

## **RESPOSTA DE COMPORTAMENTO DE FÊMEAS VERMELHAS DE BETTA A TEMPERATURAS REDUZIDAS**

Larissa Selini Dorce<sup>1</sup>, Annye Campos Venâncio Ferreira<sup>2</sup>, Mayara Schueroff Siqueira<sup>3</sup>, José Guilherme Camargo Coneglian<sup>4</sup>, Klaus Casaro Saturnino<sup>5</sup>, Cláucia Aparecida Honorato<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>M.e. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS. E-mail: larissadorce@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4812-0602>; <sup>2</sup>Med. Vet. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS. E-mail: annyecamposf@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-3559-0606>; <sup>3</sup>M.e. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande – MS. E-mail: mayara\_schueroff@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2309-4743>; <sup>4</sup>Graduando. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados - MS. E-mail: guiconeglian@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7096-860X>; <sup>5</sup>Prof. Dr. Universidade Federal de Jataí (UFJ) - Campus Jatobá (Cidade Universitária), Jataí - GO. E-mail: klaus.sat@ufj.edu.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8493-8669>; <sup>6</sup>Prof<sup>a</sup>. Dra. Universidade Federal Da Grande Dourados (UFGD), Dourados – MS. E-mail: clauciahonorato@ufgd.edu.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7161-4996>.

**RESUMO:** Alterações na temperatura podem modificar o consumo alimentar, a taxa de transporte de oxigênio, a regulação iônica e o equilíbrio ácido-base, provocar a depressão do sistema imunológico e a diminuição da sobrevivência. Com objetivo de avaliar o comportamento e sobrevivência de fêmeas vermelhas de *Betta splendens* submetidas a diminuição de temperatura, 72 espécimes ( $P = 0,983 \pm 0,058g$ ,  $CT = 3,909 \pm 0,268cm$ ) foram aleatoriamente divididos em 24 aquários e aclimatados a 26°C. A temperatura foi gradualmente diminuída em aproximadamente 2°C/h até atingirem as temperaturas de 16, 14, 12 e 10 °C. Os peixes eram mantidos na mesma temperatura por 12h. Os comportamentos foram registrados a cada hora. Não foi observada mortalidade durante o ensaio experimental. Mordidas e perseguições foram observadas nas temperaturas de 14 e 16 °C. Nas temperaturas de 10 e 12 °C observou-se comportamento errático de natação. Os maiores batimentos operculares foram observados para peixes submetidos a temperatura de 12°C e foram diminuindo até a temperatura de 16°C. Desta forma, foi possível demonstrar que a diminuição de temperatura se apresentou como um modulador de comportamento para fêmeas de *Betta splendens*. Além disso, nas condições estipuladas, os espécimes apresentaram-se capazes de sobreviver, demonstrando sua resistência sob tais condições.

**Palavras chaves:** Aquicultura, Bem-estar, Estresse térmico, Fisiologia, Ornamental.

## **BEHAVIORAL RESPONSE OF FEMALE RED *Betta splendens* TO REDUCED TEMPERATURES**

**ABSTRACT:** Changes in temperature can modify food intake, oxygen transport rate, ionic regulation and acid-base balance, causing depression of the immune system and decreased survival. With the aim of evaluating the behavior and survival of red *Betta splendens* females subjected to temperature decrease, 72 specimens ( $P = 0.983 \pm 0.058\text{g}$ ,  $CT = 3.909 \pm 0.268\text{cm}$ ), were randomly divided into 24 aquariums and acclimatized to  $26^{\circ}\text{C}$ . The temperature was gradually decreased by approximately  $2^{\circ}\text{C}/\text{h}$  until reaching temperatures of 16, 14, 12 and  $10^{\circ}\text{C}$ . The fish were kept at the same temperature for 12 hours. Behaviors were recorded every hour. No mortality was observed during the experimental trial. Bites and chases were observed at temperatures of 14 and  $16^{\circ}\text{C}$ . At temperatures of 10 and  $12^{\circ}\text{C}$ , erratic swimming behavior was observed. The highest opercular beats were observed for fish submitted to a temperature of  $12^{\circ}\text{C}$  and decreased until the temperature of  $16^{\circ}\text{C}$ . In this way, it was possible to demonstrate that the decrease in temperature was a behavior modulator for *Betta splendens* females. In addition, under the stipulated conditions, the specimens were able to survive, demonstrating their resistance under such conditions.

