



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

BIOFLOCOS *EX-SITU* E GEMA DE OVO COMO
ALIMENTO PARA *Betta splendens*.

Giovanna Rodrigues Stringhetta

CAMPO GRANDE, MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

BIOFLOCOS *EX-SITU* E GEMA DE OVO COMO
ALIMENTO PARA *Betta splendens*.

Giovanna Rodrigues Stringhetta

Orientador: Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh

Tese apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como requisito
à obtenção do título de Doutora
em Ciência Animal.

Área de concentração:
Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

GIOVANNA RODRIGUES STRINGHETTA

Bioflocos *ex-situ* e gema de ovo como alimento para *Betta splendens*

Ex-situ* bioflocs and egg yolk as food for *Betta splendens

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 27-02-2023

BANCA EXAMINADORA:

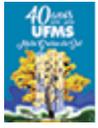
Dr. Jayme Aparecido Povh
(UFMS) – (Presidente)

Dra. Cintia Labussière Nakayama
(UFMG)

Dra. Cristiane Fatima Meldau de Campos
(UEMS)

Dr. Paulo Mário Carvalho de Faria
(UFRN)

Dr. Ruy Alberto Caetano Correa Filho
(UFMS)



Documento assinado eletronicamente por **Cintia Labussière Nakayama, Usuário Externo**, em 27/02/2023, às 21:52, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ruy Alberto Caetano Correa Filho, Professor do Magisterio Superior**, em 28/02/2023, às 09:05, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jayme Aparecido Povh, Professor do Magisterio Superior**, em 28/02/2023, às 09:24, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cristiane Fátima Meldau de Campos Amaral, Usuário Externo**, em 01/03/2023, às 17:42, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **PAULO MARIO CARVALHO DE FARIA, Usuário Externo**, em 26/04/2023, às 12:13, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3875509** e o código CRC **E6E86AC6**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Dedico esta tese ao meu grupo de pesquisa AQUIMS, por todo o empenho, esforço, trabalho e dedicação. Suas conquistas fazem a nossa equipe mais forte. Gratidão!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela estrutura disponibilizada e pela bolsa concedida.

Agradeço aos meus pais, Sandra e Heraldo, e à minha irmã, Giulia, por todo o apoio (emocional e financeiro) aos mais de 13 anos dedicados aos estudos e que agora encerram esse ciclo comigo.

Agradeço aos meus pais “postiços”, Irene e Ricardo, e aos meus irmãos “postiços”, Hevelin e Ricardo Augusto, por estarem sempre comigo em todos os caminhos que escolhi e por me apoiarem até aqui.

Agradeço ao meu “Quarteto Fantástico”, Lucas, Louise e Rebeca pela parceria inigualável. Sem vocês, eu jamais teria chegado até aqui. Obrigada pela amizade e companheirismo. Vocês são a minha maior surpresa na pós-graduação.

Obrigada aos amigos que fiz de forma distante, Thiago, Ricardo e Andréia. Mesmo estando longe, foram sempre muito presentes em todas as etapas percorridas.

Obrigada ao Dr. Maurício Gustavo Coelho Emerenciano por todos os ensinamentos sobre a produção de Tecnologia de Bioflocos. Sempre muito solícito e com muita paciência, me ensinou sobre a ciência do BFT e me proporcionou aprender algo novo.

Obrigada ao meu co-orientador, Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa Filho, pelas sabedorias repassadas na arte da Bioestística e pelas contribuições diretas ao meu trabalho.

Agradeço ao Dr. Jayme Aparecido Povh pela brilhante atuação como meu orientador e gestor do grupo de estudos AQUIMS. A minha jornada foi muito mais leve com seus ensinamentos, sua amizade e parceria. Serei eternamente grata pelo senhor ter sido meu Mestre e Educador.

Agradeço, do fundo do meu coração, pelo grupo AQUIMS ter entrado em minha vida. A vocês, desejo as melhores conquistas e sucesso eterno!

