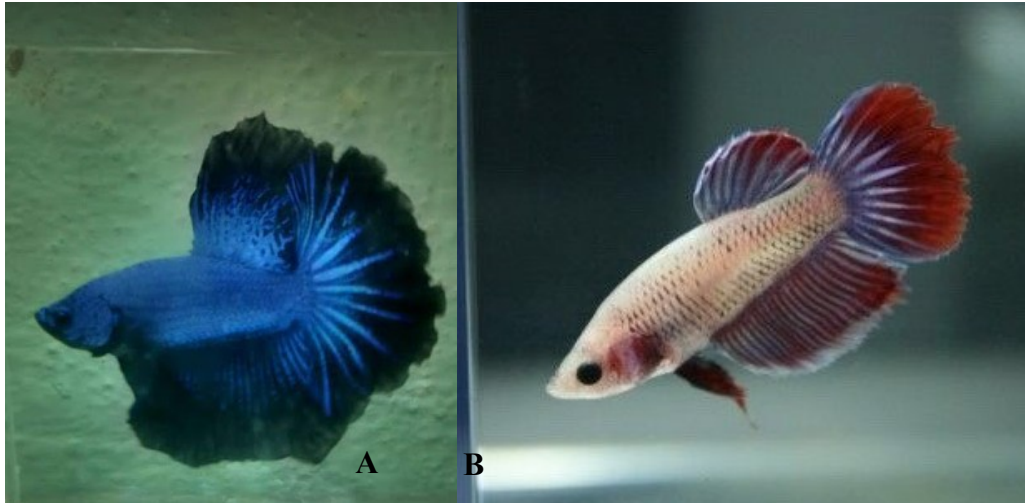


Figura 2. Dimorfismo sexual de peixe betas. A) *Betta Splendens macho*. Fonte: (Arquivo pessoal). B) *Betta Splendens fêmea*. Fonte: (https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-888962447-peixe-betta-femeas-pac-com-20-_JM).

2.3.Carpas Ornamentais

A carpa ornamental (*Cyprinus carpio vr. koi*) ou popularmente conhecida como carpa colorida, carpa japonesa ou carpa koi, é uma espécie de peixe teleosteo de origem asiática, pertencente à classe Actinopterygii, ordem Cypriniformes e família Cyprinidae. Esta espécie é caracterizada por uma ampla diversidade de padrões de cores (Gomelsky, *et. al.*, 1996a; Wang, 2004; Sun, *et. al.*, 2012), tendo sido identificados mais de 100 diferentes tipos de coloração (Kuroki *et al.*, 1985; Sun, *et. al.*, 2012) para essa espécie de peixe, que podem ser utilizadas como animais de estimação (pet) ou para consumo. A cor é um dos critérios de qualidade mais importante que, ditam no mercado, o valor das carpas ornamentais, pois quanto mais atípico o padrão das cores, maior o valor agregado ao animal.

A carpa colorida é uma variedade da carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Figura 3) (Rahaman, *et. al.*, 2012) que ocorreu oriunda de mutação de modo espontâneo no Japão, na cidade de Niigata por volta de 1830, decorrente da seleção de animais coloridos que surgiram em meio aos animais de coloração prateada, típica dessa espécie (Taniguchi, *et. al.*, 1986).

As carpas são caracterizadas como animais gregários, onívoros com tendência a iliofagia (Ferreira, *et. al.*, 2009), dóceis, vivem bem com outras espécies de peixes e são animais polígamos com desova sazonal (Alikunhi, 1966) que ocorrem geralmente entre os meses de Maio a Junho (Kottelat, 2007).

Em habitat natural, as carpas coloridas vivem em média de 15 a 24 anos (Kuroki, 1985; Haniffa, *et. al.*, 2007; Rahaman, *et. al.*, 2012) mas em cativeiro, não é incomum encontrar relatos de animais que ultrapassaram os 60 anos de idade. O recorde é de uma carpa fêmea, no Japão,

conhecida como Hanako, que chegou aos 226 anos de idade (Coffin, 2010; Eliz, 2012; Moore, 2015; Anfres, 2016). Geralmente os machos vivem mais que as fêmeas (Rahaman, *et. al.*, 2012), mas independente disso, as carpas são conhecidas por sua longevidade.

Esses animais podem medir 100 cm de comprimento (Haniffa, *et. al.*, 2007; Rahaman *et al.*, 2012), são rústicos, de fácil adaptação, que toleram uma ampla faixa de pH, sendo o ideal entre 7,0 e 7,4 (Ferreira, *et. al.*, 2009). Suportam também, uma faixa de temperatura entre 8°C e 30°C, sendo a temperatura ideal para sua criação de 24°C a 28°C (Graeff, *et. al.*, 1999; Ferreira, *et. al.*, 2009). Com relação ao oxigênio dissolvido, as carpas toleram níveis baixos, cerca de 3,2 mg/L (Macedo, *et. al.*, 2007), o que facilita sua criação em lagos e locais com água parada.

Em relação à criação, os *Cyprinus carpio* possuem um pacote tecnológico bem definido na literatura (De Faria, *et. al.*, 2019). É um dos peixes ornamentais mais admirados e populares do mundo (Gomelsky, *et. al.*, 2011^b; Rahaman, *et. al.*, 2012) e são as principais espécies de peixes mais cultivados no mundo com fins alimentares (FAO, 2018; Calixto, *et. al.*, 2020). Porém, infelizmente não se possui dados concretos e fidedignos sobre a produção e comercialização de carpas com fins ornamentais no Brasil, o que limita o conhecimento sobre a importância dessa espécie para aquacultura ornamental brasileira.

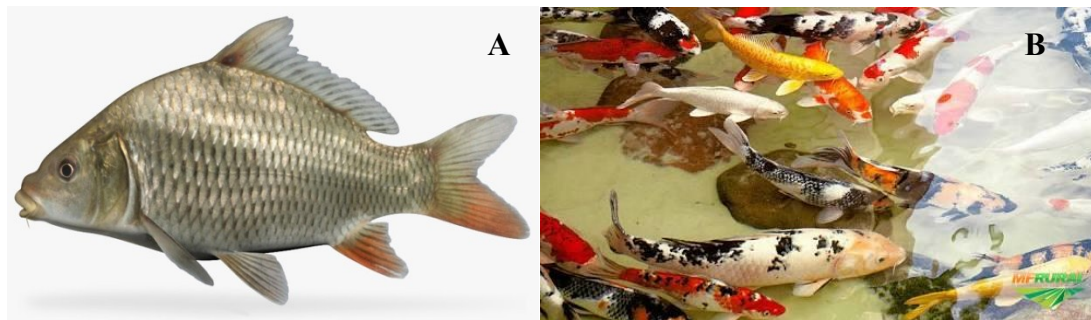


Figura 3. Exemplos de carpa comum e carpas coloridas. A) carpa comum. Fonte : (<https://www.turbosquid.com>) e carpas coloridas (B) Fonte: (<https://www.mfrural.com.br>).

2.4. Densidade de estocagem

O termo densidade de estocagem ou "Sensu strictu" refere-se à concentração na qual os peixes são inicialmente estocados em um sistema. No entanto, o termo é geralmente usado para referenciar a densidade de peixes em um determinado espaço, sendo em m³ ou em litro (Ellis, *et. al.*, 2002).

A aparente eficiência dos sistemas de aquacultura pode ser maximizada aumentando as densidades de criação. Tal prática é utilizada como estratégia para diminuir custo de produção e maximizar a utilização de recursos naturais, com a finalidade de maiores índices produtivos (Graeff, 2004; Márquez, *et. al.*, 2018).

O aumento da densidade de estocagem é uma estratégia amplamente utilizada no cultivo de peixes de consumo e ornamentais, mas não é uma prática limitada apenas ao cultivo, pois é comum observar altas densidades de acondicionamento de peixes, em lojas de aquarismo e conseqüentemente, consumidores leigos replicando essa prática.

Apesar de parecer uma boa estratégia de produção, o aumento da densidade de estocagem pode provocar diminuição da competição por alimentos, redução do oxigênio, aumento de compostos nitrogenados e estresse crônico nos animais (Procarione, 1999; Márquez, *et. al.*, 2018). E devido à elevada exposição á diferentes agentes estressores no sistema de criação, a superlotação induz respostas ao estresse e representa um risco significativo para a saúde dos peixes (Yarahmadi, *et. al.*, 2016).

A alta densidade de estocagem é considerada um estressor crônico relacionado à aquicultura, pois, causa liberação do cortisol no plasma, o principal corticosteroide em peixes (Barton, 1988; Montero, *et. al.*, 1999). Como consequência, o estresse devido à superlotação pode afetar negativamente o estado de saúde, aumenta sua suscetibilidade a doenças, contribui para maior incidência de lesões físicas e redução do crescimento, consumo de ração e eficiência na conversão alimentar (Pickering, 1981; Barton, *et. al.*, 1985; Adams, 1990; Barton e Iwama, 1991; Yarahmadi, *et. al.*, 2016).

Montero, *et. al.*, (1999) observou que animais acondicionados em altas densidades, apresentavam 4 vezes mais cortisol plasmáticos, alterações imunológicas e mobilização de fontes de energéticas quando comparados aos animais acondicionados em baixas ou medias densidades. Eles também relataram que a alta densidade de estocagem em peixes cultivados, produz efeitos como alterações no comportamento, má utilização dos alimentos e estresse crônico o que resulta em baixo crescimento e mortalidade dos peixes.

Trabalhos na literatura também indicam que a densidade de estocagem é um fator crítico que pode influenciar diretamente a qualidade da água, sobrevivência, crescimento, respostas imunes, expressão e produção gênica (Jia, *et. al.*, 2016; Yarahmadi, *et. al.*, 2016; Long, *et. al.*, 2019). Outros estudos apontam efeito da densidade de estocagem em variáveis como crescimento dos peixes sobrevivência, ingestões de alimentos, alterações hormonais, comportamento, metabolismo e imunologia devido à resposta ao estresse relacionada à alta

densidade (Montero, *et. al.*, 1999). Mas os efeitos variam de acordo com a espécie, sistema de produção e recursos disponíveis.

Porém, estudos da relação entre bem-estar e densidade de estocagem são complexos, pois precisam levar em consideração diversa variável como disponibilidade de alimentos ou qualidade da água e os resultados dependem da espécie estudada. Algumas espécies de peixes optam em viver em cardumes em densidades muito altas na natureza, mas, quando cultivadas em cativeiros, essas espécies mostram evidências de bem-estar reduzido em altas densidades (Turnbull, *et. al.*, 2005), demonstrando a complexidade das interações entre bem-estar e densidade de estocagem.

2.5. Estresse

O conceito de estresse possui diversas definições (Barton 1997; Ellis, *et. al.*, 2012), mas a definição mais frequente é de “Estado de homeostase ameaçada que é restabelecida por um repertório complexo de fatores fisiológicos e respostas adaptativas comportamentais do organismo ” (Chrousos 1998; Ellis, *et. al.*, 2012) mas também pode ser definido como “ Um conjunto de reações que o organismo desenvolve ao ser submetido a uma situação que exige esforço para adaptação” (Segantin e Maia, 2007) ou como “Conjunto de respostas não específicas do organismo a situações que ameaçam desequilibrar a sua homeostase” (Gallardo e Oliveira, 2006).

Nos últimos anos, houve um aumento na intensificação da aquicultura global e devido a essa intensificação, podem ser realizados manejos inadequados que causam estresse crônico, afetando o bem-estar dos peixes cultivados (Hanke, *et. al.*, 2020).

Como consequência, a exposição a múltiplos agentes estressores que podem levar a efeitos inesperados, que devem ser levados em consideração para uma melhoria no manejo desses animais (Petitjean, *et. al.*, 2019). Agente estressor pode ser definido como “Todo agente ou demanda que evoca reação de estresse, seja de natureza física, mental ou emocional” (Segantin e Maia, 2007).

Segundo Da Silveira, *et. al.*, (2009). Existem inúmeros tipos de agentes estressores em peixes, sendo eles de natureza física tais como luz, temperatura e som, de natureza química, como concentração de oxigênio dissolvido, dióxido de carbono, resíduos nitrogenados e metabólicos, pH, concentração de solutos e poluentes, os agentes considerados biológico-sociais, como densidade de estocagem, interações socioambientais, patógenos e predadores, os agentes considerados de manejo, tais como captura, transporte, reprodução artificial, manejo

alimentar e nutricional, vacinação e uso de anestesia em peixes e os agentes nutricionais, que consistem é fornecimento de alimento em quantidade ou de maneira ineficiente.

Além disso, os agentes estressores podem ser definidos como de duração moderada ou de duração prolongada, podendo apresentar diferentes intensidades. A exposição a esses agentes em curto prazo pode produzir uma resposta adaptativa nos peixes, que consistem em restituir o equilíbrio do organismo, porém, se forem expostos a agentes estressores de forma prolongada, a resposta pode tornar-se mal adaptativa e resultará em consequências negativas para saúde dos peixes (Da Silveira, *et. al.*, 2009).

Devido a isso, a resposta ao estresse é de vital importância para todos os organismos vivos, pois, na atividade aquícola, estresses temporários ou crônicos são geralmente inevitáveis devido a variações no ambiente de cultivo, temperatura, salinidade, densidade de estocagem e alimentação (Salas-leiton, *et. al.*,2010; Brucet Balmaña, *et. al.*,2012; Jia, *et. al.* 2016).

Em relação aos peixes enfrentarem um fator de estresse que pode ameaçar sua homeostase, uma série de processos fisiológicos e comportamentais são ativados para lidar com a situação adversa (Schreck, 2010; Jia, *et. al.*, 2016). No entanto, excessiva ativação ou prolongada exposição dos processos de estresse pode causar, imunossupressão, inibição do crescimento, ganho de peso e desempenho reprodutivo, resistência a patógenos e em casos mais graves, pode levar a óbito os animais (Jia, *et. al.*, 2016).

Petitjean, *et. al.*, (2019) afirmam que após exposições múltiplas ao estresse, os peixes podem utilizar da estratégia de compensação, isto é, realocar a energia para defesas e reparos com propósito de uma conservação estratégica para bloquear as respostas ao estresse, mas essa compensação tem como consequência, elevados efeitos deletérios e alta mortalidade. Essa estratégia auxilia na sobrevivência dos peixes, mas é necessário a realização de mais estudos específicos sobre o assunto.

As respostas ao estresse envolvem uma série de alterações fisiológicas e seus efeitos podem ser divididos em três níveis: primários, secundários e terciários (Mazeaud e Mazeaud, 1981; Donaldson, 1981; Wedemeyer, *et. al.* 1990; Anderson, 1990; Barton, 1997; Ellis, *et. al.*,2012; Simon, *et. al.*, 2017):

1. Respostas neuroendócrinas - uma ameaça é percebida e desencadeia a liberação de hormônios do estresse, catecolaminas, adrenalina, noradrenalina e corticosteroides, que precipitam a resposta 2 e alterações comportamentais imediatas de luta ou fuga.
2. Alterações fisiológicas – ocorrem alterações fisiológicas como o aumento do número de glóbulos vermelhos, aumento da glicose no sangue e alterações comportamentais

como atividade alimentar reduzida que permitem ao animal responder à ameaça. No entanto, se estas respostas forem mantidas por longo prazo, pode resultar na 3ª resposta.

3. Efeitos de níveis integrais no animal— ocorre à diminuição do crescimento, inibição reprodutiva, aumento da suscetibilidade a doenças e mortalidade.

2.6. Bem-estar de peixes

A preocupação com o bem-estar dos animais vem sendo um assunto crescente, assim como, o número de consumidores dispostos a pagar um valor maior pelo animal, desde que tenham sido cultivados dentro das boas práticas (Solgaard e Yang, 2011). Entretanto, o debate sobre o bem-estar dos animais tende a se concentrar em espécies terrestres. Isso se deve à grande variedade de espécies e suas diferenças nas práticas de produção e, ao fato de haver poucos trabalhos científicos, associados a dificuldades encontradas em políticas de regulamentação da área de aquacultura, sobre o bem-estar dos animais aquáticos (De Castilhos e De Oliveira, 2016), (Regan, *et. al.*, 2012).

Segundo Pedrazzani (2007) os peixes são seres sencientes, ou seja, têm capacidade de sentir sensações e sentimentos de forma consciente e têm percepções conscientes do que lhe acontecem e do que os rodeiam. Uma maneira simples de caracterizar os peixes como seres sencientes está ligada à capacidade do indivíduo de identificar estímulos externos (Duncan, 1996). E esta capacidade envolve processos mentais que os peixes utilizam para adquirir informações a respeito do ambiente, armazenando-as e quando necessário, utilizando-as para tomar decisões (Shettleworth, 2001).

De acordo com Pedrazzani (2007) os peixes também ficam estressados quando expostos a situações de risco, evidenciando que esses animais podem sentir e reagir conscientemente a diferentes estímulos do mesmo modo que os mamíferos, no aspecto fisiológico e psicológico.

Para mensurar as consequências negativas das atividades humanas no bem-estar dos peixes, é necessário desenvolver protocolos de avaliação. Estes protocolos têm o objetivo de avaliar o estado dos peixes no aspecto físico, fisiológico e etológico. O ideal é que esses três aspectos sejam considerados em conjunto (Oliveira e Galhardo, 2007) para a elaboração dos protocolos.

2.6.1. Bem-estar de peixes na aquacultura

A aquacultura é um setor que necessita de crescentes pesquisas de âmbito etológico, por se tratar do setor que mais cresce mundialmente (Conte, 2004). Devido à sua importância

econômica, alguns aspectos relevantes para o bem-estar e conseqüentemente para a sobrevivência dos peixes são:

Manejo: A conservação do funcionamento biológico adequado e a resistência à doenças, depende de uma dieta que seja equilibrada e atenda às necessidades nutricionais dos peixes (Fletcher, 1997). Entretanto, o conhecimento sobre a formação de uma dieta equilibrada ainda é restrito, principalmente para espécies de recente cultivo na aquicultura (Schwedler; Johnson, 2000) como é o caso da maioria das espécies de peixes ornamentais. Durante o cultivo, às vezes é necessário impor o jejum para os peixes, com objetivo de realizar determinados manejos como transporte e reprodução, por exemplo. Segundo (FSBI, 2002) (Fisheries Society of the British Isles, ou Sociedade das Pescas das Ilhas Britânicas, sociedade internacional, não política e erudita, com sede no Reino Unido, que possui o objetivo de apoiar atividades científicas na área biológica e gestão de peixes através do patrocínio), ao ocorrer a privação alimentar prolongada, ocorre erosão da nadadeira dorsal em truta arco-íris, aumento da glicose plasmática em salmões e a perda de peso e condição corporal em varias outras espécies, sendo estas, conseqüências causadas pelo prolongado tempo de exposição ao fator estressante. Além disso, outros manejos que levam á manipulação física do animal como vacinação, implantação de chip para identificação, entre outros, que possam levar o animal ao estresse, necessitam de investigação continua e aplicação de métodos que minimizem estes impactos. O controle de exposição á agentes estressantes, assim como controle de agentes patogênicos e situações que possam ferir o animal, são os principais manejos relacionados ao controle de doenças na aquicultura (Schwedler ; Johnson, 2000; Conte, 2004), uma vez que o estresse causa anorexia, perda de score corporal e conseqüentemente, diminuição da imunidade dos peixes, causando sua debilidade e surgimento de doenças.