**Keywords:** Aquaculture, Wellness, Thermal stress, Physiology, Ornamental.

### **INTRODUÇÃO**

O estudo do comportamento animal pode ser uma ferramenta crucial para a aquicultura (MARTINS et al., 2011). Espécies de peixes de pequeno porte são pouco estudadas devido à dificuldade de coleta de material biológico (DEBOLETO et al., 2020) para as análises comumente utilizadas para detecção de bem-estar e estresse (DA SILVA et al., 2018).

Destaca-se que o peixe beta (*Betta splendens*), dentre os peixes ornamentais, é uma espécie de pequeno porte, de fácil reprodução e manutenção, com variabilidade da base genética (WANZHANG ZHANG et al., 2022). É considerada ícone do aquarismo por sua grande popularidade e aceitação, além um excelente modelo para estudo comportamental (DZIEWECZYNSKI; LEOPARD, 2010; DEBOLETO et al., 2020).

Mudanças no comportamento animal são os primeiros indicadores de mudanças em fatores externos e internos (BERLINGHIERI et al., 2021). Estressores

agudos e crônicos na aquicultura causam mudanças no comportamento do indivíduo e no grupo (WOLFF; DONATTI, 2016), sendo o comportamento de natação um indicativo de bem-estar dos peixes (MARTINS et al., 2011).

Destaca-se que variações de temperatura é um fator que modifica o consumo alimentar (WEN et al., 2017), alterações na taxa de transporte de oxigênio, na regulação iônica e equilíbrio ácidos-base (WOLFF; DONATTI, 2016), além da depressão do sistema imunológico e, conseqüentemente, a diminuição da sobrevivência (JIN et al., 2021). Para manutenção da homeostasia dos peixes é requerido o controle de temperatura que resulta no aumento de custos operacionais. Portanto, a identificação de alterações comportamentais associadas à temperatura, pode ser uma eficiente ferramenta para estudos de adaptações metabólicas dos peixes ornamentais (JIN et al., 2021).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento e sobrevivência de fêmeas vermelhas de *Betta splendens* submetidas à diminuição gradativa de temperatura e manutenção fria por 12 h.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todos os protocolos experimentais de cuidado animal foram aprovados pelo Comitê de ética em experimentação animal da UFGD (CEUA, Protocolo 03/2019).

Espécimes de fêmeas de *Betta splendens* (n=72, P=0,983±0,058g, CT=3,909±0,268cm) foram obtidos de criatório comercial, todas procedentes da mesma desova. Os animais foram aleatoriamente divididos em 24 aquários (5L) e aclimatados a 26°C por 48 horas, sendo alimentadas até a saciedade com dieta comercial.

Após a aclimatação, os grupos experimentais foram submetidos a diminuição progressiva da temperatura e manutenção ao frio (Figura 1), com base em estudo realizado por JIN et al. (2021), modificado. A água dos aquários foi resfriada pela adição de gelo de modo que a taxa de diminuição fosse de aproximadamente 2°C/h, até atingirem as temperaturas de 16, 14, 12 e 10 °C, respectivamente, com os animais

em jejum. A partir da estabilização de cada grupo experimental, estes foram mantidos com as respectivas temperaturas por um período de 12 horas, período este denominado de manutenção fria.