RESUMO

STRINGHETTA, G. R. Bioflocos *ex-situ* e gema de ovo como alimento para *Betta splendens*. 2023. Tese – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar o crescimento e sobrevivência de alevinos *Betta splendens* alimentados com bioflocos *ex-situ* e avaliar os parâmetros de desempenho zootécnico e reprodutivo de bettas adultos alimentados com diferentes níveis de substituição da ração por gema de ovo. *Betta splendens* é uma espécie de peixe de hábito alimentar carnívoro, apresenta preferência por alimentos que se mexam na água, mas se adapta facilmente à alimentação com ração. Levando em consideração os altos custos da farinha de peixe, sendo este componente essencial na fabricação de ração, e de alimentos vivos (como *Artemia* spp.) é necessário buscar alternativas alimentares que supram os requerimentos nutricionais da espécie. O bioflocos, usualmente, apresenta uma composição bromatológica que atende as exigências nutricionais do *B. splendens*, tornando essa tecnologia possível de ser utilizada na alimentação dessa espécie. Além disso, a gema de ovo possui uma composição de ácidos graxos que podem ser utilizados para produção de gametas ou armazenamento de energia durante a reprodução de peixes. Portanto, dois experimentos foram conduzidos com *Betta splendens* para avaliar esses possíveis alimentos substitutos/complementares no desempenho produtivo e reprodutivo da espécie. No primeiro experimento, os peixes receberam cinco diferentes dietas contendo bioflocos (BFT), alimento vivo (LF100), e a junção de ambos os alimentos, com substituição do alimento vivo pela inclusão do bioflocos (LF100+BFT, LF85+BFT e LF70+BFT). Peixes que receberam 15% menos artêmia apresentaram peso final individual mais alto ($P < 0,05$) mas não diferiram dos que foram alimentados com apenas artêmia. Alevinos com maior comprimento final ($P < 0,05$) foram observados no tratamento LF100+BFT. A sobrevivência foi maior ($P < 0,05$) no tratamento com apenas artêmia. Peixes alimentados apenas com BFT obtiveram os piores desempenhos dos grupos. *Betta splendens* suplementados com bioflocos *ex-situ* e redução de alimento vivo apresentaram boa performance e reforçam que o bioflocos *ex-situ* pode ser utilizado para reduzir o uso de alimentos vivos, mantendo o bom desenvolvimento. No segundo experimento, três tratamentos foram adotados: somente ração comercial (R100), substituição com 15% (R85) e com 30% de gema de ovo (R70). Duas reproduções ocorreram, com um intervalo de 30 dias entre elas, sendo avaliados os desempenhos reprodutivos de machos e fêmeas. As fêmeas de todos os tratamentos não desovaram na primeira reprodução; apenas os machos construíram os ninhos. Contudo, apenas as fêmeas que receberam suplementação com gema de ovo desovaram na segunda reprodução. Nos machos, o peso final foi maior ($P < 0,05$) nos peixes que receberam a suplementação com 15% (2,56 g) e 30% (2,83 g) de gema de ovo em relação aos peixes que receberam somente ração (1,95 g). Os tratamentos com inclusão parcial de gema de ovo na dieta de *Betta splendens* foram os únicos em que as fêmeas apresentaram desova, indicando que uma substituição parcial de ração por gema de ovo pode influenciar na reprodução da espécie.

Palavras-chave: Peixes ornamentais. Alimentos alternativos. Náuplios de *Artemia* spp.. Macroagregados, Ninho de bolhas.

ABSTRACT

STRINGHETTA, G. R. *Ex-situ* bioflocs and egg yolk as food for *Betta splendens*. 2023. Thesis – Animal Science Graduate Program, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