Transporte: Os aspectos mais críticos em relação ao transporte dos peixes são a captura dos animais e o controle dos fatores limnológicos durante o transporte, pelo fato dos animais serem transportados em altas densidades (Conte, 2004). Com o auxilio de técnicas apropriadas, como adicionar sal na água, jejum antes e durante o transporte e diminuição da temperatura da água do transporte, podem diminuir os aspectos negativos do transporte para os peixes (Schreck *et al.*, 1995) e conseqüentemente, o estresse sofrido pelos animais.

Acondicionamento: Os parâmetros limnológicos e os regimes de luminosidade são os fatores ambientais mais críticos à manutenção do equilíbrio dos peixes (Oliveira; Galhardo, 2007) e devem ter controle rigoroso no ambiente em que vivem, pois, qualquer desequilíbrio desses parâmetros, ocasiona estresse e até mesmo o óbito dos mesmos. Outro fator crítico no

acondicionamento de peixes é a densidade de estocagem. Densidades acima do ideal podem provocar a agressividade e brigas, além de estimular a competição e influenciar negativamente na qualidade da água. A falta de espaço para nadar é prejudicial á muitas espécies (Schwedler; Johnson, 2000). Segundo Ellis, *et. al.* (2002) trutas expostas a densidades altas em seu ambiente, apresentaram redução das taxas de conversão alimentar e crescimento, redução da condição física e propensos á erosão das nadadeiras dorsais. O mesmo efeito foi observado em Ciprinídeos por Feldlite e Milstein (2000).

2.6.2. Relação: Comportamento e bem-estar

O aspecto comportamental é um dos fatores observados em relação ao bem-estar animal, sendo caracterizado pelo fato dos animais poderem expressar todo o comportamento típico de sua espécie (Oliveira; Galhardo, 2007). Alguns comportamentos naturais podem não ser expressos quando os animais estão mantidos em condições artificiais, ou podem ser indicadores de mal-estar, como fuga a predadores.

A FSBI, (2002) faz várias recomendações em seu trabalho, sobre indicadores práticos de bem-estar em peixes. Segundos eles, devem ser observados as mudanças na coloração do corpo e dos olhos, alterações na taxa de movimentos operculares (que são ocasionados pelo aumento da necessidade de oxigênio, que levam a uma maior necessidade de irrigação das brânquias), mudanças das atividades de natação e de outros comportamentos (como atividade excessiva ou imobilidade, tentativas de fuga), anorexia, redução da taxa de crescimento, perda de escore corporal, inibição reprodutora, anomalias morfológicas (que podem ser indicativo de estresse durante a fase de desenvolvimento larval). Cicatrizes que indicam ocorrência de brigas no ambiente e surgimento de doenças são indícios também, de manutenção inadequada (FSBI, 2002).

Se tratando de peixes ornamentais, devem ser observadas as hierarquias sociais que se estabelecem no aquário e a composição dos grupos, para reduzir a agressividade dos animais dominantes que ocasiona estresse e subnutrição crônica em animais subordinados (FSBI, 2002). O enriquecimento ambiental pode ser uma estratégia eficaz no controle á agressividade e estresse no aquário, porém este é um assunto praticamente não abordado em trabalhos científicos.

Referências Bibliográficas

- ADAMS, S. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. [Formerly used by DOE/TIC for titles for which valid CODEN was not available. Now invalid] 92-DEC-15;(Country unknown/Code not available), v. 8, 1990.
- ALIKUNHI, K. H. **Synopsis of Biological Data on Common Carp *Cyprinus Carpio* (Linnaeus), 1758 (Asia and the Far East)**. Quebec: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1966.
- AMPARYUP, P. et al. Transcriptome analysis identifies immune-related genes and antimicrobial peptides in Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 99, p. 403-413, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.02.030>
- ANDERSON, DOUGLAS P. Immunological indicators: effects of environmental stress on immune protection and disease outbreaks. In: **Am. Fish. Soc. Symp.** 1990. p. 38-50. ANFRES, M. S. Near-blind shark is world's longest-lived vertebrate. **Nature**, 2016.
- Associação Brasileira Da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/>>. Acesso em: 15 Maio 2020.
- BARKER, S. B. et al. Effect of aquariums on electroconvulsive therapy patients. **Anthrozoös**, v. 16, n. 3, p. 229-240, 2003. DOI: <https://doi.org/10.2752/089279303786992071>
- BARTLEY, D. M. Responsible ornamental fisheries. **FAO aquaculture newsletter**, n. 24, p. 10-14, 2000. Disponível em: <https://www.fao.org/3/x4933e/x4933e10.htm>
- BARTON, B. A. Endocrine and metabolic responses of fish to stress. *International Association for Aquatic Animal Medicine*. 19, p. 41-55, 1988. BARTON, B. A. Stress in finfish: past, present and future-a historical perspective. **Fish stress and health in aquaculture**, p. 1-33, 1997.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of fish diseases*, v. 1, p. 3-26, 1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90019-G](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-G)
- BARTON, B. A. et al. Effect of prior acid exposure on physiological responses of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to acute handling stress. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 42, n. 4, p. 710-717, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1139/f85-09>
- BONIFACIO, C. T. Comportamento e bem-estar de peixe beta (*Betta splendens*) em aquário. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.
- BROOM, D. M.; FRASER, A. F. **Comportamento e bem-estar de animais domésticos**. Tradução de Carla Forte Maiolino Molento. 4. Ed. São Paulo: Manole, 2010.
- BRUCET, S. et al. Effects of temperature, salinity and fish in structuring the macroinvertebrate community in shallow lakes: implications for effects of climate change. **PloS one**, v. 7, n. 2, p. e30877, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030877>
- CALIXTO, E. S. et al. Aquaculture in Brazil and worldwide: overview and perspectives. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 5, n. 1, p. 098-107, 2020.

- CHALOKPUNRAT, P. How to breed Siamese fighting fish. **Aquaria**, v. 1, p. 57-59, 1982.
- CHROUSOS, G. P. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response: The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 851, n. 1, p. 311-335, 1998.
- CLEMENTS, H. et al. The effects of interacting with fish in aquariums on human health and well-being: A systematic review. **Plos one**, v. 14, n. 7, p. e0220524, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220524>
- COFFIN, B. Dog years. **Risk Management**, v. 57, n. 2, p. 6-7, 2010.
- CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, n. 3-4, p. 205-223, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.003>
- DA SILVEIRA, U. S. et al. Fatores estressantes de peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 1001-1017, 2009.
- DE ARAÚJO, J. G. et al. Cadeia comercial de peixes ornamentais do Rio Xingu, Pará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, n. 2, p. 297-307, 2018. DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n2p297>
- DE CASTILHOS G. N.; DE OLIVEIRA, E. C. Fish welfare: the state of science by scientometrical analysis. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 38, n. 3, p. 253-261, 2016.
- DE FARIA, C. F. A. et al. Caracterização do mercado de aquicultura ornamental e aquariofilia no rio grande do norte. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 203-215, 2019. DOI: <https://doi.org/10.19177/rgsa.v8e12019203-215>
- DONALDSON, E. M. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. **Stress and fish**, p. 11-47, 1981.
- DUNCAN, I.J.H. Animal welfare defined in terms of feelings. **Acta Agriculturae Scandinavica Section A, Animal Science**, v. 2, p. 29-35, 1996.
- ELIZ, J. S. Importância do estilo de vida na saúde cardíaca de idosos. 2012.
- ELLIS, T. et al. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. **Journal of fish biology**, v. 61, n. 3, p. 493-531, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00893.x>
- ELLIS, Tim *et al.* Cortisol and finfish welfare. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 163-188, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9568-y>
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries global information System (FIGIS). 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/query/en>. Acesso em: 23 maio 2020.
- FARIA, P.M.C.; et al. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens*. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.30, p.134-149, 2006.

FELDLITE, M.; MILSTEIN, A. Effect of density on survival and growth of cyprinid fish fry. **Aquaculture International**, v. 7, n. 6, p. 399-411, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1009282805391>

FERREIRA, P. de M. F. et al. EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A TAXA METABÓLICA DA CARPA-COMUM (*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2009. DOI: <https://doi.org/10.18817/repesca.v4i2.106>

FRASER, D. A. et al. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. **Animal Welfare**, v.6, p.187-206, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0962728600019795>

FSBI Fish Welfare (Briefing Paper2). Fisheries Society of the British Isles. Cambridge: Granta Information Systems, 2002.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. F. Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes. **Revista de Etologia**, p. 51-61, 2006.

GOLDSTEIN, S. R. Observations on the establishment of a stable community of adult male and female Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Animal Behaviour**, v. 23, p. 179-185, 1975. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(75\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0003-3472(75)90063-9)

GOMELSKY, B. et al. Color inheritance in ornamental koi carp (*Cyprinus carpio* L.) inferred from color variability in normal and gynogenetic progenies. **Isr J Aquac-Bamidgeh**, v. 48, p. 219-230, 1996^a. DOI: <https://doi.org/10.5555/19970105568>

GOMELSKY, B.; et al. Inheritance of long fins in ornamental koi carp. **North American Journal of Aquaculture**, v. 73, n. 1, p. 49-52, 2011^b. DOI: <https://doi.org/10.1080/15222055.2011.544942>

GORDON, M.; AXELROD, H. R. **Siamese Fighting Fish.(Expanded Version.-By... Myron Gordon and Herbert R. Axelrod.)**. TFH Publications, 1968.

GRAEFF, A. Viabilidade econômica do cultivo de carpa comum (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) em monocultivo em densidades diferentes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 3, p. 678-684, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000300026>

GRAEFF, A.; PRUNER, E. N. Efeito da densidade de estocagem na produtividade final de carpas, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (var. *Specularis*) na fase de engorda. Período-inverno. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 958-967, 1999.

HANIFFA, M. A. et al. PBreeding behaviour and embryonic development of koi carp (*Cyprinus carpio*). **TAIWANIA-TAIPEI-**, v. 52, n. 1, p. 93, 2007.

HANKE, I. et al. Chronic stress under commercial aquaculture conditions: Scale cortisol to identify and quantify potential stressors in milkfish (*Chanos chanos*) mariculture. **Aquaculture**, p. 735352, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735352>

HASTINGS, P. A. Female choice and male reproductive success in the angel blenny, *Coralliozetus angelica* (Teleostei: Chaenopsidae). **Animal Behaviour**, v. 36, n. 1, p. 115-124, 1988. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(88\)80254-9](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80254-9)

HUI, T. H.; NG, P. KL. The fighting fishes (Teleostei: Osphronemidae: genus Betta) of Singapore, Malaysia and Brunei. **The Raffles Bulletin of Zoology**, n. 13, p. 43-99, 2005.

HUNTINGFORD, F. A. et al. Current issues in fish welfare. **Journal of fish biology**, v. 68, n. 2, p. 332-372, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x>

IGARASHI, M. A. et al. Potencial econômico do agronegócio da produção de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, n. 42, p. 293-313, 2016.

JAROENSUTASINEE, M.; JAROENSUTANSINEE, K. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. **Journal of Fish Biology**, v. 58, n. 5, p. 1311-1319, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb02288.x>

JAROENSUTASINEE, M.; JAROENSUTANSINEE, K. Type of intruder and reproductive phase influence male territorial defence in wild-caught Siamese fighting fish. **Behavioural processes**, v. 64, n. 1, p. 23-29, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(03\)00106-2](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(03)00106-2)

JIA, R. et al. Stress and immune responses in skin of turbot (*Scophthalmus maximus*) under different stocking densities. **Fish & shellfish immunology**, v. 55, p. 131-139, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.032>

KOTTELAT, M.; FREYHOF, J. **Handbook of European freshwater fishes**. Publications Kottelat, 2007.

KUROKI, T. et al. latest manual to nishikigoi. 1985.

LEVINSON, B. M. The Aquarium as a therapeutic aid. **Psychological reports**, v. 45, n. 2, p. 577-578, 1979. DOI: <https://doi.org/10.2466/pr0.1979.45.2.577>

LONG, L. et al. Effects of stocking density on growth, stress, and immune responses of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in a recirculating aquaculture system. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 219, p. 25-34, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.002>

LUCHIARI, A. C. How Betta splendens finds its way. **Behavioural processes**, v. 124, p. 47-51, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2015.11.021>

MACÊDO, H. R. et al. Estudo de parâmetros físico-químicos para a criação de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em água doce. In: **II Congresso De Pesquisa E Inovação Da Rede Norte Nordeste De Educação Tecnológica. João Pessoa. Anais II CONNEPI. João Pessoa. 2007.**

MAGALHAES, A. L. B.; JACOBI, C. M. Invasion risks posed by ornamental freshwater fish trade to southeastern Brazilian rivers. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 2, p. 433-441, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013005000003>

MÁRQUEZ, J. E. Q. et al. Efeito da densidade de estocagem nos parâmetros zootécnicos da criação de camarões *Litopenaeus schmitti*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, n. 2, p. 145-153, 2018.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F. Adrenergic responses to stress in fish. **Stress and fish**, 1981.

MENDEZ-SANCHEZ, J. F.; BURGGREN, W. W. Very high blood oxygen affinity and large Bohr shift differentiates the air-breathing siamese fighting fish (*Betta splendens*) from the closely related anabantoid the blue gourami (*Trichopodus trichopterus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 229, p. 45-51, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.11.014>

Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/arquivos/arquivos-legislacao/in-56-de-2008.pdf>>. Acesso em: 21 Fev.2018.

MONTERO, D. et al. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 1, p. 53-60, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1007719928905>

MOORE M. Chronicle, Clinch. **Science for the Conservation of the Clinch Dace**. Post navigation. 2015.

OLIVEIRA, R. F.; GALHARDO, L. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 77-86, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000009>

OLIVEIRA, R. F. et al. Know thine enemy: fighting fish gather information from observing conspecific interactions. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1401, p. 1045-1049, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0397>

OLIVIER, K. *et al.* The ornamental fish market. **Globefish Research Programme (FAO)**, 2001.

PASNIK, D. J.,EVANS, J. J.&KLESIUS, K. H. **Stress in fish**. In *Fundamentals of Ornamental Fish Health* (Roberts, H. E., ed.), pp. 33–38. Chichester: Wiley-Blackwell.2010.

PEDRAZZANI, A. S. et al. Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da Aquacultura**, v. 102, p. 24-29, 2007.

PETITJEAN, Q. et al. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes. **Science of the Total Environment**, v. 684, p. 371-380, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.357>

PICKERING, A. D. et al. Stress and fish.(Based on papers presented at the Norwich Symposium, September 9-12, 1980). 1981.

PLOEG, A. The volume of the ornamental fish trade. In *International Transport of Live Fish in the Ornamental Aquatic Industry: OFI Educational Publication 7* (Ploeg, A., Fossa, S. A., Bassleer, G., Willis, S. & Chuan, L. L., eds), pp. 48–61. Mont foort: Ornamental Fish International.2007.

PROCARIONE, L. S. et al. Effects of high rearing densities and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout. **North American Journal of Aquaculture**, v. 61, n. 2, p. 91-96, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(1999\)061<0091:EOHRDA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(1999)061<0091:EOHRDA>2.0.CO;2)

- RAHAMAN, S. M. B. et al. Induced breeding, embryonic and larval development of Koi carp (*Cyprinus carpio*) in Khulna, Bangladesh. **Mesopotamian Journal of Marine Science**, v. 27, n. 1, p. 1-14, 2012. DOI: <https://doi.org/10.58629/mjms.v27i1.167>
- REGAN, T. et al. Jaulas vazias: encarando o desafio dos direitos dos animais. **Fundamento**, v. 1, n. 3, 2012.
- RIBEIRO, F.A. S. et al. Comércio brasileiro de peixes ornamentais. **Panorama da Aquicultura**, v. 18, n. 110, p. 54-59, 2008.
- ROSE, J. D., et al. Can fish really feel pain? **Fish and Fisheries** 15, 97–133. 2014.
- SALAS-LEITON, E. et al. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. **Fish & shellfish immunology**, v. 28, n. 2, p. 296-302, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.006>
- SALES, A. D. et al. Fotoperíodo e frequência alimentar na larvicultura do peixe beta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 4, p. 1062-1068, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8746>
- SCHRECK, C. B. et al. Conditioning improves performance of juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, to transportation stress. **Aquaculture**, v. 135, n. 1-3, p. 99-110, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01018-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01018-1)
- SCHRECK, C. B. Stress and fish reproduction: the roles of allostasis and hormesis. **General and comparative endocrinology**, v. 165, n. 3, p. 549-556, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.07.004>
- SCHRECK, C.B. et al. Behavioral responses to stress. In: Iwana, G.K., Pickering, A.D. Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (eds) **Fish Stress and Health in Aquaculture**. p.145-170. Society for Experimental Biology, Seminar Series 62, Cambridge: Cambridge University Press, 1997.
- SCHWEDLER, T.E.; JOHNSON, S.K. Responsible care and health maintenance of fish in commercial aquaculture. **Animal Welfare Information Center Bulletin**, Winter, v.10, p.3-4. 2000. DOI: <https://doi.org/10.5555/20073002319>
- SEGANTIN, B. GO; MAIA, E. M. F. L. Estresse vivenciado pelos profissionais que trabalham na saúde. **Monografia. Conclusão de Curso de Especialização em Saúde da Família**, 2007.
- SHETTLEWORTH, S. J. Animal cognition and animal behaviour. **Animal behaviour**, v. 61, p. 277–286, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbe.2000.1606>
- SIMON, Y. et al. A behavioural sensor for fish stress. **Aquacultural Engineering**, v. 77, p. 107-111, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.04.001>
- SNEDDON, L. U. Pain perception in fish: indicator and end points. **ILAR journal**, v. 50, n. 4, p. 338-342, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.338>
- SNEKSER, J. L. et al. Social partner preferences of male and female fighting fish (*Betta splendens*). **Behavioural processes**, v. 72, n. 1, p. 38-41, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.11.014>

- SOLGAARD, H.S; YANG, Y. Consumers' perception of farmed fish and willingness stopay for fish welfare. **British Food Journal**, v. 113, n. 8, p. 997-1010, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1108/00070701111153751>
- SON, J. et al. D-Aquarium: A Digital Aquarium to Reduce Perceived Waiting Time at Children's Hospital. In: **The 31st Annual ACM Symposium on User Interface Software and Technology Adjunct Proceedings**. p. 108-110, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1145/3266037.3266117>
- SRIKRISHNAN, R. et al. Evaluation of growth performance and breeding habits of fighting fish (*Betta splendens*) under 3 diets and shelters. **Survey in Fisheries Sciences**, v. 3, n. 2, p. 50-65, 2017.
- STEVENS, C. H. et al. Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture?. **Journal of fish biology**, v. 91, n. 2, p. 409-428, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfb.13377>
- SUN, X. et al. The effect of dietary pigments on the coloration of Japanese ornamental carp (koi, *Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 342, p. 62-68, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.019>
- TANIGUCHI, N. et al. Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp. **Aquaculture**, v. 57, n. 1-4, p. 321-328, 1986. DOI: [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90210-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90210-3)
- TURNBULL, J. et al. Stocking density and welfare of cage farmed Atlantic salmon: application of a multivariate analysis. **Aquaculture**, v. 243, n. 1-4, p. 121-132, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.09.022>
- WANG, C.; LI, S. Phylogenetic relationships of ornamental (koi) carp, Oujiang color carp and Long-fin carp revealed by mitochondrial DNA COII gene sequences and RAPD analysis. **Aquaculture**, v. 231, n. 1-4, p. 83-91, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.10.040>
- WEDEMEYER, Gary A. Stress and acclimation. **Methods for fish biology**, p. 415-488, 1990.
- WINEMILLER, K. O.; LESLIE, M. A. Fish assemblages across a complex, tropical freshwater/marine ecotone. **Environmental Biology of fishes**, v. 34, n. 1, p. 29-50, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00004783>
- WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **WORLD AQUACULTURE-BATON ROUGE-**, v. 26, p. 80-80, 1995.
- YARAHMADI, P. *et al.* Increased stocking density causes changes in expression of selected stress-and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & shellfish immunology**, v. 48, p. 43-53, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.11.007>
- YOKOYAMA, A.; MIKI, W. Composition and presumed biosynthetic pathway of carotenoids in the astaxanthin-producing bacterium *Agrobacterium aurantiacum*. **FEMS microbiology letters**, v. 128, n. 2, p. 139-144, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07513.x>

ZUANON, J. A. S. et al. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 1, p. 165-174, 2011.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar se os volumes de água nos quais as espécies betas (*Bettas splendens*) e Carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*) são normalmente acondicionadas para venda, afetam o bem-estar dos animais e quais seriam as principais alterações fisiológicas.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar se o tamanho dos aquários e volumes de água utilizados normalmente no comércio de aquarismo para as espécies Bettas e Carpas estão adequadas;
- b) Determinar a melhor biomassa de um aquário para as duas espécies estudadas;
- c) Avaliação do bem-estar dos animais acondicionados em diferentes volumes de água, através de análises sanguíneas, bioquímica, e histológica de brânquias e fígado.