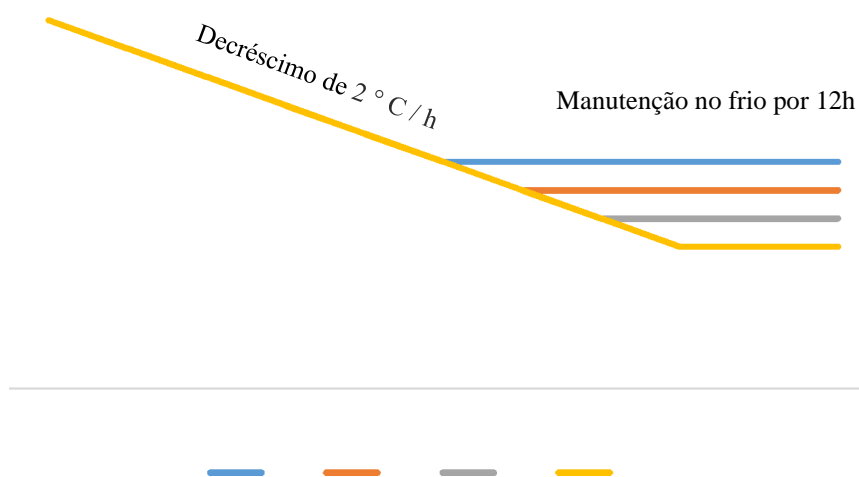


Figura 1. Gráfico demonstrando a metodologia empregada no acompanhamento de *Betta splendens* submetidos a queda de temperatura e manutenção fria por 12 horas. Fonte: Cláucia Aparecida Honorato.

O comportamento dos peixes foi registrado quando atingiram a temperatura de manutenção do frio a cada hora por um período de 12 horas (Tabela 1; Tabela 2), com registro de alterações quanto a observação de lesões provocadas por mordidas, taxa de movimentação opercular, natação errática e perseguição. As alterações observadas foram classificadas quanto à gravidade, sendo (\*) para animais sem alteração comportamental, (+) alteração comportamental leve, (++) alteração comportamental moderada e (+++) para alteração comportamental grave (VANDERZWALMEN et al., 2020). Não foram observadas mortes durante o período experimental. Os parâmetros físico-químicos da água durante os tratamentos foram: pH:  $6,96 \pm 0,51$ ; oxigênio:  $5,2 \pm 1,93$ ; sem diferença significativa entre os tratamentos ( $P > 0,1$ ).

Tabela 1. Etogramas avaliados em fêmeas de *Betta splendens* submetidas a diminuição progressiva e manutenção da temperatura.

<b>Comportamento</b>	<b>Apresentação</b>
Equilíbrio	Perda parcial ou total do equilíbrio do indivíduo.
Letargia	Incapacidade de reagir e de expressar movimentação.
Mordidas	A ocorrência de indivíduos mordendo uns aos outros.
Natação errática	A ocorrência de natação rápida e mudança de direção, irregularidades.
Perseguição	A ocorrência de indivíduos perseguindo uns aos outros

Tabela 2. Variável fisiológica avaliada em fêmeas de *Betta splendens* submetidas a diminuição progressiva e manutenção da temperatura.

Taxa de ventilação opercular	Medida pela contagem visual de 20 movimentos operculares ou bucais sucessivos, medindo o tempo decorrido e, a seguir, calculando a frequência por minuto. (baseado em ALVARENGA; VOLPATO, 1995)
------------------------------	---

Para verificar se os padrões comportamentais são alterados devido a temperaturas, primeiramente foi realizada uma análise de correspondência (AC) (MANLY, 2008), combinando-se as frequências das unidades comportamentais associadas à postura básica e ao agonismo entre os indivíduos dos aquários controle e experimental. Posteriormente, estes foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Para o escore de comportamento foi aplicado o teste de Tukey. Os pressupostos da ANOVA foram examinados por meio dos testes de Shapiro-Wilk para a normalidade dos dados e de Levene's para a homogeneidade das variâncias.

## RESULTADOS

A ocorrência de mordidas e perseguição realizadas no grupo de fêmea de *Betta splendens* submetidas a temperaturas de 14 e 16 °C foram maiores que as observadas nas temperaturas mais baixas. Nas temperaturas de 10 e 12 °C observou-se comportamento errático de natação, perda de equilíbrio e letargia entre os peixes (Tabela 2).

Tabela 3. Classificação das alterações comportamentais observadas em fêmeas de *Betta splendens* submetidas a estresse por diminuição gradativa da temperatura e manutenção por período de 12 horas.

Alterações comportamentais	Temperatura °C			
	10	12	14	16h
Equilíbrio	+++	++	*	*
Letargia	+++	+	*	*
Mordidas	+	+	+++	++
Natação errática	+++	+++	+	*
Perseguição	+	+	+++	+++

(\*) sem sinal clínico, (+) sinal clínico leve, (++) sinal clínico moderado, (+++) sinal clínico grave

Os maiores batimentos operculares foram observados para peixes submetidos a temperatura de 12°C e foram diminuindo até a temperatura de 16°C. Os peixes submetidos a temperatura mais baixa apresentaram os menores valores de batimentos operculares (Figura 2).