The present work aims to evaluate the growth and survival of *Betta splendens* fingerlings fed with biofloc *ex-situ* and to evaluate the zootechnical and reproductive performance parameters of adult bettas fed with different levels of replacement of the ration by egg yolk. *Betta* is a species of fish with a carnivorous eating habit, prefers foods that move in the water, but adapts easily to ration. Taking into consideration the high cost of fish meal, which is an essential component in the manufacture of feed, and live foods (such as *Artemia* spp.), it is necessary to seek food alternatives that meet the nutritional requirements of the species. Bioflocs usually have a bromatological composition that meets the nutritional requirements of *B. splendens*, making this technology possible to be used for feeding this species. In addition, egg yolk has a composition of fatty acids that can be used for gamete production or energy storage during fish reproduction. Therefore, two experiments were conducted with *Betta splendens* to evaluate these possible substitute/complementary foods in the productive and reproductive performances of the species. In the first experiment, the fish received five different diets containing bioflocs (BFT), live food (LF100), and the combination of both foods, replacing the live food with the inclusion of bioflocs (LF100+BFT, LF85+BFT and LF70+BFT). Fish fed 15% less brine shrimp had higher final weight ($P<0.05$) but did not differ from those fed only brine shrimp. Fingerlings with greater final length ($P<0.05$) were observed in the LF100+BFT treatment. Survival was higher ($P<0.05$) in treatment LF100. Fish fed only BFT had the worst performance of the groups. *Betta splendens* supplemented with *ex-situ* bioflocs and live food reduction showed good performance and reinforce that *ex-situ* bioflocs can be used to reduce the use of live food, maintaining good development. In the second experiment, three treatments were adopted: only commercial feed (R100), replacement with 15% (R85) and with 30% (R70) egg yolk. Two reproductions occurred, with an interval of 30 days between them, being evaluated the reproductive performances of males and females. Females of all treatments did not spawn in the first reproduction; only the males built the nests. However, only females that received supplementation with egg yolk spawned in the second reproduction. The final weight of males was higher ($P<0.05$) in fish that received supplementation with 15% (2.56 g) and 30% (2.83 g) of egg yolk compared to fish that received only ration (1.95 g). The treatments with partial inclusion of egg yolk in the diet of *Betta splendens* were the only ones in which the females spawned, indicating that a partial replacement of ration by egg yolk can influence the reproduction of the species.

Keywords: Ornamental fish. Alternative foods. *Artemia* spp. nauplii. Macroaggregates, Bubble nest.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO I..... | 9 |
| INTRODUÇÃO..... | 9 |
| Caracterização da espécie..... | 9 |
| Tecnologia de Bioflocos..... | 10 |
| Bioflocos e peixes ornamentais..... | 12 |
| Gema de ovo de como alimento alternativo para <i>Betta splendens</i> | 13 |
| Reprodução e exigências nutricionais de <i>Betta splendens</i> | 14 |
| Objetivos..... | 15 |
| REFERÊNCIAS..... | 16 |
| | |
| CAPÍTULO II..... | 20 |
| ARTIGO I: Crescimento e sobrevivência de <i>Betta splendens</i> alimentados com agregados microbianos de um sistema de tecnologia de bioflocos (BFT) <i>ex-situ</i> | 20 |
| RESUMO..... | 21 |
| INTRODUÇÃO..... | 22 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| Local e aquisição de peixes..... | 24 |
| Delineamento experimental..... | 25 |
| Monitoramento da qualidade de água..... | 28 |
| Obtenção e caracterização do BFT e dos náuplios de <i>Artemia</i> spp..... | 30 |
| Análise estatística..... | 33 |
| RESULTADOS..... | 33 |
| DISCUSSÃO..... | 36 |
| AGRADECIMENTOS..... | 39 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 39 |
| | |
| CAPÍTULO III..... | 47 |
| ARTIGO II: Reprodução de <i>Betta splendens</i> alimentados com gema de ovo..... | 47 |
| RESUMO..... | 48 |
| INTRODUÇÃO..... | 49 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 50 |
| Local e peixes..... | 50 |

| | |
|------------------------------------|----|
| Delineamento experimental | 51 |
| Variáveis analisadas | 54 |
| Alimentação..... | 55 |
| Análise bromatológica..... | 56 |
| Análise de qualidade de água | 56 |
| Análise estatística | 57 |
| RESULTADOS | 57 |
| DISCUSSÃO | 60 |
| CONCLUSÃO..... | 61 |
| AGREDECIMENTOS | 62 |
| REFERÊNCIAS | 62 |