CAPÍTULO 1: EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NO BEM-ESTAR DE CARPAS ORNAMENTAIS (*Cyprinus carpio var koi*)

Resumo

A espécie de peixe ornamental carpa colorida (*Cyprinus carpio var koi*) possui importância econômica para a aquicultura ornamental. A densidade de estocagem em que esses animais são criados e mantidos em lojas comerciais foram destacadas como uma área de preocupação específica com o bem-estar. Neste trabalho avaliou se carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*), acondicionadas nos volumes de 05, 10, 20, 30, 45 e 90 L/animal durante 30 dias apresentavam alteração no seu bem-estar. Para isso, foram avaliados parâmetros bioquímicos, hematológicos, de qualidade de água e de desempenho, além de histologia de brânquias e fígado e do comportamento dos animais. Quanto menor o volume maior foi a ocorrência de brigas e alterações dos parâmetros de água. Em relação aos parâmetros sanguíneos os maiores valores foram entre 50 e 70 L/animal. A maioria dos parâmetros bioquímicos tiveram seus maiores valores para as densidades de 20 e 90 L/animal. A histologia mostrou degeneração glicolítica em todos os tratamentos, sem lesões hepáticas. Recomenda-se acondicionar carpas coloridas de aproximadamente 15 cm, em densidades entre 30 e 45 L/animal.

Palavras-chave: estresse; aquicultura ornamental; peixe.

Abstract

The species of ornamental colored carp fish (*Cyprinus carpio var koi*) has economic importance for ornamental aquaculture. The stocking density at which these animals are raised and kept in commercial stores has been highlighted as an area of specific concern for well-being. In this work, it was evaluated whether colored carp (*Cyprinus carpio var koi*), stored in volumes of 05, 10, 20, 30, 45 and 90 L / animal for 30 days showed changes in their well-being. For this, biochemical, hematological, water quality and performance parameters were evaluated, as well as histology of gills and liver and animal behavior. The smaller the volume, the greater the occurrence of fights and changes in water parameters. Regarding blood parameters, the highest values were between 50 and 70 L / animal. Most biochemical parameters had their highest values for densities of 20 and 90 L / animal. Histology showed glycolytic degeneration in all treatments, without liver damage. It is recommended to pack colored carp of approximately 15 cm, in densities between 30 and 45 L / animal.

Keywords: stress; ornamental aquaculture; fish.

4. Introdução

Nos últimos anos, o bem-estar dos peixes tem sido um tópico bem debatido. Muitas associações de direitos dos animais manifestaram publicamente suas preocupações com o bem-estar dos peixes e com isso, a preocupação dos consumidores e governo tem aumentado sobre o assunto (Lymbery, 1992; Council, 1996; Lymbery, 2002; Van De Nieuwegiessen, 2008).

As densidades de estocagem usadas na aquicultura comercial foram destacadas como uma área de preocupação específica com o bem-estar. Os criadores desejam criar peixes em altas densidades, em parte porque operar em densidades de estocagem mais altas pode reduzir os custos de produção (Van De Nieuwegiessen, 2008), pois, utilizar o espaço de cultivo com baixa densidade pode tornar a criação pouco eficiente (Junior, *et. al.*, 2018).

A alta densidade de estocagem pode provocar estresse crônico nos peixes o que desencadeia uma série de reações fisiológicas que, á longo prazo, pode afetar o comportamento e o desempenho dos animais (Carbonara, *et. al.*, 2019).

A densidade de estocagem a ser utilizada irá depender de diversos fatores, tais como espécie cultivada, fase de desenvolvimento, condições de cultivo, nutrição e manejo. Por esse motivo, tem sido difícil estabelecer a densidade de estocagem ideal para diversas espécies (Luz; Zaniboni Filho, 2002).

Apesar desta crescente preocupação com o efeito da densidade de estocagem no bem-estar dos peixes, existem poucos trabalhos científicos com enfoque em peixes ornamentais, principalmente envolvendo sua manutenção em lojas de aquarismo.

Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da densidade de estocagem sobre parâmetros bioquímicos, hematológicos e comportamentais, de carpas coloridas (*Cyprinus carpio var koi*) normalmente acondicionadas para venda nas lojas, e quais seriam as principais consequências para o bem-estar desses animais.

5. Material e métodos

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animais (CEUA) de acordo com o protocolo de nº 353/2018.

5.1 Instalações e delineamento experimental

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Aquicultura (LAQUA) no setor de Peixes Ornamentais, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte - MG - Brasil - e teve duração de 30 dias.

Para este estudo, foram utilizadas carpas coloridas (*Cyprinus carpio var. koi*) de aproximadamente 15 cm (\pm 01 cm), oriundos de um produtor comercial do Município de

Miradouro – MG. Antes de iniciar o estudo, os animais ficaram por um período de 20 dias em quarentena, acondicionados em sistema de recirculação com temperatura média de 25° C (\pm 0,5°C) e alimentadas de forma *ad libitum* com a mesma ração comercial que seria fornecida ao decorrer do estudo.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos: um peixe para cada 5; 10; 20; 30; 45 e 90L, todos em quadruplicata, utilizando caixas plásticas de 200L (44x53x86). Todos os tratamentos foram em ambientes estáticos, com temperatura ambiente e suplementados com aeração.

Em relação ao manejo dos animais durante o estudo, estes foram alimentados três vezes ao dia (09:00, 12:00 e 17:00 horas) com ração comercial Poytara-carpa dia-a-dia® específica para espécie, contendo 30% de PB. A taxa de arraçoamento foi de 3% do peso vivo e a cada dois dias foi feita troca parcial de água na proporção de 20%.

5.2 Análise de desempenho

A análise de desempenho foi realizada através da mensuração do peso e comprimento total no início do experimento e a cada 10 dias, totalizando quatro medições.

5.3 Coleta de Material

No 30° dia do estudo os peixes de todos os tratamentos foram pesados e medidos para avaliação do desempenho, e tiveram o sangue coletado, através de punção caudal, para isso, os peixes ficaram em jejum por um período de 16h.

O sangue foi armazenado em microtubos de plástico para posterior análises. Após a coleta de sangue os animais foram abatidos por fissão medular para coleta de brânquias e fígado para análises histológicas.

5.4 Análise sanguínea

Com o sangue coletado, foram realizadas as seguintes análises sanguíneas:

5.4.1 Eritrócitos

As análises foram realizadas através da utilização de sangue total, na proporção de dois μ l de sangue para dois ml de formol citrato. Os mesmos foram coletados através de uma pipeta automática e armazenados em microtubos devidamente identificados com o número do animal e tratamento.

Posteriormente, o sangue armazenado nos microtubos foi analisado da seguinte forma: primeiro ocorria à homogeneização do sangue e em seguida a coleta do mesmo por uma pipeta automática e o preenchimento dos dois campos da Câmara de Neubauer.

Em seguida, uma lamínula foi utilizada para fixar o conteúdo na câmara de Neubauer e posteriormente levado para o microscópio e realizado a contagem das células com a objetiva de 40. A contagem foi realizada em duplicata e a diferença entre as duas contagens não ultrapasso a 20%, caso contrário, ocorria uma repetição da análise.

Os esfregaços sanguíneos foram realizados após a coleta, corados com panótico e utilizados para realização da contagem diferencial de leucócitos e avaliação das alterações morfológicas.

5.4.2 Hematócrito e proteína total

Para a determinação desse parâmetro, o sangue homogeneizado, era coletado em um microcapilar e preenchido com $\frac{2}{3}$ de seu volume e posteriormente vedado em uma das extremidades com massa de modelar.

Após a vedação, o capilar era levado para uma microcentrífuga, apropriada para determinação de hematócrito e a centrifugação ocorreu por cinco minutos a 12.000 rpm. Após esse tempo os capilares eram retirados da centrífuga e era realizada a leitura do mesmo, através da utilização de uma cartela de aferição dos valores do hematócrito.

O resultado foi expresso em porcentagem sobre a quantidade de hematócrito em relação ao sangue total. Para análise de proteína total, após a leitura do hematócrito, o mesmo capilar foi rompido e apenas o plasma foi utilizado para análise utilizando um refratômetro.

5.4.3 Hemoglobina

Para essa análise foram utilizado 20 μ L de sangue homogeneizado, diluído em 2,5 ml de Drabkin e armazenados em tubos Falcon vedados. O sangue com Drabkin foi homogeneizado, centrifugado e realizado a leitura em um espectrofotômetro em 540 nm, contra a solução de Drabkin com ausência do sangue (branco).

A leitura do espectrofotômetro foi realizada em absorbância, sendo necessário a multiplicação do resultado pelo fator de conversão, no caso do reagente utilizado de 29.35, para obtenção do resultado final da concentração de hemoglobina.

5.5 Avaliações histológicas de brônquias e fígado

Após serem anestesiados e terem o sangue coletados, os animais foram necropsiados, para retirada de fígado, e parte das brônquias para análise histológica. No fígado foram analisadas e quantificadas a existência de lesões e degeneração glicogênica/lipídica.

As amostras foram armazenadas em tubos falcon contendo solução de formal a 10% e posteriormente foram conduzidas para o Laboratório de Análises Histológico no Departamento de Clínica e Cirurgia da Escola de Veterinária-UFMG.

De maneira resumida, foi realizado o processamento histológico de rotina envolvendo os processos de desidratação, diafanização, inclusão das amostras em parafina, microtomia 5 -7 μm , montagem e a coloração dos cortes em lâmina de vidro por meio da técnica hematoxilina-eosina, possibilitando a diferenciação dos componentes celulares.

5.6 Análises bioquímicas

Parte do sangue coletado foi encaminhado para o departamento de Clínica e Cirurgia da Escola de Veterinária – UFMG. O sangue foi utilizado para obtenção do soro e posterior análise bioquímica, no aparelho Cobas, dos seguintes analitos: ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FOA), globulinas, colesterol, proteína, albumina e triglicerídeos e amilase. O método utilizado foi de absorvância com o equipamento bioquímico semiautomático (Roche Cobas Mira Plus®) empregando protocolos padrões. Foram utilizados para análise de creatinina reagente da marca Kovalent e para as demais análises, reagente da marca Biotécnica. A análise de glicose sanguínea foi realizada através de glicosímetro digital (Accucheck).

Tabela 1. Método analítico utilizado para a mensuração de analitos bioquímicos séricos de carpas.

Analito	Método analítico
Alanina aminotransferase	Cinético UV
Albumina	Verde de bromocresol
Amilase	Cinético
Aspartato aminotransferase	Cinético UV
Colesterol	Enzimático colorimétrico
Creatinina	Picrato alcalino
Fosfatase alcalina	ρ -nitrofenilfosfato Cinético
Gama glutamil transferase	Cinético
Glicose	Enzimático colorimétrico
Proteína total	Colorimétrico
Triglicerídeos	Enzimático colorimétrico
Ureia	Enzimático UV

Fonte: Biotécnica (2019); Biosys + Kovalent (2019)

5.7 Análises dos parâmetros limnológicos

Durante os 30 dias do estudo a temperatura e oxigênio dissolvido foram mensurados três vezes ao dia (07:00, 12:00 e 17:00 horas), antes da alimentação, utilizando oxímetro digital (Lutron DO-5519®). As análises de pH foram realizadas uma vez por semana através do medidor de pH digital (Acehe® modelo n° 32817193201).

A análise de amônia e alcalinidade foram realizadas duas vezes por semana, que consistiu em:

Amônia

Em um tubo identificado, colocou-se 05 ml de água destilada que foi utilizada como branco. Posteriormente, foi adicionado 01 ml de solução tampão (Buffer) em tubos previamente identificados contendo 05 ml de cada amostra e realizada a homogeneização em seguida. Após a homogeneização, foi adicionado 01 ml de reagente A (Fenol e Nitroprussiato) a cada um dos tubos e homogeneizado posteriormente.

Em seguida, adicionou-se 01 ml de reagente B (solução alcalina) a cada tubo de ensaio e em seguida homogeneizado e deixado descansando por 2 a 6 horas, mantendo os tubos em local ao abrigo de luz. Ao final do prazo, as amostras foram levadas ao espectrofotômetro para leitura de transmitância do branco e depois das amostras no comprimento de onda 630 nm. Para finalizar, as leituras obtidas foram inseridas na curva padrão do Excel para obtenção do resultado.

Alcalinidade

As amostras da água onde os peixes estavam acondicionados foram coletadas em tubos previamente identificados e em seguida foi realizada a ambientação da bureta com a solução de ácido sulfúrico 0,05 N.

Em sequência a bureta foi preenchida com a solução de ácido sulfúrico 0,05 N até o seu volume total. Armazenou-se em um erlenmeyer 50 ml de amostra de água e posteriormente foi adicionado, com auxílio de uma pipeta de pasteur, duas gotas do indicador misto na amostra e em seguida foi realizada a titulação dessa solução com o ácido da bureta.

A titulação foi interrompida quando ocorreu a viragem da cor azul para o amarelo e para obter o resultado da alcalinidade em mg de CaCO₃/L o valor de ácido sulfúrico foi multiplicado por 50.

5.8 Comportamento

Ao longo do experimento foi realizado a observação do comportamento dos animais diariamente no período das 07:00 às 18:00, através do método de Scan (varredura) com intervalo de 20 minutos entre as observações totalizando 30 observações por dia. Essa avaliação consiste em observar por 5 minutos todas as caixas anotando o comportamento de todos os animais.

As observações foram realizadas em total silêncio e com uma distância mínima para evitar a percepção da presença do observador pelos peixes e conseqüentemente ocorrendo à mudança de comportamento.

A avaliação do comportamento tem por finalidade verificar se existe diferença do comportamento dos animais como letargia, hiperatividade, brigas, dominância, perda de apetite ou voracidade ao alimentarem decorrente dos tratamentos e comparar a intensidade apresentada entre eles.

5.9 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas no tempo (semanas). Foram utilizados testes de predisposições de normalidade, independência e homogeneidade de variâncias.

Para avaliar o efeito da densidade sobre as variáveis de interesse foram realizadas análise de comparação de médias e regressão. Para isso foi utilizado o software R (R Core Team, 2019) e o midrangeMCP (Ben Deivide and Daniel Furtado, 2020) com nível de significância de 5%.

6 Resultados

Durante os 30 dias de estudo foram observados mortalidade nos tratamentos com 05 e 10 L/A com 17% e 08% de mortalidade, respectivamente. Foi observado também que esses tratamentos apresentaram comportamento agressivo, ocorrendo brigas durante todo o período do estudo. As brigas resultavam em lesões (Figura 4) e dependendo da lesão, levavam ao óbito.

Após o término do estudo, uma amostragem aleatória dos animais desses dois tratamentos que apresentavam feridas, como também dos demais tratamentos, apresentando ou não feridas foi coletada e enviada ao laboratório de sanidade de peixes (Aquacen), no Departamento de Medicina Preventiva da EV – UFMG para realização de análise de sanidade dos animais (Anexo I). As análises de sanidade mostraram que nenhum dos peixes apresentava contaminação por patógeno, reforçando assim, que as lesões e mortes foram mesmo decorrentes das brigas.

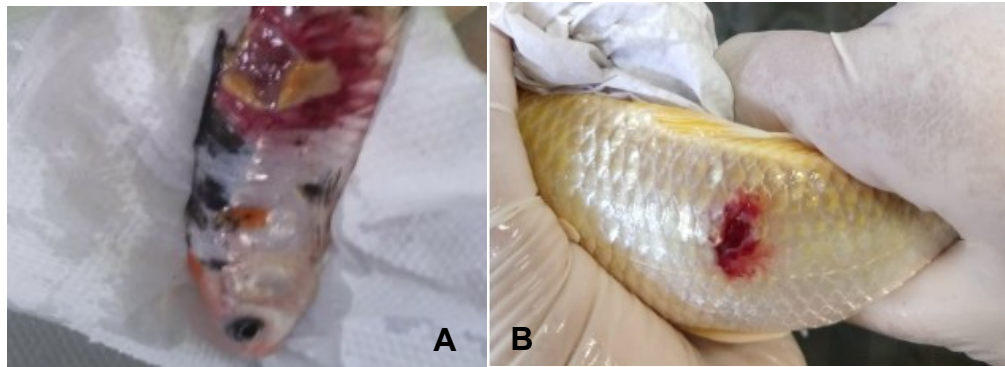


Figura 4. Lesões nas carpas decorrente de brigas. A) Tratamento 05 L. B) Tratamento 10 L. Fonte: Arquivo pessoal.