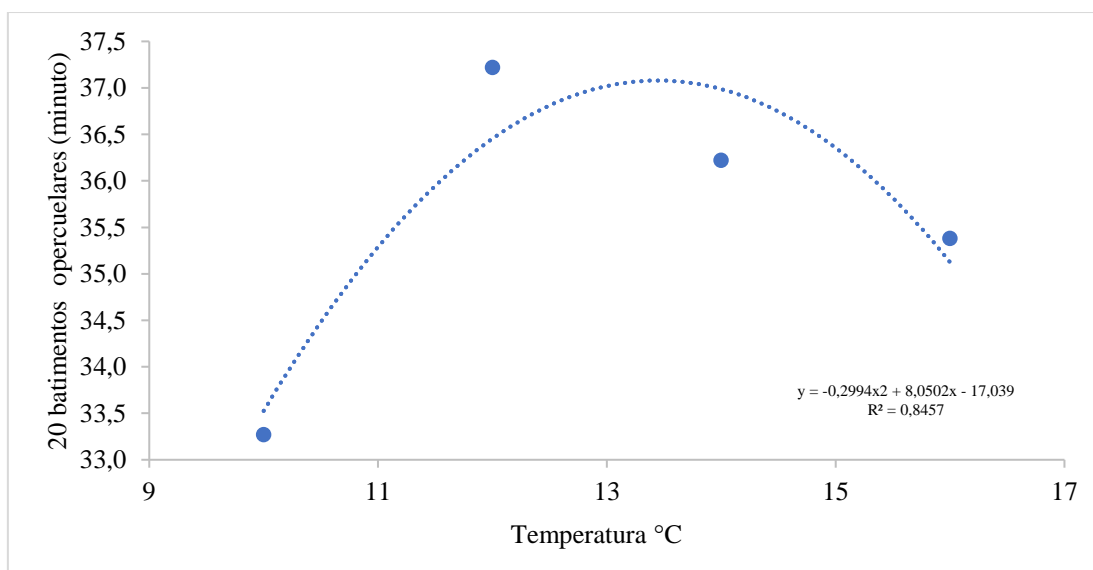


Figura 2. Representação de modelo estatístico quanto aos batimentos operculares de betas de acordo com a variação de temperatura. Fonte: Cláucia Aparecida Honorato.

## DISCUSSÃO

A variação comportamental é uma medida de bem-estar comum, uma vez que, o desvio de comportamentos naturais pode indicar um aumento no estresse, agressão e medo (HUNTINGFORD et al., 2006)

Quando indivíduos são submetidos a alguma reação estressora como o frio nota-se a variação de alguns comportamentos (HU et al., 2016), assim como as fêmeas de *Betta splendens* apresentaram comportamentos alterados de perseguição e mordidas quando submetidas às temperaturas de 14 e 16°C, em comparação com as demais, podendo estar relacionada a ação de hormônios sobre o sistema nervoso central, como a serotonina (BACKSTROM; WINBERG, 2017). Os peixes experimentam estresse pelo frio quando a temperatura da água diminui para seu limite, a temperatura crítica inferior (TCI), que varia de acordo com a espécie. O estresse pelo frio resulta em uma cascata de respostas fisiológicas e comportamentais, desde a secreção de hormônios e neurotransmissores que agem sobre o sistema nervoso central, até a atividade locomotora, exercida pelos músculos (HU et al., 2016). A ocorrência de perda de equilíbrio, letargia dos animais e movimento natatório errático, são geralmente reduzidos em baixas temperaturas, podendo aumentar para um pico em uma temperatura ideal e, em seguida, diminuir quando a temperatura se aproxima do limite térmico superior (KOUOUNDOUROS et al., 2002). A TCI para a espécie alvo ainda não foi definida pela literatura, mas sabe-se que os *bettas* prosperam em águas mais quentes, entre 27,0 e 31,5 °C (WATSON et al., 2019), mas pelos resultados obtidos neste estudo, se estipula que a TCI está entre 12 e 16 °C.