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Caracterização da espécie

O mercado relacionado aos animais e produtos PET está em constante crescimento no mundo, e o Brasil está em 6º lugar em questão de faturamento, com um total aproximado de US\$ 6,264 bilhões no ano de 2021 (ABINPET, 2022). Ainda segundo este relatório anual, os lares brasileiros possuíam mais de 20 milhões de peixes ornamentais no mesmo ano. Para suprir a crescente demanda por peixes PET pelos brasileiros, mais de 100 espécies de peixes ornamentais têm sido produzidas nos últimos anos no país, dentre elas várias espécies de origem asiática (VALENTI et al., 2021).

Uma dessas espécies asiáticas se destaca entre os aquaristas brasileiros: *Betta splendens*. Suas longas nadadeiras, suas cores chamativas e seu baixo custo de manutenção, fazem com que essa espécie esteja entre as 10 espécies de peixes ornamentais mais comercializadas para os iniciantes do aquarismo no Brasil (GELLER et al., 2020). *Betta splendens* é conhecida por ser rústica, viver em águas rasas e necessitar de baixa quantidade de oxigênio dissolvido no ambiente, por ser da subordem Anabantoidei (família Osphronemidae), a qual inclui peixes capazes de capturar oxigênio do ar atmosférico (APRILIANI; SUPRIYATI; LUTHFI, 2019).

Betta splendens tem hábito alimentar carnívoro, sendo capaz de alimentar de zooplâncton, artêmia, larvas de mosquitos, microvermes e outras fontes (DO COUTO et al., 2018; MONVISES et al., 2009). Esse peixe costuma ser muito atraído pela movimentação na água, tendo interesse em alimentos que se movam ou afundam lentamente no corpo de água (PLEEGING; MOONS, 2017). Apesar de hoje em dia *Betta splendens* já se alimentar com ração, é importante para um melhor crescimento e fecundidade a inclusão de proteína de origem animal na dieta (JAMES; SAMPATH, 2003).

No geral, peixes precisam de até quatro vezes mais proteínas em sua alimentação do que mamíferos, o que encarece ainda mais a composição de suas dietas (DANIEL, 2017). No seu estágio larval e pós-larval, os peixes ornamentais são dependentes de uma alimentação quase exclusivamente natural, o que faz com que produtores dependam da utilização de alimentos vivos na dieta inicial dos peixes, os quais nem sempre estão disponíveis para compra ou produção (MANDAL et al., 2009). Contudo, alguns estudos já observaram que é possível fazer a substituição parcial de alimentos vivos por dietas

34 formuladas sem alterar o crescimento ou a sobrevivência de *B. splendens* (MANDAL et
35 al., 2009; SIPAÚBA-TAVARES et al., 2016).

36

37 ***Tecnologia de Bioflocos***

38 Uma possível fonte de proteína animal capaz de ser utilizada na produção de
39 dietas formuladas para *B. splendens* é o conjunto de agregados microbianos
40 provenientes da tecnologia de bioflocos (BFT). O bioflocos é um conjunto de
41 microrganismos (como bactérias, zooplânctons e fitoplânctons) aderidos à matéria
42 orgânica flutuante que compõem um sistema mais sustentável de criação de peixes e
43 camarões, com o objetivo de mínima ou nenhuma troca de água (EMERENCIANO;
44 GAXIOLA; CUZON, 2013). Para que haja a formação de bioflocos em um sistema
45 fechado de cultivo de peixes ou camarão, é necessário a utilização de fontes de
46 nitrogênio e carbono para a produção e manutenção dos microrganismos, em especial
47 bactérias heterotróficas e quimioautotróficas (ABAKARI; LUO; KOMBAT, 2021;
48 EMERENCIANO et al., 2017).