6.1 Parâmetro Limnológicos

Em relação à temperatura, a média dos tratamentos foi de 25,03°C ($\pm 1,5$) ao longo dos 30 dias do estudo e houve diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) sendo que as temperaturas foram maiores nos tratamentos de 05 L e menor nos tratamentos de 30, 45 90 L (Tabela 2).

O oxigênio também apresentou diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos sendo os tratamentos de 45 e 90 L apresentaram os maiores níveis de oxigênio dissolvido e os tratamentos de 05, 10 e 20 L os menores níveis.

Os parâmetros de amônia, alcalinidade e dureza apresentaram diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) sendo os valores dos tratamentos 05 e 10 L diferentes dos demais tratamentos e os mesmos possuindo os maiores valores. O pH não apresentou diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 02. Resultado dos parâmetros de qualidade de água dos tratamentos com carpas coloridas, acondicionadas em diferentes densidades de estocagem.

Variáveis	Tratamento 05(L/A)	Tratamento 10(L/A)	Tratamento 20(L/A)	Tratamento 30(L/A)	Tratamento 45(L/A)	Tratamento 90(L/A)
Temperatura (°C)	25.97 ^a	25.81 ^b	25.79 ^b	24.58 ^c	23.93 ^c	24.11 ^c
Oxigênio (mg/L)	4.2 ^c	4.4 ^c	4.5 ^c	5.3 ^b	6.2 ^a	6.1 ^a
Amônia (mg/L)	0.47 ^a	0.44 ^a	0.14 ^b	0.12 ^b	0.10 ^b	0.09 ^b
pH	07.4 ^a	07.4 ^a	07.2 ^a	07.2 ^a	07.2 ^a	06.9 ^a
Alcalinidade (mg/L)	91.50 ^a	89.75 ^a	78.00 ^b	78.75 ^b	76.00 ^b	75.50 ^b

Dureza (mg/L)	02.04 ^a	01.94 ^a	01.03 ^b	01.02 ^b	01.00 ^b	0.97 ^b
------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	-------------------

6.2 Parâmetros sanguíneos

Ao final de 30 dias de estudo, verificou-se que o volume dos tratamentos nos quais as carpas foram acondicionadas, não influenciou ($P>0,05$) no hematócrito. Já os parâmetros sanguíneos hemoglobina, eritrócito e proteína total, sofreram influência ($P<0,05$) dos tratamentos testados (Figura 5).

Os resultados das análises de eritrócitos tiveram comportamento linear, sendo que, quanto maior o volume de acondicionamento das carpas, maior os seus valores. Já os valores de hemoglobina e proteína total apresentaram comportamento quadrático, aumentando à medida que se aumentava o volume de água. Os valores de hemoglobina apresentando o maior valor de 8,52 g/dL no volume de 70,3 peixes/L e os de proteína total 6,38 g/dL no volume de 67,5.

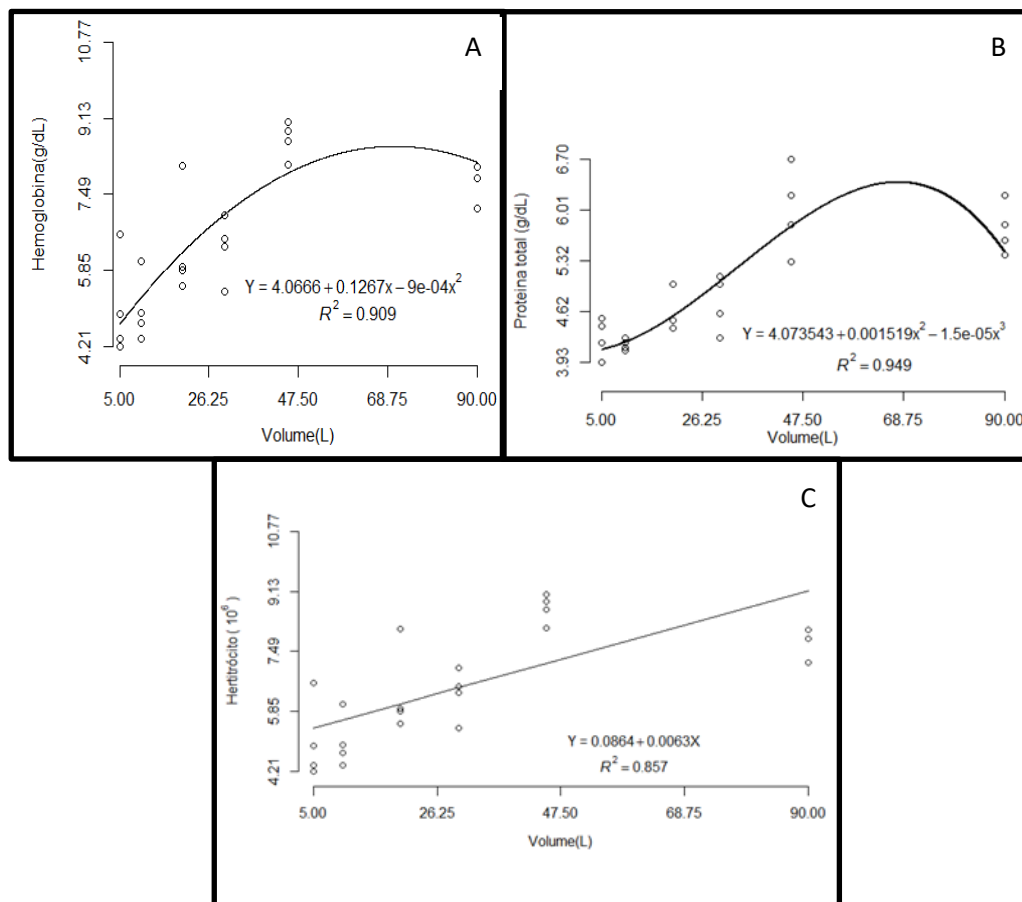


Figura 5. Resultados dos parâmetros sanguíneos. A) hemoglobina. B) Proteína Total e C) eritrócito de carpas coloridas acondicionadas em diferentes volumes de água.

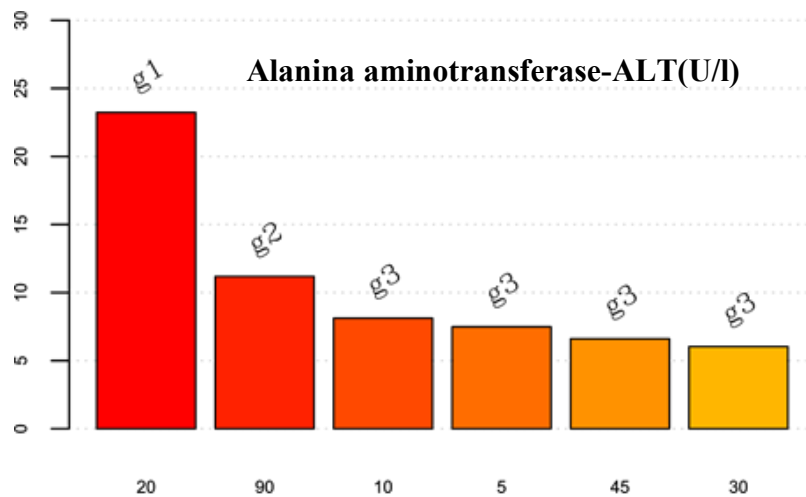
6.3 Parâmetros bioquímicos

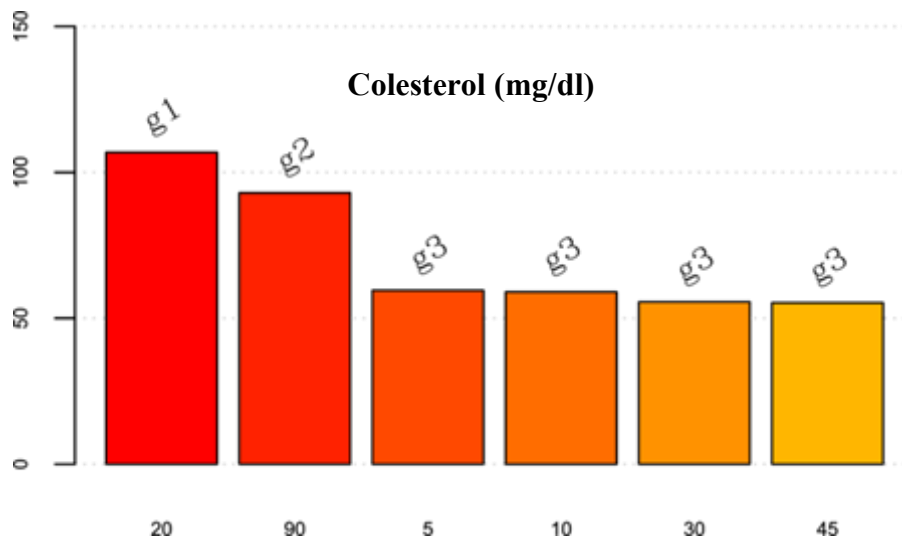
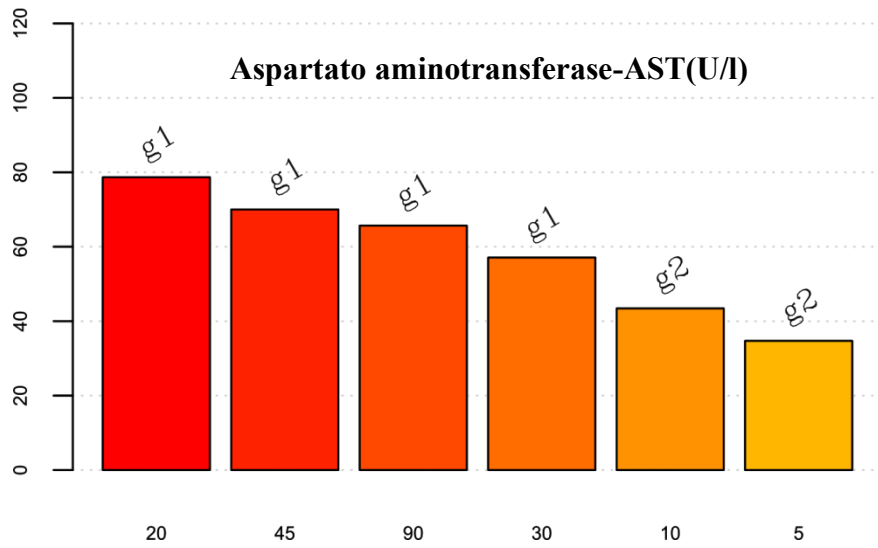
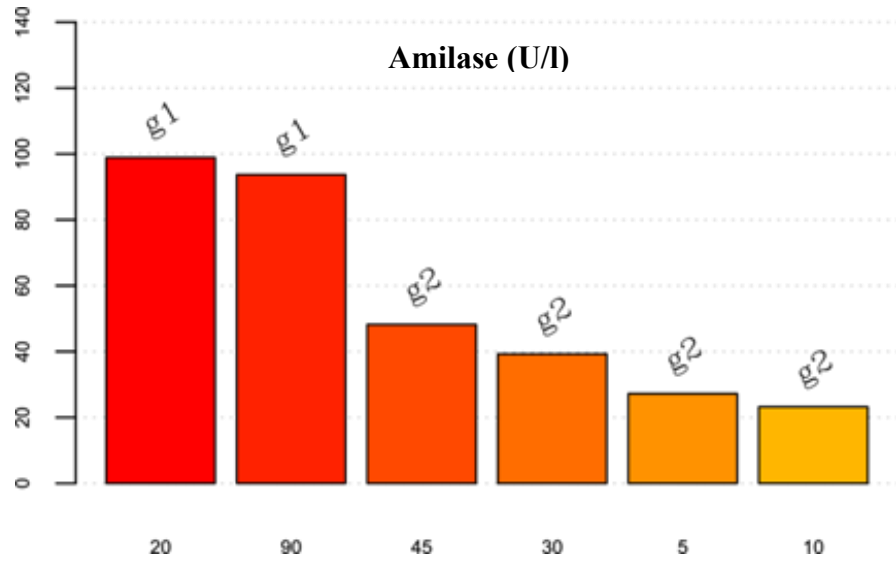
Nos resultados das análises dos parâmetros bioquímicos (Figura 6) observou-se que os volumes de acondicionamento nos quais as carpas foram submetidas, apenas a albumina não foi influenciada ($P>0,05$). Já os resultados dos parâmetros glicose, ALT, AST, amilase, colesterol, creatinina, FOA, globulina, triglicerídeos e ureia foram influenciados ($P<0,05$) pelos tratamentos testados.

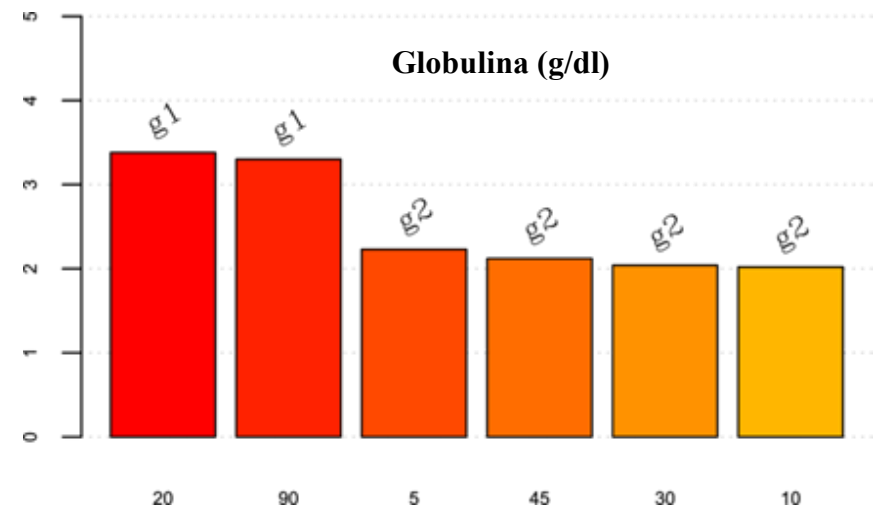
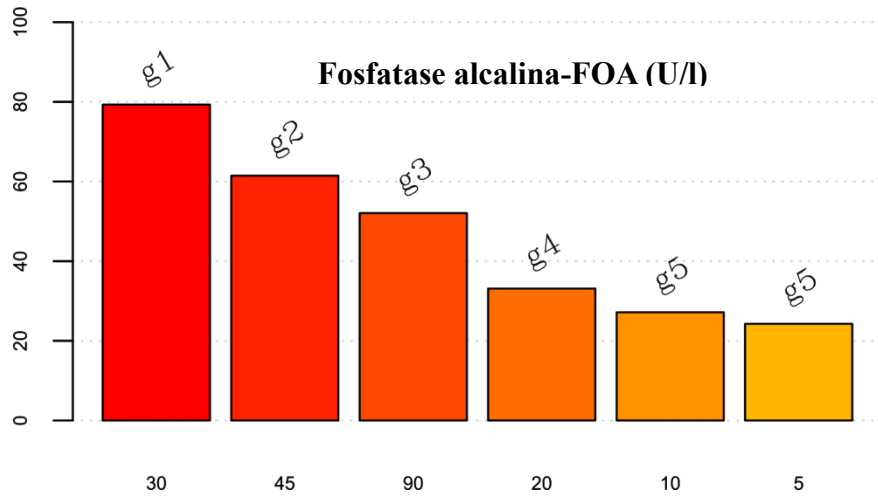
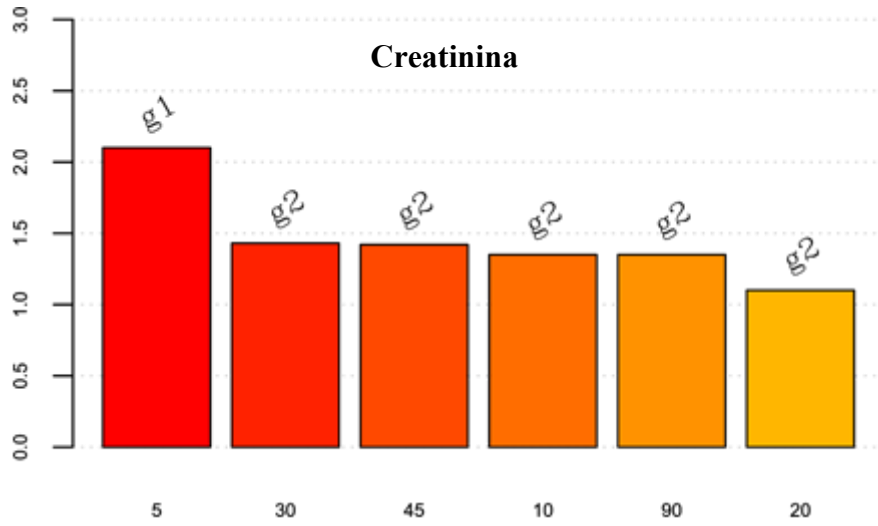
Os valores de glicose apresentaram comportamento quadrático, aumentando à medida que o volume de água foi aumentado, apresentando o maior valor de 82,67 mg/dL no volume de 50,4 peixes/L.

Os tratamentos de 20 e 90 L, foram diferentes dos demais tratamentos nos parâmetros amilase, colesterol, globulinas e triglicerídeos, apresentando maiores valores que os demais tratamentos. A ALT mostrou-se mais elevada nos animais acondicionados no tratamento de 20 L, seguido pelo de 90 L. Já a AST teve maiores valores nos animais dos tratamentos 20,30, 45 e 90 L.

A creatinina foi maior nos animais do tratamento 5 L, a FOA teve valores maiores nos animais do tratamento 30 L e menores nos animais dos tratamentos 5 e 10 L. Por sua vez, a ureia não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos.