Em relação à taxa de ventilação opercular, os maiores níveis de batimento opercular foram observados em temperatura de 12°C, quando comparados com as demais temperaturas, pois a frequência de ventilação é uma medida fácil de avaliar o metabolismo e, indiretamente os efeitos fisiológicos (WU et al., 2021). É importante se ressaltar que a taxa de ventilação opercular mais baixa foi em temperaturas de 10°C e concomitantemente as alterações comportamentais com os sinais clínicos graves foram nessa temperatura, onde esses animais estavam em ambiente de temperatura

abaixo da TCI, e saindo de sua zona de sobrevivência. As mudanças nos ritmos de ventilações branquiais e metabólicos respiratórios são indicativos de alterações nas condições ambientais ou estados fisiológicos, mostrando a atividade, aclimatação e nível de estresse dos peixes (KAMMERER et al., 2010). Os aumentos na frequência de ventilação branquial nos animais quando estressados indicam que os peixes precisam aumentar o consumo de oxigênio para equilibrar a taxa metabólica (MILLIDINE et al., 2008). Aumentos na taxa de consumo de oxigênio e na frequência de ventilação são induzidos pelo cortisol quando o peixe enfrenta perigo (KAMMERER et al., 2010; WU et al., 2021).

Assim, os resultados obtidos neste experimento promovem dados base, para os cuidados básicos de bem-estar, estresse térmico e TCI para a espécie, que são primordiais. Além de ter demonstrado a correlação entre o estresse térmico, desvio de comportamentos naturais e respostas fisiológicas.

## CONCLUSÃO

A diminuição de temperatura é um modulador do comportamento de fêmeas de *Betta splendens*. Avaliando o comportamento e sobrevivência de fêmeas vermelhas de *Betta splendens* submetidas a diminuição de temperatura ambiente, não se obteve mortalidade em nenhuma das temperaturas.

## REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, C. M. D.; VOLPATO, G. L. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiology & Behavior*, São Paulo, v.57, n.1, p.75-80, jan. 1995. DOI:10.1016/0031-9384(94)00206-k
- BACKSTRÖM, T.; WINBERG, S. Serotonin coordinates responses to social stress-What we can learn from fish. *Frontiers in neuroscience*, Lausanne, v.11, p.595, out. 2017. DOI:10.3389/fnins.2017.00595



BERLINGHIERI, F.; PANIZZON, P.; PENRY-WILLIAMS, I. L.; BROWN, C. Laterality and fish welfare - A review. *Applied Animal Behaviour Science*, Denmark, v.236, p.105239, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2021.105239>

DA SILVA, F. F. G.; JACOBSEN, C.; KJØRSVIK, E.; STØTTRUP, J. G.; TOMKIEWICZ, J. Oocyte and egg quality indicators in European eel: Lipid droplet coalescence and fatty acid composition. *Aquaculture*, Denmark, v.496, p.30-38, nov. 2018. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2018.07.008](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.008)

DEBOLETO S.G.C; SANTOS R.F.B; SOUZA R.M; HONORATO, C. Tolerância crônica de betas (*Betta splendens*) machos a água acrescidas de sal. *Revista Científica Rural*, Bagé, v.22, n.1, p.251–258, mai. 2020. DOI: <https://doi.org/10.30945/rcr-v22i1.2700>

DZIEWECZYNSKI, T. L., & LEOPARD, A. K. *The effects of stimulus type on consistency of responses to conflicting stimuli in Siamese fighting fish. Behavioural Processes*, 85(2), 83–89, jun. 2010. DOI:[10.1016/j.beproc.2010.06.011](https://doi.org/10.1016/j.beproc.2010.06.011)

HU, P.; LIU, M.; LIU, Y.; WANG, J.; ZHANG, D.; NIU, H.; JIANG, S.; WANG, J.; ZHANG, D.; HAN, B.; XU, Q.; CHEN, L. Transcriptome comparison reveals a genetic network regulating the lower temperature limit in fish. *Scientific Reports*, London, v.6, n.1, p.1-12, jun. 2016. DOI:[10.1038/srep28952](https://doi.org/10.1038/srep28952)