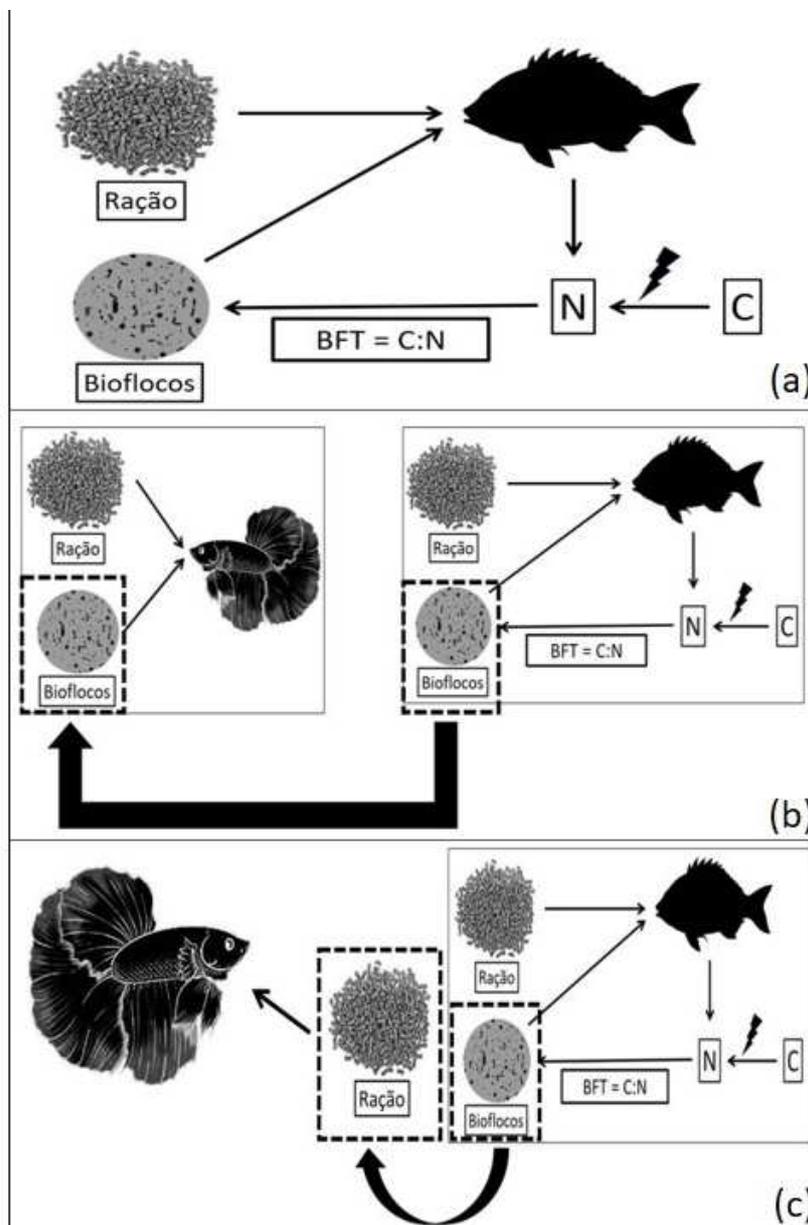
49 O bioflocos é formado da seguinte maneira: os peixes ou camarões inseridos em
50 um sistema fechado (sem renovação de água) se alimentam de ração, que contém
51 proteína entre outros micro e macronutrientes; o nitrogênio proveniente da excreta dos
52 animais (após a metabolização da proteína) é utilizado por diversos organismos para
53 formação de biomassa bacteriana (em sua maioria, heterotróficas e nitrificantes); além
54 disso, outros organismos, como fitoplâncton e zooplâncton, se desenvolvem nesse
55 sistema usufruindo de restos de matéria orgânica e de fontes de carbono, para geração
56 de energia e crescimento; a fonte de carbono (como açúcar, melão e amido) deve ser
57 adicionado ao ambiente de forma a se equilibrar com a quantidade de nitrogênio
58 presente na água, geralmente em uma proporção que pode variar entre 6:1 e 20:1 (C:N).
59 Dessa forma, compostos nitrogenados prejudiciais aos animais são retirados do sistema
60 pelas bactérias quimioautotróficas e zooplânctons, mantendo assim, uma água livre de
61 componentes tóxicos. Ao mesmo tempo, a comunidade microbiana (organismos
62 aeróbicos) presente no meio serve de alimento para peixes e camarões, diminuindo
63 assim, a quantidade de ração a ser ofertada aos animais (AVNIMELECH, 1999; AZIM;
64 LITTLE, 2008; EMERENCIANO; GAXIOLA; CUZON, 2015).