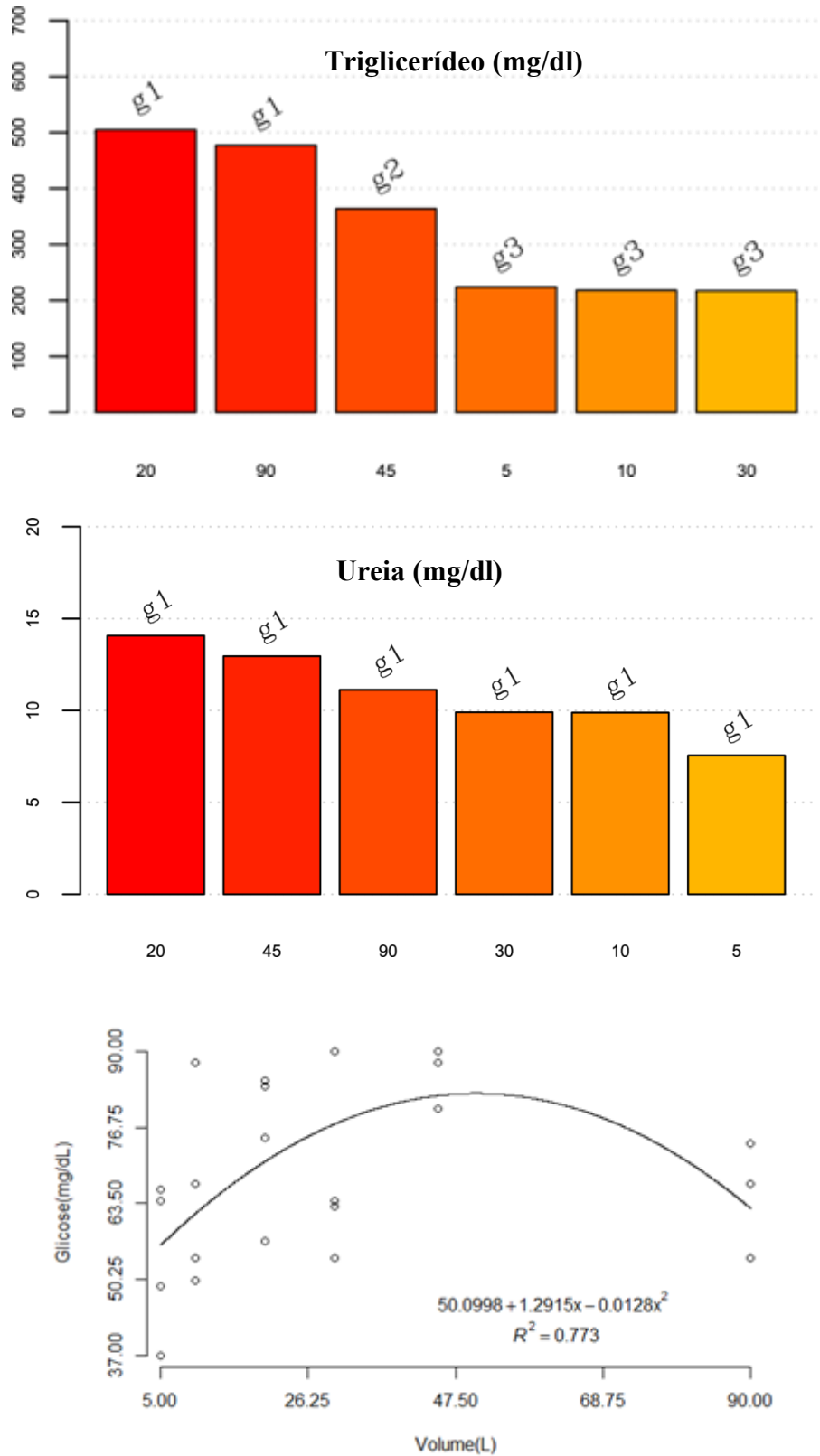


Figura 6. Resultados dos parâmetros bioquímicos das carpas coloridas acondicionadas em diferentes volumes de água.

6.4 Desempenho

No presente estudo, os tratamentos aplicados não influenciaram no comprimento e no peso dos animais ($P>0,05$) (Tabela 3), mas houve uma interação entre as semanas para peso, onde foi observado que até a segunda semana, o peso dos animais foi o mesmo para todos os tratamentos, mas a partir da terceira semana, o tratamento de 90 L se destacou ($P<0,05$) (Figura 7).

Tabela 03. Resultado do desempenho das carpas coloridas em decorrência dos tratamentos.

Variáveis	Tratamento 05(L/A)	Tratamento 10(L/A)	Tratamento 20(L/A)	Tratamento 30(L/A)	Tratamento 45(L/A)	Tratamento 90(L/A)
Peso (g)	49.3 ^a	51.6 ^a	46.8 ^a	47.3 ^a	49.6 ^a	53.3 ^a
Comprimento (cm)	15.1 ^a	15.6 ^a	15.0 ^a	15.3 ^a	15.7 ^a	15.9 ^a

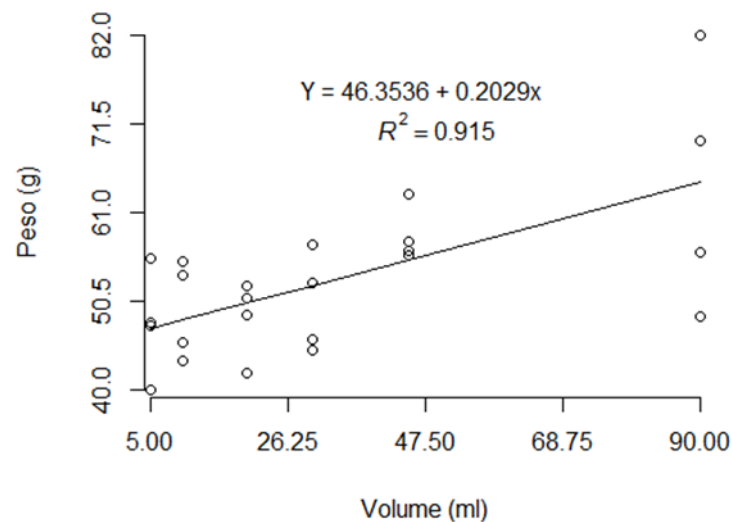


Figura 7. Resultado do desdobramento da terceira semana em relação aos tratamentos para o peso.

6.5 Histologia

Não foram observadas lesões celulares no fígado dos animais em todos os tratamentos. Foram adotadas a graduação de I a III para classificar a intensidade de degeneração glicogênica/lipídica nas células do fígado das carpas coloridas (Figura 8).

No presente estudo foram observados degeneração glicogênica de grau II e III nos animais de todos os tratamentos. As degenerações glicogênica de grau II, encontradas nos fígados

analisados, são alterações esperadas e comuns nos peixes, onde ocorreram em 13% dos animais no tratamento 05 L, 17% no tratamento 30 L, 29% no tratamento 45 L e 57% no tratamento 90 L. Em relação á degeneração glicogênica de grau III, foram observados 88% nos animais do tratamento 05 L, 100% no tratamento 10 L, 100% no tratamento 20 L, 83% no tratamento 30 L, 72% no tratamento 45 L e 43% no tratamento 90 L.

Em relação à histologia das brânquias, foi observada a presença de telangiectasias (pequenos vasos sanguíneos dilatados na pele ou nas mucosas) na proporção de 75% no tratamento 05 L/A, 43% no tratamento 10 L/A, 43% no tratamento 20 L/A, 38% no tratamento 30 L/A e não foram observados no tratamento 45 e 90 L/A.

Houve presença de metacercárias (pequenos invólucros que alojam estágios intermediários de parasitas) na proporção de 25% no tratamento 05 L/A, 14% no tratamento 10 L/A, 57% no tratamento 20 L/A, 13% no tratamento 30 L/A e não foram observados no tratamento 45 e 90 L/A. Também houve presença de trematódeos monogenéticos (parasitas) na proporção de 63% no tratamento 05 L/A, 43% no tratamento 10 L/A, 14% no tratamento 20 L/A, 33% no tratamento 45 L/, 100% no tratamento 90 L/A e não foi observado no tratamento 30 L/A (Figura 9).

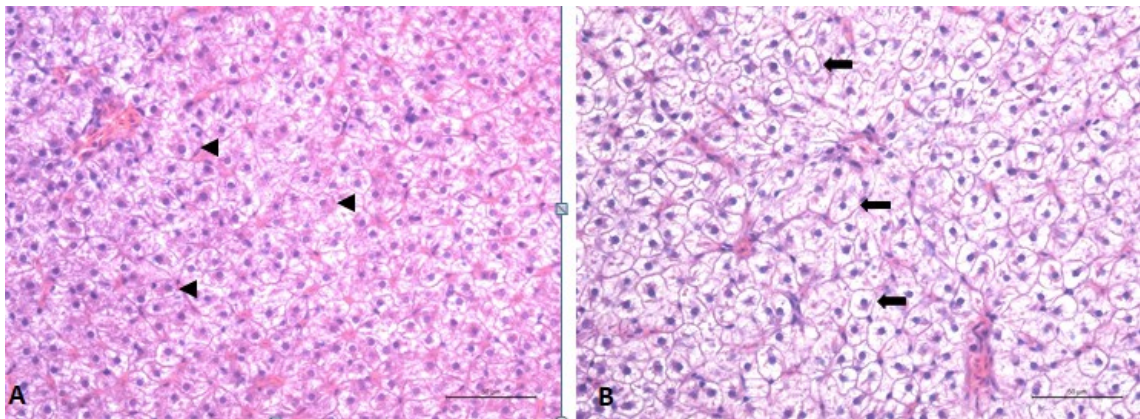


Figura 8. Histologia de fígado. A) Fígado com degeneração glicogênica de grau II. B) Fígado com degeneração glicogênica de grau III.

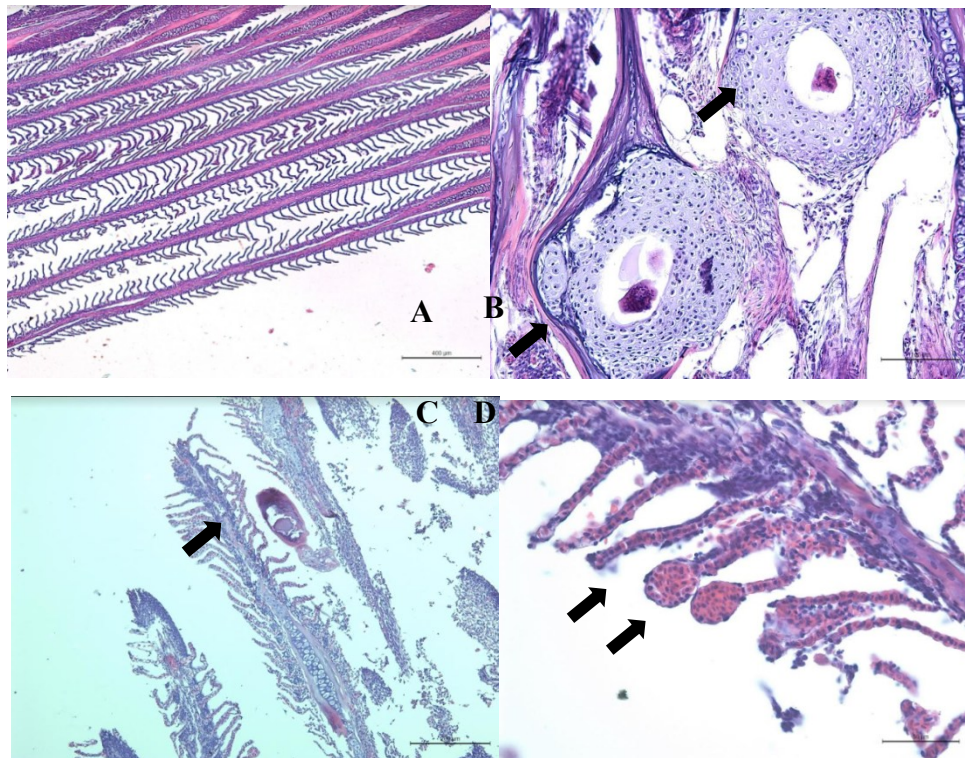


Figura 9. Histologia de Brânquias. A) brânquias com aspecto normal. B) Brânquias com presença de trematódeos monogenéticos. C) Brânquias com presença de metacercárias. D) Brânquias com presença de telangiectasias.

6.6 Comportamento

No primeiro dia do teste foram observadas brigas entre os animais nos tratamentos com 05 L, 10 L, 20 L e 30 L/A, a partir do terceiro dia do teste, observou-se que as brigas nos tratamentos 20 e 30 L/A haviam cessado. Esse ocorrido foi devido ao fato da formação de hierarquia entre os animais. Pois, notou-se que existia um animal dominante, que se alimentava primeiro e nadava na frente dos demais.

Nos tratamentos de 05 e 10 L/A as brigas cessaram somente após o sétimo dia do teste. Nesses dois tratamentos a hierarquia levou mais tempo para ser formada. Mas no decorrer do teste, quando os animais dominantes morriam ou se machucava muito, as brigas retomavam, devido ao início de uma nova disputa por hierarquia (foi observado que os animais que mais apresentavam feridas e posteriormente morriam eram os dominantes).

Após a formação da hierarquia, os animais dominantes possuíam machucados e injúrias decorrentes das brigas anteriores e o animal em poucos dias, mostrava-se debilitado). Devido a esse fato, as brigas eram constantes nesses dois tratamentos (05 e 10 L/A). Caso ocorresse morte dos dominantes em ambos os tratamentos, as brigas reiniciavam e foram observados que essas brigas para estabelecimento de uma nova hierarquia duravam dois dias.

7 Discussão

O comércio de organismos aquáticos com fins de ornamentação e aquariofilia é cada vez mais representativo dentro do mercado pet no mundo. A atividade tem se apresentado uma alternativa promissora, uma vez que exige pequenas áreas para produção, apresenta alta margem de lucro, existe protocolos de manejo conhecidos para diversas espécies e curto período de tempo para produção (Pouil, *et. al.*, 2020).

As carpas coloridas estão entre os peixes ornamentais de água doce mais produzidos e comercializados no Brasil e no mundo. Algumas características desses animais explicam sua distribuição global não só nas pisciculturas, como também no comércio, pois apresentam adaptação aos diversos ambientes aquáticos, possuem tolerância as variações de temperatura, desde 4°C a 35 °C, são rústicas e apresentam rápido crescimento e facilidade de manejo (Antonpardo, *et. al.*, 2020).

Na comercialização dessa espécie de peixe, a coloração e conformidade são o grande atrativo para o consumidor, onde estes priorizam a beleza, e o valor comercializado varia de acordo com o tamanho, cor e qualidade do animal. Em lojas de acondicionamento de peixes ornamentais para o comércio, a ocorrência de situações que afetem o bem-estar dos animais é recorrente. Qualidades de água, manejo alimentar e densidades de estocagem utilizadas inadequadamente são os mais frequentes.

7.1 Parâmetros limnológicos

No presente estudo verificou-se que a temperatura do tratamento 05 L/A foi à única que apresentou diferença, apesar dos valores entre os tratamentos serem muito próximos. Isso se deve ao menor volume de água em relação aos demais tratamentos, pois com volumes menores ocorre mais rapidamente a dissipação do calor o que proporciona uma variação da temperatura mais rapidamente.

Em relação ao oxigênio pode-se observar que quanto menor o volume, menor foram os valores de oxigênio dissolvido, resultado este explicado pelo fato de se ter mais animais consumindo oxigênio em um menor espaço.

A amônia, alcalinidade e dureza apresentaram maiores valores nos tratamentos de 05 e 10 L/A. Maiores densidades de estocagem acarretam maiores concentrações de resíduos, como excremento na água. Esses resíduos aumentam os níveis de compostos nitrogenados, alcalinidade e dureza da água.

Isso se deve ao fato dos íons Ca_{2+} e Mg_{2+} serem os maiores contribuintes na dureza, principalmente quando associados aos carbonatos e/ou bicarbonatos (Fernandes, *et. al.*, 2014)

que elevam os níveis de dureza da água. A alcalinidade total é baseada nos fluxos de carbono inorgânico dissolvido (CID), porém, a alcalinidade não resulta somente de compostos carbônicos inorgânicos, ácidos orgânicos e outros compostos alcalinos também resultam na elevação da alcalinidade (Morel; Hering, 1993; Sampaio, *et al.*, 2018).

Já a amônia é resultado da digestão de proteína pelos peixes e de compostos nitrogenados reduzidos, decorrentes da decomposição aeróbia e anaeróbia da matéria orgânica (Pereira e Mercante, 2018). Como os peixes não aproveitam menos de 50% dos nutrientes da ração, parte desses nutrientes é excretado através das fezes, contribuindo na alteração desses parâmetros da água.

7.2 Parâmetros sanguíneos

Parâmetros hematológicos estão relacionados à resposta do animal ao meio ambiente, um indício de que o ambiente onde o peixe vive poderia exercer alguma influência nas características hematológicas. Esses indícios têm sido empregados em monitoramentos eficazes da resposta de peixes a estressores (Vázquez e Guerrero, 2007). De acordo com esses autores, índices hematológicos são importantes parâmetros para a avaliação do estado fisiológico do peixe. Suas variações dependem da espécie, idade e condições de saúde.

No presente estudo, o maior pico de hemoglobina proteína total e glicose, foram encontrados nos volumes 70, 67 e 50,4 L/A, respectivamente. Uma hipótese para estes resultados encontrados baseia-se no fato de que carpas são animais que vivem em cardumes. Como as caixas utilizadas no estudo eram de 200 litros, o número de carpas utilizadas nesses volumes provavelmente pode ter desequilibrado o bem-estar desses animais e conseqüentemente afetando os valores dos parâmetros sanguíneos, por não ser um número suficiente para composição de um cardume para esta espécie. Montero, *et al.* (2001), observaram que gilthead seabream (*Sparus aurata*) tiveram um aumento na concentração de hemoglobina e no número de hemácias em quando submetidos ao estresse.

O estresse em peixes causa um aumento da taxa de captação de Oxigênio pelas brânquias, como resultado do aumento da taxa ventilatória e do fluxo sanguíneo branquial (Oba; Mariano; Santos, 2009). Além disso, ocorre o aumento de hematócrito e eritrócito circulante que eleva a concentração da hemoglobina (Soldatov, 1996; Mariano, 2006).

Já em relação aos valores menores dos parâmetros hematológicos encontrados para as maiores densidades (5 e 10 L/A) pode ser explicado devido à exposição à uma maior concentração de amônia encontrada nesses tratamentos. A amônia pode ser encontrada na água na forma do íon amônio (NH_4^+ , amônia ionizada) e na forma de amônia (NH_3 , amônia não

ionizada), sendo esta considerada a mais tóxica entre elas. A soma dessas duas formas é denominada amônia total.

A temperatura e o pH são os principais fatores determinantes na proporção em que estas duas formas de amônia de encontram na água. Quanto maior a temperatura e o pH, maior será a porcentagem da amônia na forma tóxica (NH_3), presente na água. Aumentando-se uma unidade de pH, a amônia não ionizada aumenta em aproximadamente dez vezes (Kubitza, 2013). Os resultados de pH e temperatura obtidos no presente estudo, vão de acordo com as observações desse autor, logo, nos tratamentos de 5 e 10 L/A a concentração de amônia tóxica provavelmente eram maiores em relação aos outros tratamentos.

Segundo Lavanya, *et al.* (2011) as análises dos parâmetros sanguíneos possuem um papel importante para detectar alterações fisiológicas e saúde geral situação dos peixes expostos a substâncias tóxicas.

Selamoglu, *et al.* (2012) encontraram uma diminuição nos eritrócitos, hemoglobina e hematócrito em carpas expostas ao estresse pela substância toxica arsênico. Tripathi *et al.*, (2003) também observaram redução de hemoglobina em catfish indiano (*C. batrachus*) exposto a toxicidade por arsênico.

Ramesh, *et al.* (2009) encontraram um declínio no número de eritrócitos após exposição de carpas comuns expostas a um tipo de herbicida. De acordo com Lavanya, *et al.* (2011) a diminuição nesses parâmetros pode ser resultante de uma anemia como resultado subsequente da inibição de eritropoese no sistema hemopoiético.