HUNTINGFORD, F. A. Fish Behaviour: Determinants and Implications for Welfare. In: Kristiansen, T. S.; Fernö, A.; Pavlidis, M. A.; van de Vis, H. (Eds.). *The Welfare of Fish*. Cham: Springer, 2020. v.20. p.73-110. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-41675-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41675-1_4)

JIN, S. R.; WANG, L.; LI, X. X.; WEN, B.; GAO, J. Z.; CHEN, Z. Z. Integrating antioxidant responses and oxidative stress of ornamental discus (*Symphysodon spp.*) to decreased temperatures: Evidence for species-specific thermal resistance. *Aquaculture*, Shanghai, v.535, p.736375, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736375>

KAMMERER, B. D; CECH, J. J; KÜLTZ, D. Rapid changes in plasma cortisol, osmolality, and respiration in response to salinity stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, San Diego, v.157, n.3, pag.260-265, nov. 2010. DOI:10.1016/j.cbpa.2010.07.009

KOUMOUNDOUROS, G.; SFAKIANAKIS, D. G.; DIVANACH, P.; KENTOURI, M. Effect of temperature on swimming performance of sea bass juveniles. *Journal of Fish Biology*, New Jersey, v.60, n.4, p.923-932, fev. 2002. DOI:10.1111/j.10958649.2002.tb02418.x

MANLY, B.J.F. Métodos estatísticos multivariados: uma introdução. Porto Alegre: Bookman, 2008. 229p.

MARTINS, C. I. M.; SILVA, P. I. M.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; COSTAS, B.; HÖGLUND, E.; ØVERLI, Ø.; SCHRAMA, J. W. Linking Fearfulness and Coping Styles in Fish. *PLoS One*, San Francisco, v.6, n.11, p.28084, nov. 2011. DOI:10.1371/journal.pone.0028084

MIEDEMA, H.M.; COCKRAM, M. S.; DWYER, C. M.; MACRAE, A. I. Behavioural predictors of the start of normal and dystocic calving in dairy cows and heifers. *Applied Animal Behaviour Science*, Edinburgh, v.132, n.1-2, p.14-19, jun. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.03.003>

MILLIDINE, K. J.; METCALFE, N. B.; ARMSTRONG, J. D. The use of ventilation frequency as an accurate indicator of metabolic rate in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ottawa, v.65, n.10, p.2081-2087, set. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1139/F08-118>

VANDERZWALMEN, M.; EDMONDS, E.; CAREY, P.; SNELLGROVE, D.; SLOMAN, K. A. Effect of a water conditioner on ornamental fish behaviour during commercial transport. *Aquaculture*, Oxford, v.514, p.734486, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734486>

WANCHANG ZHANG et al. The genetic architecture of phenotypic diversity in the Betta fish (*Betta splendens*). Science Advances. Vol. 8, eabm4955, set. 2022. DOI:[10.1126/sciadv.abm4955](https://doi.org/10.1126/sciadv.abm4955)

WATSON, Craig; DIMAGGIO, Matthew; HILL, Jeffrey; TUCKETT, Quenton; YANONG, Roy. Evolution, Culture, and Care for Betta splendens. FA212, UF/ IFAS Extension, University of Florida, Mar. 2019. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/>>. Acesso em: 12 jul. 2023.

WEN, B.; JIN, S. R.; CHEN, Z. Z.; GAO, J. Z.; WANG, L.; LIU, Y.; LIU, H. P. Plasticity of energy reserves and metabolic performance of discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) exposed to low-temperature stress. Aquaculture, Shanghai, v.481, p.169-176, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.002>

WOLFF, L. L.; DONATTI, L. Estudo do comportamento do peixe de água doce *Phalloceros harpagos* (*Cyprinodontiformes: Poeciliidae*) submetido à alteração artificial do pH. Luminária, União da Vitória, v.18, n.01, p.10-21. jan/jun. 2016.

WU, S. M.; CHEN, J. R.; CHANG, C. Y.; TSENG, Y. J., PAN, B. S. Potential benefit of I-Tiao-Gung (*Glycine tomentella*) extract to enhance ornamental fish welfare during live transport. Aquaculture, Taipei, v.534, p.736304, mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736304>