65 Esses conjuntos de elementos vivos flutuantes ou flocos possuem boas
66 quantidades de proteínas e gorduras, ideais para a alimentação de organismos filtrantes
67 (tilápias) e onívoros (camarões), além de possuir bactérias heterotróficas capazes de

68 atuar como probiótico (RAMÍREZ-NÚÑEZ et al., 2019). Sendo assim, alguns
 69 organismos aquáticos podem ser criados diretamente dentro de tanques de produção de
 70 BFT e consumir livremente os agregados (*in-situ*) (DIATIN et al., 2019). Se a espécie
 71 escolhida para a produção não tolerar grande movimentação de água ou elevada
 72 turbidez, os flocos podem ser ofertados *in natura*, sendo produzido por reatores ou outra
 73 espécie tolerante (*ex-situ*), decantados e oferecidos logo em seguida ainda vivos
 74 (MARTÍNEZ-CÓRDOVA et al., 2017). Ainda assim, uma terceira opção é secar essa
 75 matéria de microrganismos e incluí-la em uma dieta formulada para oferecer aos
 76 peixes/camarões em forma de ração (BAUER et al., 2012). As três formas de produção
 77 e utilização de BFT na dieta estão representados na Figura 1.

78

Figura 1. Diferentes formas de utilização do bioflocos. Consumo de bioflocos *in situ* (a): onde o peixe consome ração e flocos produzidos dentro do próprio tanque de criação; Consumo de bioflocos *ex-situ* (b): um tanque com peixes ou um tanque reator produz os flocos para serem ofertados a outros peixes ou espécies de forma *in natura*, como um complemento à ração; Produção de ração com bioflocos (c): proveniente de um tanque com peixes ou tanque reator, onde o floco é coletado, desidratado e incluído na ração que será ofertada para outros peixes ou outras espécies.



79

80 ***Bioflocos e peixes ornamentais***

81 O biofoco já foi utilizado em estudos com outras espécies de peixes
82 ornamentais. Peixes dourado ou goldfish (*Carassius auratus*) quando criado em
83 bioflocos apresenta maiores taxas de crescimento e sobrevivência em relação àqueles
84 criados em água clara (FAIZULLAH et al., 2015). Outro estudo relatou que coridoras
85 bronze (*Corydoras aeneus*) em uma densidade de estocagem de 6000 peixes/m² tiveram
86 bom desempenho em tecnologia de bioflocos (DIATIN et al., 2019). Carpas comuns
87 (*Ciprinus carpio*) obtiveram bons resultados de desenvolvimento em BFT com
88 diferentes regimes alimentares (NAJDEGERAMI; BAKHSHI; LAKANI, 2016) e com
89 biofoco proveniente de diferentes fontes de carbono (CASTRO-MEJÍA et al., 2018). O
90 acará papa-terra (*Geophagus brasiliensis*) também apresentou bons resultados de
91 desempenho zootécnico em sistema de criação em BFT (HONORATO et al., 2021).

92 A aquicultura está crescendo constantemente e, conseqüentemente, aumenta-se
93 a demanda por farinha de peixe, item essencial para produção de ração para peixes e
94 com alto valor de mercado (ZAFAR; RANA, 2022). O bioflocos se apresenta como um
95 alimento alternativo, ainda apresentando importante composição nutricional para peixes
96 e, contribuindo para transformar a piscicultura em uma atividade mais sustentável, ainda
97 que altamente produtiva (HALIM; NAHAR; NABI, 2019). Portanto, utilizar BFT na
98 produção de peixes ajuda a reduzir custos com dietas comerciais, diminuindo a
99 conversão alimentar, aumentando as taxas de sobrevivência e, dessa forma, otimizando
100 a rentabilidade do cultivo (KHANJANI; SHARIFINIA, 2020).