7.3 Parâmetros bioquímicos

A glicose e os lipídios colesterol e triglicerídeos são as principais fontes de energia dos animais e indicadores de estresse (Authman, 2013), e no presente estudo para essas variáveis os tratamentos de 20 e 90 litros por animal foram os que apresentaram os maiores níveis. Isso indica que esses tratamentos requisitaram uma mobilização energética maior que os demais tratamentos.

No tratamento 90 litros por animal isso pode ser justificado pelo fato de possuírem maior espaço para locomoção o que faz com que os animais gastem mais energia para percorrer todo o espaço.

A creatinina obteve diferença estatística significativa no tratamento 05 litros por animal e a amilase nos tratamentos 05 e 10 litros por animal. A avaliação da amilase é realizada para verificar alterações no pâncreas além de estar diretamente ligada a creatinina que por sua vez indica alterações renais (Caraway, *et al.*, 1959; Akiko, *et al.*, 1972; Motta, 2000). A creatinina

é um produto que surge da degradação da creatina circulante no plasma pelos músculos, onde se armazena energia em forma de fosfocreatina (Finco, 1989). Como os volumes 05 e 10 litros por animal foram os únicos que apresentaram diferença estatística significativa, indicando que esses animais sofreram estresse.

A albumina não apresentou diferença estatística significativa, porém, a globulina apresentou diferença nos tratamentos de 05 e 10 litros indicando que esses tratamentos possui efeito negativo no sistema imunológico das carpas. Isso pode ser explicado pelo fato de serem os tratamentos onde ocorriam brigas constantes durante todo o experimento e por viverem em ambiente hostil, os animais tiveram seu sistema imunológico suprimido devido ao provável estresse. Isso se deve ao fato do estresse elevar os níveis de cortisol no sangue e consequentemente, o cortisol liga-se aos leucócitos ocasionando, uma imunossupressão (Bauer, 2002).

7.4 Histologia

As degenerações glicogênica, encontradas nos fígados analisados, são alterações esperadas e comuns nos peixes. Essas alterações são influenciadas por diversos fatores como espécie, idade, sexo, fase reprodutiva, estação do ano, estado nutricional, efeito de substâncias tóxicas, inflamação e doenças.

A causa mais comum relacionada a esse evento é a alimentação, em que a ingestão de energia excede as demandas do metabolismo, crescimento, esforço, reprodução e outros requisitos fisiológicos, de maneira que os hepatócitos armazenam o excesso de energia como glicogênio/lipídeos. Esse evento é especialmente comum em peixes criados em cativeiro.

A presença de degeneração não significa necessariamente que há comprometimento da função hepática ou da saúde do animal, sendo um achado frequente em peixes saudáveis.

Essa é uma abordagem vantajosa, pois peixes doentes, estressados ou desnutridos frequentemente exibem uma visível redução dos estoques de energia hepática e, portanto, podem ter a vacuolização hepatocelular diminuída (Wolf, *et. al.*, 2015).

Em relação à histologia das brânquias, foram observados em todos os tratamentos a presença de telangiectasias, metacercárias e trematódeos monogenéticos. As telangiectasias encontradas não apresentam significado clínico (Wolf, *et. al.*, 2015). No caso em questão, os parasitos estavam em quantidade reduzida de maneira que não comprometeram a função respiratória das brânquias (Noga, 2010).

As metacercárias presentes nas análises são fortemente sugestivas do trematódeo digenético *Centrocestus formosanus*. O *Centrocestus formosanus* é um trematódeo heterófito

que completa seu ciclo de vida utilizando os caracóis aquáticos, como o *Melanoides tuberculatus*, como hospedeiro primário, os peixes como hospedeiros secundários e aves e mamíferos piscívoros como hospedeiros definitivos.

Sua migração para as brânquias e a formação das metacercárias nesse local induzem condroplasia nas lamelas primárias das brânquias, resultando na formação de uma espessa cápsula cartilaginosa ao redor de cada metacercária, sendo que o agente também pode promover inflamação. Infestações graves causam alterações estruturais e funcionais nas brânquias, com consequente comprometimento da capacidade respiratória, perdas produtivas e morte de animais. Chamo a atenção que nenhum animal do estudo apresentou infestação grave por esses parasitas.

A criação e produção de carpas coloridas, em sua grande maioria, são feitas em viveiros escavados, e nesse tipo de sistema de produção é muito comum a presença de caramujos aquáticos. Portanto os parasitas não são decorrentes dos tratamentos aplicados e nem das instalações e água utilizadas durante o estudo, e sim, já vieram com os animais oriundos dos locais onde foram produzidas. (Noga, 2010; Sumuduni, *et. al.*, 2018).

Os trematódeos monogenéticos descritos na análise são parasitas comuns da pele e brânquias de peixes marinhos e de água doce, sendo seus principais representantes o *Dactylogyrus* e o *Gyrodactylus* sp. Infestações graves de trematódeos monogenéticos causam mortes de animais e estão associadas abaixo nível sanitário e má qualidade da água. . Por se tratar de um parasita muito comum entre os peixes, assim como as metacercárias, provavelmente os animais já vieram contaminados de seus criadores.

8 Conclusão

Os resultados encontrados no presente trabalho demonstram que várias densidades utilizadas normalmente em lojas de aquarismo, para acondicionamento das carpas coloridas, no comércio da grande Belo Horizonte, afetam o bem-estar desses animais.

Entre os principais volumes em que as carpas são acondicionadas em lojas de aquarismo os tratamentos 05 e 10 litros por animal, demonstraram ser os menos indicados, apresentando mais brigas e alterações nos parâmetros de água em relação aos demais tratamentos.

Recomenda-se acondicionar carpas coloridas de aproximadamente 15 cm, em densidades entre 30 e 45 L por animal. Mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos de ação do estresse provocado pela densidade de estocagem que afetam o bem-estar desses animais para melhor basear a manutenção das carpas nas lojas de aquarismo.

Revisão bibliográfica

AKIKO, I. et al. Determination of amylase activity in serum and urine using blue starch substrate. **Clinica Chimica Acta**, v. 42, n. 1, p. 63-66, 1972.

AMPARYUP, P. et al. Transcriptome analysis identifies immune-related genes and antimicrobial peptides in Siamese fighting fish (*Betta splendens*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 99, p. 403-413, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.02.030>

ANTON-PARDO, M. et al. Environmental and biotic variables in carp (*Cyprinus carpio*) ponds: organic vs. conventional management. **Aquaculture International**, p. 1-17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00547-8>

BAUER, M. E. Estresse. **Ciência hoje**, v. 30, n. 179, p. 20-25, 2002.

Ben Deivide and Daniel Furtado. midrangeMCP: Multiples Comparisons Procedures Based on Studentized Midrange and Range Distributions. R package version 2.1. (2020).

CARAWAY, W. T. et al. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 32, p. 97-99, 1959. DOI: <https://doi.org/10.5555/19601400100>

CORREA, L. et al. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução**, v. 30, p. 113-117, 2006.

DA SILVA, R. D. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesq Vet Bras**, v. 32, p. 99-107, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012001300017>

DRASTICHOVA, J. et al. Effect of cadmium on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 72, n. 4, p. 725-732, 2004. DOI: <https://doi.org/10.5555/20043075395>

FERNANDES, N. L. et al. Estudo comparativo entre metodologias utilizadas para determinação de dureza total em matrizes aquosas. In: **Congresso Qualidade em Metrologia e Saneamento e Abastecimento de Água**. 2014. DOI: https://doi.org/10.52571/ptq.v12.n24.2015.91_p_24_pgs_91_95.pdf

FERREIRA, G. S. et al. Efeito da densidade de cultivo no desempenho de peixes betta (*Betta splendens*). **28º Congresso brasileiro de zootecnia**, 2018.

FERREIRA, P. de M. F. et al. Efeito da temperatura sobre a taxa metabólica da carpa-comum (*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758). **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2009. DOI: <https://doi.org/10.18817/repesca.v4i2.106>

FINCO, P.R. Kidney function. In: **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 4ª edição. Keneko.J.J., London, Academic Press, , p. 496-542, 1989.

GRAEFF, A.; PRUNER, E. N. Efeito da densidade de estocagem na produtividade final de carpas, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (var. *Specularis*) na fase de engorda. Período-inverno. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 958-967, 1999.

GRAEFF, A.; PRUNER, E. N. Efeito da densidade de estocagem na produtividade final de carpas, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (var. *Specularis*) na fase de engorda. Período-inverno. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 958-967, 1999.

HORN, G.; HANKE, W. Hämatologische Veränderungen bei karpfen unter dem Einf. lu ß von Atrazin. **Hanke G. Untersuchungen über den Einfluß. von Schadstoffen auf Fische. Forschungsbericht der Arbeitsgruppe Ökotoxikologie am Zoologischen Institut der Universität, Karlsruhe**, 1980.

JUNIOR, L. P. G. et al. Densidade de estocagem durante a larvicultura do kinguio. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40, n. 4, p. 597-604, 2018.

KLINGER, R.E. C.; BLAZER, V. S.; ECHEVARRIA, C. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 147, n. 3-4, p. 225-233, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01410-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01410-X)

LAVANYA, S. et al. Hematological, biochemical and ionoregulatory responses of Indian major carp *Catla catla* during chronic sublethal exposure to inorganic arsenic. **Chemosphere**, v. 82, n. 7, p. 977-985, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.071>

LUZ, R. K.; ZANIBONI FILHO, E. Larvicultura do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de vida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 560-565, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000300004>

MACÊDO, H. R. et al. Estudo de parâmetros físico-químicos para a criação de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em água doce. In: **II Congresso De Pesquisa E Inovação Da Rede Norte Nordeste De Educação Tecnológica. João Pessoa. Anais II CONNEPI. João Pessoa**. 2007.

MARIANO, W. S.. Respostas fisiológicas e bioquímicas do jeju *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) a exposição aérea. 2006.

MCDONALD, D.G.; MILLIGAN, C.L. Chemical properties of the blood. In: **Fish Physiology** (Hoar, W.S.; Randall, d.j.; Farrel, A.P., ed) v. XIIB, p.55-134, San Diego: Academic Press, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60009-6](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60009-6)

MIDWAY, S. et al. Comparing multiple comparisons: practical guidance for choosing the best multiple comparisons test. *PeerJ*, v. 8, p. e10387, 2020. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.10387>

Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/arquivos/arquivos-legislacao/in-56-de-2008.pdf>. Acesso em: 21 Fev.2018

MONTERO, D. et al. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 1, p. 53-60, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1007719928905>

MOREL, F. MM; HERING, J. G. **Principles and applications of aquatic chemistry**. John Wiley & Sons, 1993.

- MOTTA, V.T. Bioquímica clínica: princípios e interpretações. **Editora: Médica Massau**, v. 9, 2000.
- OBA, E. T. et al. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: **Embrapa Amapá**, p. 226-247, 2009.
- OYARZÚN, R. et al. Stocking density affects the growth performance, intermediary metabolism, osmoregulation, and response to stress in Patagonian blennie *Eleginops maclovinus*. **Aquaculture**, v. 515, p. 734565, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734565>
- PEREIRA, L.; MERCANTE, C. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2018.
- POUIL, S. et al. Aquaculture of marine ornamental fish: overview of the production trends and the role of academia in research progress. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 1217-1230, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/raq.12381>
- R CORE TEAM et al. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>, 2016.
- RAMESH, M. et al. Effect of atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 3, n. 12, 2009.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T. Hematologia de peixes. **Histologia de peixes**. Unesp, Jaboticabal, p. 65-70, 1991.
- SAMPAIO, I. C. G. et al. A alcalinidade pode ser utilizada para estimar a concentração de carbono inorgânico dissolvido no rio Amazonas?. **Educamazônia-Educação, Sociedade e Meio Ambiente**, v. 21, n. 2, Jul-Dez, p. 278-287, 2018.
- SANTOS, D. M. et al. Uso de extrato aquoso da folha desidratada de amendoeira (*Terminaliacatappa*) no cultivo de *Betta splendens*. **Pubvet**, v. 7, p. 259-311, 2013.
- SELAMOGLU, T. Z. et al. Effects of propolis on some blood parameters and enzymes in carp exposed to arsenic. 2012.
- SOLDATOV, A. A. The effect of hypoxia on red blood cells of flounder: a morphologic and autoradiographic study. **Journal of fish biology**, v. 48, n. 3, p. 321-328, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1996.tb01430.x>
- TRIPATHI, S. et al. Effect of acute exposure of sodium arsenite (Na_3AsO_3) on some haematological parameters of *Clarias batrachus* (common Indian cat fish) in vivo. **Indian Journal of Environmental Health**, v. 45, n. 3, p. 183-188, 2003.
- TSUZUKI, M. Y. et al. Frequência alimentar e densidade de estocagem para juvenis de robalo-peva em tanques-rede. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40, p. 629-637, 2014.

VÁZQUEZ, G.R.; GUERRERO, G.A. Characterization of blood cell and hamatological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). **Tissue and Cell**, v. 39, p. 151-160, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tice.2007.02.004>

VEIVERBERG, C. A. et al. Teores de proteína bruta em dietas práticas para juvenis de carpa capim. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1241-1249, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000500029>

CAPÍTULO 2: EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NO BEM-ESTAR DE PEIXES BETAS (*BETTA SPLENDENS*)

RESUMO

O *Betta splendens* é um dos peixes de aquário mais populares no mundo. Isso se deve ao fato dessa espécie possuir uma ampla variedade de cores e formato de nadadeiras, é um animal rústico e possui respiração aérea, o que lhe permite viver em pequenos aquários sem necessitar de equipamentos de aeração. O volume em que esses animais são criados e mantidos em lojas comerciais foram destacadas como uma área de preocupação específica com o bem-estar. Neste trabalho avaliou-se se *Bettas splendens*, acondicionados nos volumes de 150, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mL durante 30 dias, iriam apresentar alterações no seu bem-estar. Para isso foram utilizados 10 betas machos adultos por tratamento e foram analisados parâmetros bioquímicos e de qualidade de água, e estudos histológico de brânquias e fígados e do comportamento. Os volumes testados não influenciaram os valores de amilase, colesterol, fosfatase alcalina (FOA), glicose e proteína total. Os tratamentos de 150 e 500 mL apresentaram os piores valores nos parâmetros de qualidade de água. Em relação aos parâmetros bioquímicos e análise do comportamento, quanto maior o volume de acondicionamento do beta, melhores foram os resultados. Os volumes de 150 e 500 mL utilizados por lojas de aquarismo são os menos recomendados para acondicionamento desse animal. Recomenda-se o acondicionamento do peixe ornamental *Betta splendens* em recipientes contendo um mínimo de 01 litro de água.

Palavras-chave: estresse; peixe ornamental parâmetros bioquímicos.

ABSTRACT

The *Betta splendens* is one of the most popular aquarium fish in the world. This preference is whether the fact that this species allows a wide variety of cores and fin shapes, is a rustic animal and has aerial breathing, or allows reproduction in small aquariums without the need for aeration equipment. The volume at which these animals are raised and kept in commercial stores has been highlighted as an area of specific concern for welfare. In this work it was evaluated whether Bettas splendens, stored in volumes of 150, 500, 1,000, 5,000 and 10,000 mL for 30 days, would present changes in their welfare. For that, 10 adult male bettas were used for treatment and biochemical parameters and water quality were analyzed, as well as histological studies of gills and liver and behavior. The volumes tested did not influence the values of amylase, cholesterol, alkaline phosphatase (FOA), glucose and total protein. The 150 and 500 mL controls described the worst values in the water quality parameters. Regarding the biochemical parameters and behavior analysis, the greater the volume of packaging of the beta, the better the results. The volumes of 150 and 500 mL used by aquarium stores are the least recommended for packaging this animal. It is recommended to pack ornamental fish *Betta splendens* in containers containing a minimum of 01 liters of water.

Keywords: stress, ornamental fish, biochemical parameters.

9 Introdução

O *Betta splendens* é um dos mais populares peixes de aquário no mundo (Amparyup, *et. al.* 2020). Isso se deve ao fato dessa espécie possuir uma ampla variedade de cores e formato de nadadeiras, é um animal rústico e, possui respiração aérea, o que lhe permite viver em pequenos aquários sem necessitar de equipamentos de aeração (Santos, *et. al.* 2013).

A criação do peixe beta macho é realizada de forma separada, em recipientes de vidro, comumente chamados de bateiras, onde os peixes são separados na fase juvenil devido á agressividade característica desta espécie (Ferreira, *et. al.*, 2018) e mantidos dessa forma durante toda sua vida. Já os exemplares fêmeas desta espécie, podem ser criadas juntas.

Apesar da densidade de estocagem depender de diversos fatores tais como espécie, fase de desenvolvimento, alimentação e manejo (Luz; Zaniboni Filho, 2002; Junior, *et. al.*, 2018) existem poucos trabalhos científicos sobre densidade de estocagem de peixes ornamentais com foco na criação desses animais por aquaristas, ou seja, a criação desses animais após sair dos sistemas de criação comerciais.

Dessa Forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar se os principais volumes nos quais o peixe *Bettas splendens* macho são acondicionados em lojas de aquarismo e em residências são apropriados para a espécie e se podem causar algum prejuízo ao bem-estar desses animais.

10 Material e métodos

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animais (CEUA) de acordo com o protocolo de nº 353/2018.

10.1 Instalações e delineamento experimental

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Aquicultura (LAQUA) no setor de Peixes Ornamentais, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) _ Belo Horizonte – MG – Brasil, e teve duração de 30 dias.

Foram utilizados peixes machos da espécie *Betta splendens* com aproximadamente, quatro meses de idade, oriundos de um produtor comercial do Município de Patrocínio do Muriaé – MG. Antes do início do estudo, os animais ficaram 20 dias em quarentena. O delineamento do estudo foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: 150 ml (T1), 500 ml (T2), 1L (T3), 5 L (T4) e 10 L (T5), e dez repetições, onde cada animal foi considerado uma repetição.

Os animais do T1 foram acondicionados individualmente em copos de plástico descartáveis transparentes de 350 mL com diâmetro superior de 8,8 cm, 5,4 cm de diâmetro inferior e 10,8 cm de altura. Os animais T2 foram acondicionados individualmente em garrafas pets de 2 L.

Os animais do T3 foram acondicionados também de forma individual em aquários de vidro de 1,2 L com dimensões de 9 cm de comprimento, 12 cm de largura e 12 cm altura. Já os animais do T4 foram acondicionados de forma individual em aquários de 10 L com dimensões de 35 cm de comprimento, 16 cm de largura e 18 cm de altura, E por último, os animais do T5 foram acondicionados, também de forma individual, em aquários de vidro de 47 L com dimensões de 45 cm de comprimento, 30 cm de largura, 35 cm altura. Todos os tratamentos foram em ambientes estáticos, sem suplementação de aeração e aquecedor.

Durante os 30 dias do teste, os animais foram alimentados com ração comercial Poytarabetta® própria para a espécie contendo 35% PB. A alimentação foi realizada três vezes ao dia, com taxa de arraçamento diária de 3% do peso vivo, após a mensuração dos parâmetros de qualidade de água. Além disso, a cada 02 dias foi realizada a retirada de dejetos através de sifonagem e feita troca parcial de água de 20% em todos os tratamentos.

10.2 Análises bioquímicas

O *Betta splendens* é um peixe que, em fase adulta, possui aproximadamente de 2 a 4 cm de comprimento médio e devido a essa característica morfológica não foi possível realizar as análises sanguíneas.

Após os 30 dias do estudo, os animais foram sacrificados para realização das análises bioquímicas. Para a realização das análises, os animais tiveram as nadadeiras retiradas e o restante (corpo com vísceras e cabeça) macerado individualmente. Cada macerado foi acondicionado em microtubos e enviados para o departamento de Clínica e Cirurgia da Escola de Veterinária –UFMG onde foram realizadas as análises de ureia (URE), aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT), albumina (ALB), Glicose (GLI), creatinina (CRE), fosfatase alcalina (FOA), colesterol (COL), triglicerídeos (TRI), proteína total (PRO) e amilase (AMI) no aparelho Cobas.

O método utilizado foi de absorvância com o equipamento bioquímico semiautomático (Roche Cobas Mira Plus®) empregando protocolos padrões. Foram utilizados para a análise de creatinina reagente da marca Kovalent e para as demais análises o reagente da marca Biotécnica.

10.3 Análises de parâmetros limnológicos

Durante os 30 dias do estudo, em todas as unidades experimentais, a temperatura foi mensurada três vezes ao dia (07:00, 12:00 e 17:00 horas) utilizando termômetro digital da marca Chinesa, modelo TPD-10®. As análises de pH foram realizadas uma vez por semana através

do medidor de pH digital (Acehe® modelo n° 32817193201). Já as análises de amônia e alcalinidade foram realizadas duas vezes por semana seguindo os protocolos abaixo:

Amônia

Em um tubo identificado, colocou-se 05 ml de água destilada que foi utilizada como branco. Posteriormente, foi adicionado 01 ml de solução tampão (Buffer) em tubos previamente identificados contendo 05 ml de cada amostra e realizado a homogeneização em seguida. Após a homogeneização, foi adicionado 01 ml de reagente A (Fenol e Nitroprussiato) a cada um dos tubos e homogeneizado posteriormente.

Em seguida, adicionou-se 01 ml de reagente B (solução alcalina) a cada tubo de ensaio e em seguida homogeneizado e deixado descansando por 2 a 6 horas, mantendo os tubos em local ao abrigo de luz. Ao final do prazo, as amostras foram levadas ao espectrofotômetro para leitura de transmitância do branco e depois das amostras no comprimento de onda 630 nm. Para finalizar, as leituras obtidas foram inseridas na curva padrão do Excel para obtenção do resultado.

Alcalinidade

As amostras da água onde os peixes estavam acondicionados foram coletadas em tubos previamente identificados e em seguida foi realizada a ambientação da bureta com a solução de ácido sulfúrico 0,05 N. Em sequência a bureta foi preenchida com a solução de ácido sulfúrico 0,05 N até o seu volume total.

Armazenou-se em um erlenmeyer 50 ml de amostra de água e posteriormente foi adicionado, com auxílio de uma pipeta de pasteur, duas gotas do indicador misto na amostra e em seguida foi realizada a titulação dessa solução com o ácido da bureta. A titulação foi interrompida quando ocorreu a viragem da cor azul para o amarelo e para obter o resultado da alcalinidade em mg de CaCO_3/L o valor de ácido sulfúrico foi multiplicado por 50.

10.4 Comportamento

Ao longo do experimento foi realizado a observação do comportamento dos animais diariamente no período das 07:00 às 18:00 h, através do método de Scan (varredura) com intervalo de 20 minutos entre as observações totalizando 30 observações por dia. Essa avaliação consiste em observar por 5 minutos todos os aquários anotando o comportamento de todos os betas. As observações eram realizadas em total silêncio e com uma distância mínima para evitar a percepção da presença do observador pelos peixes e conseqüentemente ocorrendo à mudança de comportamento.

A avaliação do comportamento tem por finalidade verificar se existe diferença do comportamento dos animais como letargia, hiperatividade, perda de apetite ou voracidade alimentarem, presença ou não de ninhos de bolhas decorrente dos volumes em que os peixes eram acondicionados e comparar a intensidade apresentada entre os tratamentos.

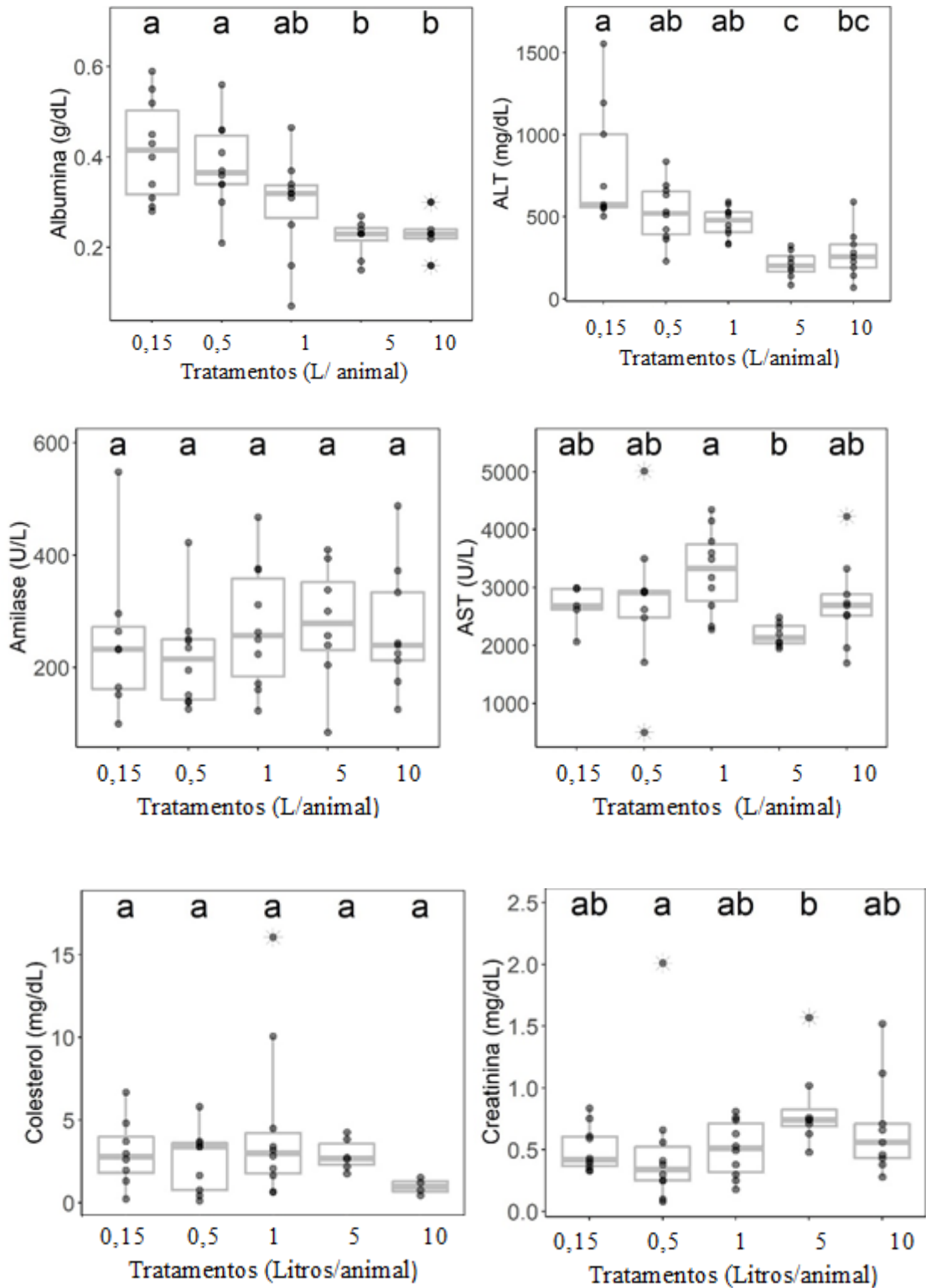
10.5 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foram utilizados testes de predisposições de normalidade, independência e homogeneidade de variâncias. Para avaliar o efeito da densidade sobre as variáveis de interesse foram realizadas análise de comparação de médias. Para isso foi utilizado os softwares R (R Core Team, 2019) e o midrange MCP. R package version 2.1. Ambos com níveis de significância de 5%.

11 Resultados

Durante o presente estudo, não houve nenhuma mortalidade observada nos tratamentos. Ao final de 30 dias de estudo, verificou-se que o tamanho e volume dos tratamentos nos quais os betas foram acondicionados, não influenciaram ($P>0,05$) nos parâmetros amilase, colesterol, fosfatase alcalina (FOA), glicose e proteína total como pode ser observado na figura 10. Já os parâmetros albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), globulina, proteína total, triglicerídeos e ureia, sofreram influência ($P<0,05$) dos tratamentos testados.

Os tratamentos de 150 e 500 mL foram diferentes dos demais tratamentos nos parâmetros albumina, globulina e triglicerídeos, onde os animais apresentaram maiores valores para o primeiro parâmetro e menores valores para os outros dois. A ALT mostrou-se mais elevada nos animais acondicionados em 0,15 L e mais baixa para os acondicionados em 05 L. Já a AST teve maiores valores nos animais do tratamento de 01 L e menores valores para o de 05 L. A creatinina foi menor nos peixes do tratamento de 500 mL e maior nos de 05 L. A ureia também se mostrou mais elevada nos animais acondicionados em 05 L e com valores mais baixos nos de 01 L.



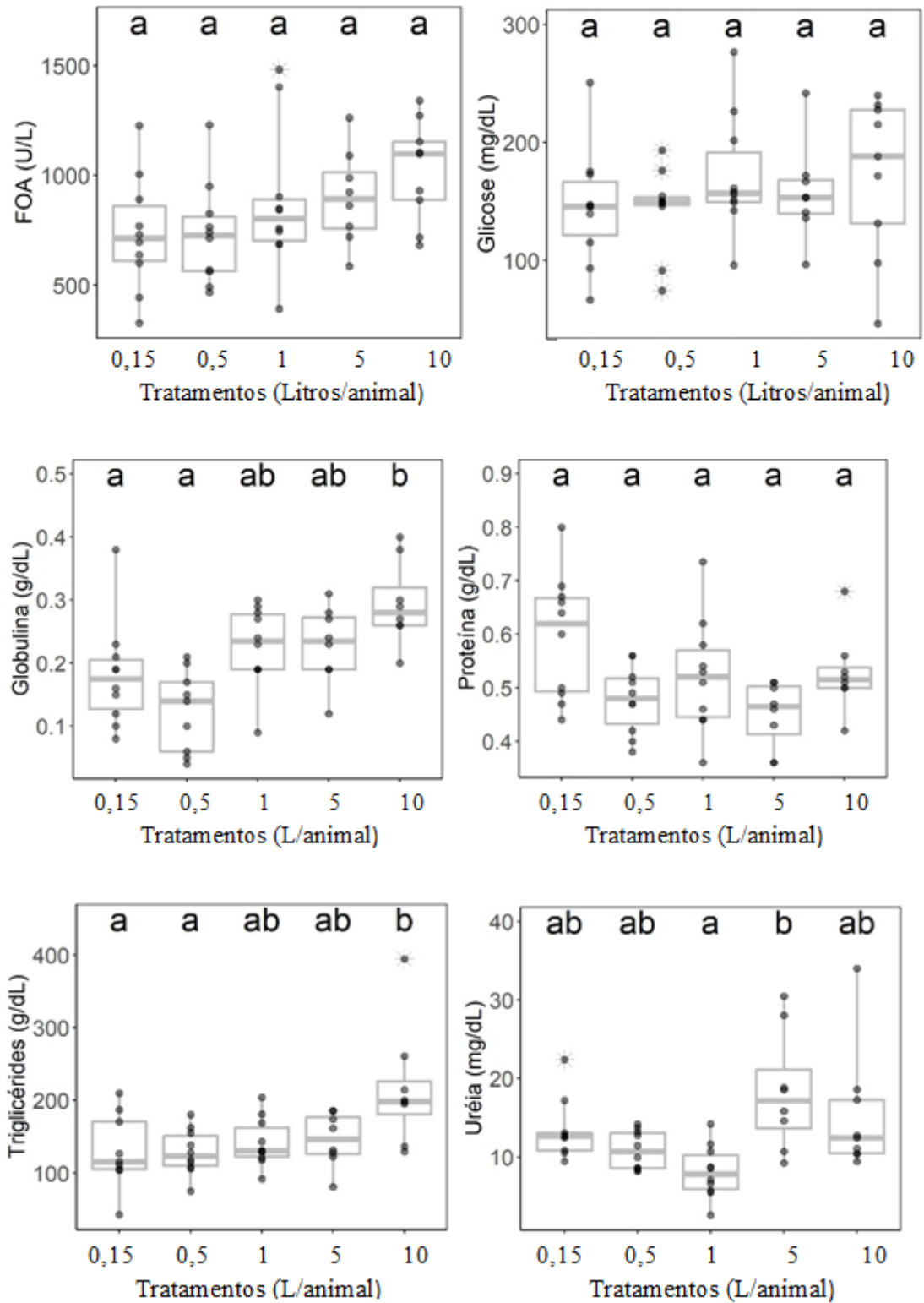


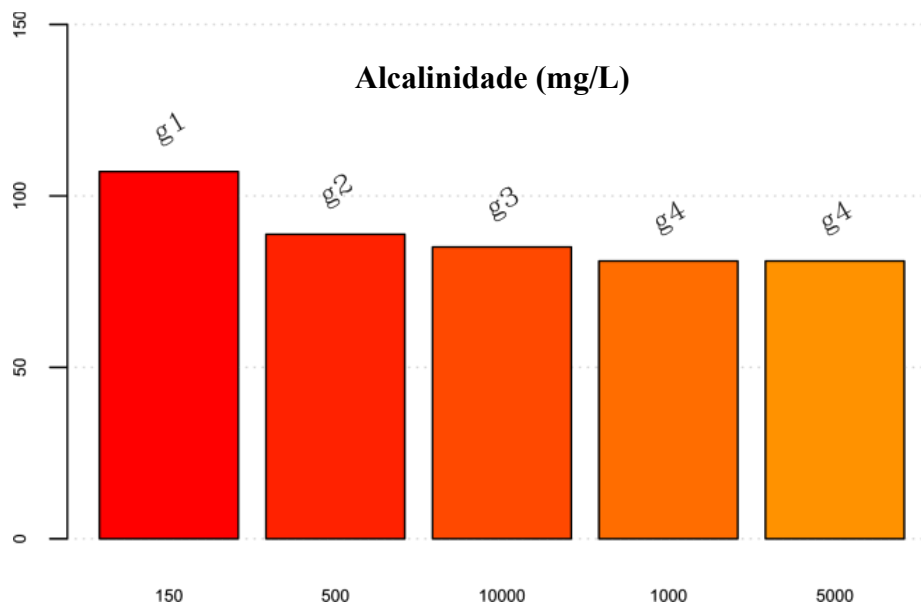
Figura 10. Resultados dos parâmetros bioquímicos dos betas acondicionados em diferentes volumes. (Albumina $P < 0,01$; ALT $P < 0,01$; Amilase $P = 0,669$; AST $P = 0,016$; Colesterol $P = 0,250$; Creatinina $P = 0,037$; FOA $P = 0,096$; Glicose $P = 0,474$; Globulina $P < 0,001$; Proteína $P = 0,056$; Triglicérides $P = 0,015$; Uréia $P = 0,003$).

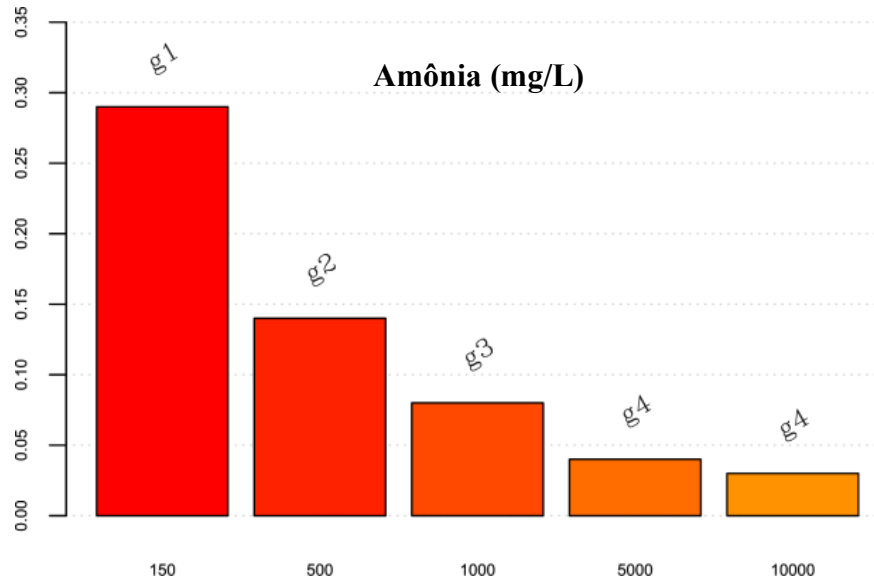
Os parâmetros de qualidade de água nos diferentes tratamentos se encontraram dentro da faixa ideal para criação de peixes Bettas (Faria, *et. al.*, 2006).

Na figura 11 é possível observar os resultados para os parâmetros de água. A amônia e alcalinidade foram influenciadas pelos tratamentos, sendo que o tratamento 150 mL apresentou os maiores valores para ambos os parâmetros, sendo 107 mg/L para alcalinidade e 0,29 mg/L para amônia.

A temperatura média dos tratamentos foi de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, sendo que os tratamentos de 150 e 500 mL foram diferentes dos demais tratamentos apresentando temperaturas de 25,7 e $25,6^{\circ}\text{C}$ respectivamente, enquanto os demais tratamentos apresentaram temperatura média de 25°C . A dureza também apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) significativa para os tratamentos 150 e 500 mL em relação aos demais tratamentos, com valores de 80,31 e 78,05 (mg/L), respectivamente.

Já o pH, foi diferente apenas no tratamento de 10 L, ao qual apresentou o valor médio de 7,4 enquanto os demais tratamentos apresentaram valor médio de 7,7.





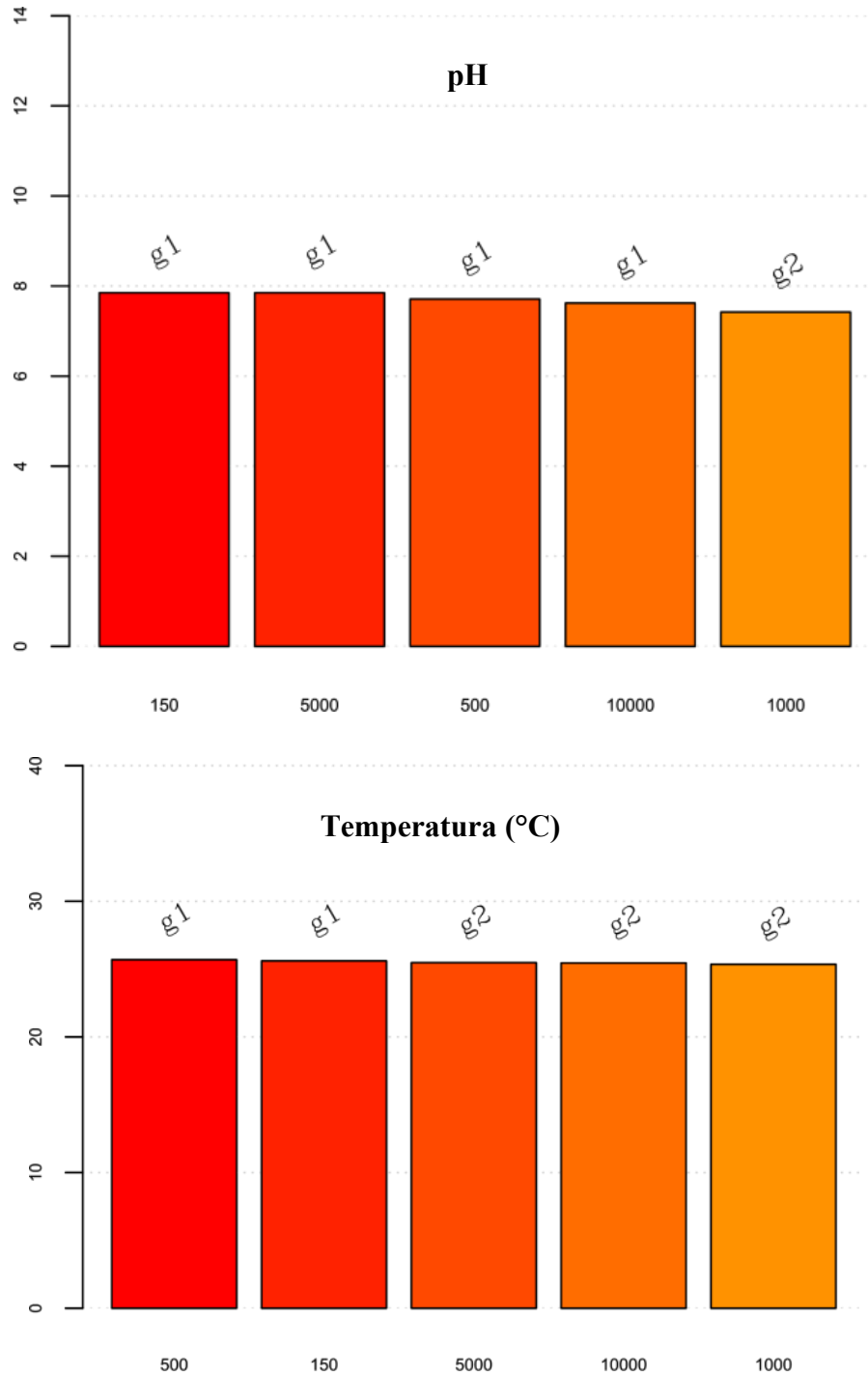


Figura 11. Resultados médios dos parâmetros de qualidade de água dos betas acondicionados em diferentes volumes.

Em relação ao comportamento, foi observado que os volumes de acondicionamento influenciaram no comportamento dos betas. Os betas acondicionados em copos plásticos de 150 mL apresentaram um comportamento letárgico, ou seja, mal se movimentavam, e durante o

estudo, 04 dos 10 animais utilizados apresentaram pintas brancas espalhadas pelo corpo o que é um indicativo de infestação por ictiose a partir do 13º dia de estudo.

No tratamento de 500 mL foi observado um comportamento também letárgico, mas um pouco mais ativo quando comparado ao tratamento anterior e 02 dos 10 animais apresentaram ictiose no 23º dia do estudo. Diferentemente, os animais do tratamento 10 L apresentaram comportamento mais ativo que os demais tratamentos e o tratamento de 05 L por sua vez, eram mais ativos que os animais do tratamento 01 L.

Apenas os animais dos tratamentos 05 e 10 L apresentaram comportamento reprodutivo, produzindo ninho de bolhas. Todos os animais do tratamento 10 L produziram o ninho de bolha no 3º dia e caso seus ninhos fossem desfeitos, os mesmos reconstruíam imediatamente. Já o tratamento 05 L apenas 07 dos 10 animais apresentaram este comportamento de produção do ninho e, caso seus ninhos de bolhas fossem destruídos, os betas desse tratamento levavam em média 2 dias para o refazerem.

12 Discussão

Várias situações comuns na aquacultura ornamental e no aquarismo são potenciais perturbadores do bem-estar dos peixes ornamentais. O bem-estar dos peixes deve ser avaliado através de indicadores fisiológicos e observar as condições em que os animais preferem permanecer (Volpato, 2007; Pereira, *et. al.*, 2018).

Mudanças no bem-estar dos peixes pode ativar a resposta fisiológica, que terá efeito na bioquímica do sangue. Segundo Palti, *et. al.* (2000) níveis de íons e enzimas plasmáticas com funções metabólicas importantes, podem ser indicativos da saúde geral do peixe.

A dosagem das enzimas hepáticas, fosfatase alcalina (FOA), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotranferase (ALT) tem um diagnóstico potencial na toxicologia e patologia de peixes, uma vez que a atividade dessas enzimas pode informar sobre danos celulares em órgãos específicos. O fígado é rico em AST e FOA e mudanças nos níveis plasmáticos dessas enzimas podem ser indício de uma disfunção hepática (Telli, *et. al.*, 2016; Ibrahim, *et. al.*, 2005).

Segundo Mahmoud, *et. al.* (2012) e Authman, *et. al.* (2013) o aumento das atividades das enzimas hepáticas reflete em danos ao fígado e que o aumento no nível de ALT pode ser indicador de dano renal e hepático. No presente estudo, os animais acondicionados em 150 mL apresentaram a maior elevação dos valores de ALT. Esse aumento pode ser devido á concentração de amônia presente na água que também apresentou mais elevada nesse tratamento pois, quanto menor o volume em que os betas forem acondicionados maior será a

concentração de amônia justificada pelo fato de ter menos água para a amônia ser diluída. É de conhecimento geral que a amônia é considerada tóxica quando presente em valores aumentados no ambiente aquático. O tamanho e volume do recipiente também interfere nas variáveis temperatura, alcalinidade e dureza. Com menor volume, o calor se dissipa mais rápido fazendo com que a temperatura varie mais rápido em um curto espaço de tempo e os parâmetros alcalinidade e dureza se concentram mais em recipientes com menor volume, seguindo o mesmo princípio da amônia.

A creatinina por sua vez mostrou-se mais elevada nos animais acondicionados nos aquários com 05 L e com valores menores nos animais acondicionados em 500 mL. Esse resultado pode ser explicado pela redução da movimentação e conseqüentemente, redução da contração muscular dos peixes no tratamento de 500 mL, devido ao espaço limitado que reduzia sua movimentação, pois, a creatinina é produto final da utilização da energia muscular. A maioria da creatinina excretada se origina da creatina endógena. Os aminoácidos arginina e glicina se combinam para formar guanidinoacetato no pâncreas e rins.

No fígado, o guanidinoacetato recebe um grupo metil da metionina, convertendo-se em creatina. Essa creatina circulante no plasma é requerida pelos músculos, onde se armazena energia na forma de fosfocreatina. Essa fosfocreatina no tecido muscular sofre uma ciclização espontânea com a perda de um fosfato inorgânico formando a creatinina (Finco, 1989). Já os níveis mais altos desse parâmetro no tratamento 05 L pode ser explicado provavelmente, pelo fato da maioria dos animais possuírem bastante espaço para nadarem e nem todos os animais terem entrado em fase reprodutiva.

Na fase reprodutiva, quando constroem ninhos de bolha, a movimentação do peixe diminui um pouco para não danificar o ninho, como foi o caso do tratamento de 10 L/A, onde estes, tinham um maior espaço que os demais tratamentos, mas como todos construíram o ninho de bolhas, sua movimentação reduziu fazendo com que apresentassem valores inferiores de creatinina quando comparados aos animais acondicionados em 05 L. Por se tratar de um peixe agressivo e territorialista, os betas acondicionados em 05 L percorriam todo o aquário para delimitar seu território e conseqüentemente exigia um esforço muscular maior que os animais dos outros tratamentos.

Os dois principais tipos de proteínas do plasma são albumina e globulinas. A albumina é uma lipoproteína de alta densidade, sintetizada no fígado e catabolizada por vários tecidos, onde sua síntese é influenciada pela nutrição, balanço hormonal, estado geral do fígado e estresse. (Hasegawa, *et. al.*, 2002). Suas funções estão relacionadas com o transporte de substâncias e com a regulação e manutenção da pressão coloidosmótica sangüínea (Kaneko, *et. al.*, 1997;

Thrall, 2007). Já as globulinas representam um grupo heterogêneo de proteínas grandes, mas de tamanho variável. Abrangem proteínas que atuam no sistema imune, fatores de coagulação, enzimas e proteínas transportadoras (Thrall, 2007).

No presente estudo, os níveis de albumina apresentaram valores menores na medida em que se aumentava o volume nos quais os peixes foram acondicionados e, o oposto foi observado em relação às globulinas. Os menores volumes que utilizamos (150 mL e 500 mL) afetaram o bem-estar dos peixes, suprimindo o sistema imunológico, por isso os valores de globulinas foram menores nesses tratamentos, explicando também o surgimento de ictiose, uma parasitose oportunista nos animais.

Ibrahim (2015) observou também que a exposição a toxinas, diminui a concentrações de proteínas totais, albumina e globulina consumindo proteínas como recursos energéticos. Ainda no presente estudo, os valores maiores de albumina nesses mesmos tratamentos, provavelmente pode ter sido devido ao aumento de proteínas transportadoras, principalmente de lipídeos. Como o bem-estar desses animais estava afetado, o organismo necessitou de energia para reestabelecer a homeostase, por isso observamos uma redução dos valores de triglicerídeos nos animais desses tratamentos. Carboidratos como a glicose e lipídios como colesterol e triglicerídeos são as principais fontes de energia dos animais e indicadores de estresse (Authman, 2013).

Segundo Maita, *et. al.* (1998), níveis de lipídeos no plasma de peixes são afetados por estresse depois de exposição a ambientes com baixa quantidade de oxigênio dissolvido. O Tratamento que acondicionava os animais em 10 L teve os maiores valores para triglicerídeos, pois todos os animais entraram em fase reprodutiva a partir do terceiro dia de experimento, o que resultou em uma mobilização das reservas energéticas.

13 Conclusão

Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que quanto maior o volume no qual o *Betta splendens* é acondicionado, melhor é o seu bem-estar com melhores resultados comportamentais, nos parâmetros de qualidade de água e variáveis bioquímicas.

Os volumes de 150 e 500 mL utilizados por lojas de aquarismo são os menos recomendados para acondicionamento desse animal. Recomenda-se o acondicionamento do peixe ornamental *Betta splendens* em recipientes contendo um mínimo de 01 L de água.

14 Considerações finais

Para manter o bem-estar é imprescindível fornecer um ambiente com alimentação, manejo, densidade e habitat adequados, ao qual não se observe alterações do comportamento incompatíveis com a espécie. Questões sobre o sofrimento e a dor ainda são controversas e a escassez de informações leva os pesquisadores a compararem os peixes com mamíferos, o que parece ser inadequado.

Na prática, é difícil manter os animais em lojas e criadores em condições ideais pois, existe a escassez de informações e trabalhos acadêmicos para fundamentar o manejo e adequar as estruturas das lojas, pode ser um processo que demande um investimento que inicialmente, muitas lojas não teriam condições de fazer.

15 Referências bibliográficas

- AKIKO, I. et al. Determination of amylase activity in serum and urine using blue starch substrate. **Clinica Chimica Acta**, v. 42, n. 1, p. 63-66, 1972. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(72\)90377-4](https://doi.org/10.1016/0009-8981(72)90377-4)
- AL-QURAI SHY, S. et al. Anti-hyperglycemic activity of selenium nanoparticles in streptozotocin-induced diabetic rats. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 6741, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S91377>
- Ben Deivide and Daniel Furtado. midrangeMCP: Multiples Comparisons Procedures Based on Studentized Midrange and Range Distributions. R package version 2.1. (2020).
- FARIA, P. M. C. et al. Criação, manejo e reprodução do peixe Betta splendens (Regan 1910). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 30, n. 3-4, p. 134-149, 2006.
- FINCO, P.R. Kidney function. **In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4ª edição**. Keneko.J.J., London, Academic Press, p. 496-542, 1989.
- IBRAHIM, A. T. A. Toxicological impact of green synthesized Silver nanoparticles and protective role of different Selenium type on Oreochromis niloticus: Hematological and biochemical response. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, p. 126507, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126507>
- IBRAHIM, A. T. A.; BANAEI, M. Ameliorative effect of lycopene and vitamin E on some haematological and biochemical parameters of Oreochromis Niloticus against diazinon toxicity. **MedCrave Advance in Plants and Agriculture Research**, v. 1, n. 3, p. 1-9, 2014.
- IBRAHIM, A. T. A.; HARABAWY, A. SA. Sublethal toxicity of carbofuran on the African catfish Clarias gariepinus: Hormonal, enzymatic and antioxidant responses. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 106, p. 33-39, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.032>
- IBRAHIM, A. T. A.; HARABAWY, A. SA. The ability of vitamin E, selenium and water to improve and recover the hematological, biochemical and hormonal parameters of mercury-exposed catfish Clarias gariepinus (Burchell, 1822). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology**, v. 7, n. 2, p. 1-19, 2015. DOI: <https://doi.org/10.21608/eajbsz.2015.13468>
- IBRAHIM, S.; MAHMOUD, S. Effect of heavy metals accumulation on enzyme activity and histology in liver of some Nile fish in Egypt. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 9, n. 1, p. 203-219, 2005. DOI: <https://doi.org/10.21608/ejabf.2005.1824>
- JUNIOR, L. P. G. et al. Densidade de estocagem durante a larvicultura do kinguio. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 40, n. 4, p. 597-604, 2018.
- KANEKO, J. J. et al. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press, 2008.
- LEE, J. H. et al. Blood biochemical and hematological study after subacute intravenous injection of gold and silver nanoparticles and coadministered gold and silver nanoparticles of similar sizes. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/8460910>

LUZ, R. K.; ZANIBONI FILHO, E. Larvicultura do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de vida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 560-565, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000300004>

MAHMOUD, U. M. et al. Biochemical response of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) to sublethal concentrations of mercury chloride with supplementation of selenium and vitamin E. **Toxicology and Environmental Health Sciences**, v. 4, n. 4, p. 218-234, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13530-012-0136-3>

MAITA, M. et al. Plasma biochemistry and disease resistance in yellowtail fed a non fish meal diet. **Fish Pathology**, v. 33, n. 2, p. 59-63, 1998. DOI: <https://doi.org/10.3147/jsfp.33.59>

MESSARAH, M. et al. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic-induced liver injury in rats. **Experimental and toxicologic pathology**, v. 64, n. 3, p. 167-174, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.08.002>

Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/bem-estar-animal/arquivos/arquivos-legislacao/in-56-de-2008.pdf>>. Acesso em: 21 Fev.2018

MONA, S. Z. et al. Effect of zinc oxide toxicity on African cat fish *Clarias gariepinus* present in the River Nile (Hawamdya). **Life Science Journal**, v. 10, n. 1, p. 1869-1873, 2013.

MONFARED, A. L.; SOLTANI, S. Effects of silver nanoparticles administration on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histological and biochemical studies. **European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 2, p. 285-289, 2013.

MONTERO, D. et al. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 1, p. 53-60, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1007719928905>

MOTTA, V. T. Bioquímica clínica: princípios e interpretações. **Editora: Médica Massau**, v. 9, 2000.

PALTI, Y. S. et al. Comparative study of biochemical and non-specific immunological parameters in two tilapia species (*Oreochromis aureus* and *O. Mossambicus*). In: **International Symposium on Tilapia Aquaculture**, , Rio de Janeiro, p. 504-511, 2000.

PEREIRA, R. M. et al. Preferência por diferentes ambientes do peixe ornamental japonês (*Caracius auratus*) como mecanismo indicador de bem-estar. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

SANTOS, D. M. et al. Uso de extrato aquoso da folha desidratada de amendoeira (*Terminaliacatappa*) no cultivo de *Betta splendens*. **Pubvet**, v. 7, p. 259-311, 2013.

TELLI, E. M. P. R. et al. Avaliação da atividade de enzimas hepáticas em dependentes, ex-dependentes e não usuários do etanol. **Revista brasileira de análises clínicas**, v. 48, n. 3, p. 245-252, 2016.

THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Ed. Roca, 582p, 2007.

VOLPATO, G. L. Considerações metodológicas sobre os testes de preferência na avaliação do bem-estar em peixes. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 36, p. 53-61, 2007. DOI: • <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000006>

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological reviews**, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>

ANEXOS



RESULTADO DE EXAMES LABORATORIAIS

Laboratório de Bacteriologia de Rotina

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

Ficha: 32754	
Data de recebimento: 18/02/2019	
Propriedade: Laqua/EV-UFMG	
Município: Belo Horizonte	Estado: MG
Solicitante: Maira Lucas	
Material enviado: 3 peixes ornamentais enviados vivos (<i>Cyprinus carpio</i>)	

Exames realizados:

Exame Bacteriológico dos peixes: suabes contendo fragmentos de rim e cérebro foram coletados assepticamente e plaqueados em Agar sangue (ASA) (5%) para pesquisa de bactérias patogênicas. Posteriormente, as placas foram incubadas a 28°C por 72 horas.

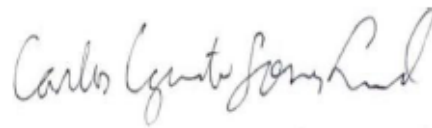
Resultados:

Exame Bacteriológico dos peixes: na tabela são apresentados os resultados dos exames bacteriológicos realizados nos peixes.

Tabela 1: resultados do exame bacteriológico realizado.

Peixe	Resultado da Bacteriologia	Espécie bacteriana
1	Negativo	---
2	Negativo	---
3	Negativo	---

Belo Horizonte, 21 de Fevereiro de 2019.



Carlos Augusto Gomes Leal

Prof. Adjunto III, Dr., Médico Veterinário CRMV-MG nº. 9014

Laboratório de Bacteriologia de Rotina (LBR)

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária

Universidade Federal de Minas Gerais

(31) 3409-2120/carlosleal@vet.ufmg.br