101 O biofoco *ex-situ* pode ser feito em tanques “biorreatores”, sem a necessidade
102 de se utilizar uma espécie adaptada, fazendo com que esse floco possa ser produzido em
103 maior concentração e retirado para ser servido aos animais da criação de forma fresca
104 ou adicionado na dieta (WALKER; SUAZO; EMERENCIANO, 2020). Sabe-se que
105 esse floco *ex-situ* pode ser um substituto da farinha de peixe e da farinha de soja, sendo
106 uma rica fonte de proteína para se incorporar, por exemplo, na ração de camarões
107 (KUHN et al., 2009). Ainda há poucos estudos que mostrem as vantagens de se utilizar
108 o floco *in natura* (UAWISETWATHANA; SITUMORANG; ARAYAMETHAKORN,
109 2021), sendo que a maioria dos trabalhos ainda prefere utilizar os flocos secos incluídos
110 na dieta (MENAGA et al., 2019). No caso do beta, a espécie é atraída pela
111 movimentação do alimento na água (PLEEGING; MOONS, 2017), e é possível que o
112 bioflocos oferecido *in natura* pode se apresentar como uma opção de alimento.

113 *Betta splendens* necessita em torno de 35% de proteína na composição da ração
114 para um bom desenvolvimento e bons resultados reprodutivos (JAMES; SAMPATH,
115 2003). Levando em consideração que o bioflocos pode apresentar de 20 a 49% de
116 proteína em seu conteúdo (KHANJANI; SHARIFINIA, 2020), o BFT pode ser um
117 possível alimento para *B. splendens*. Em contrapartida, deve-se levar em consideração
118 que essa espécie habita águas lânticas e pobres em oxigenação (FARIA et al., 2006), o
119 que não o tornaria ideal para produção *in situ* no BFT. Os flocos ricos em matéria
120 orgânica e microrganismos aeróbicos necessitam grandes quantidades de oxigênio e
121 constante movimentação, a fim de se evitar acúmulo de sedimentos, regiões anóxicas e
122 morte do bioflocos (EMERENCIANO et al., 2017).

123

124 ***Gema de ovo como alimentos alternativos para Betta splendens***

125 Outra possível sugestão de alimento alternativo é a gema de ovo de galinha,
126 rica em gorduras, contendo também aminoácidos, vitaminas e minerais
127 (BERTECHINI; MAZZUCO, 2013). A composição do ovo de galinha varia de acordo
128 com espécie e idade do animal, ambiente de produção e alimento que o animal recebe
129 durante o período de postura (DALLE ZOTTE et al., 2021; KRUNT; ZITA; KRAUS,
130 2021). Sua composição de lipídios e fosfolipídios, inseridas na alimentação de peixes,
131 pode ser interessante no auxílio da produção de gametas, principalmente durante a
132 vitelogênese, período em que há deposição de gorduras no ovócito (KUNZ, 2004;
133 READING et al., 2018).

134 Os reprodutores contínuos mobilizam nutrientes, provenientes da dieta
135 ingerida, para a produção de gametas (FERNÁNDEZ-PALACIOS et al., 1995). Por
136 exemplo, existe uma correlação entre a presença de vitamina E nos ovócitos de peixe
137 e bons resultados de reprodução (PALACE; WERNER, 2006). Sabe-se que a gema
138 contém 100% da vitamina E presente no ovo de galinha (BERTECHINI; MAZZUCO,
139 2013), o que a torna um bom alimento para a reprodução de betas. Mandal et al.
140 (2013) corroboram este fato, com um estudo que mostra que betas que receberam
141 dietas contendo níveis de vitamina E tiveram melhores resultados reprodutivos.

142 Não há muitos trabalhos na literatura sobre a utilização da gema de ovo na
143 alimentação de peixes, e nenhum trabalho sobre a sua utilização durante o período
144 reprodutivo de peixes foi encontrado. Matielo et al. (2019) utilizaram cinco tipos
145 diferentes de alimentos na fase inicial de vida do *Betta splendens* encontrando uma
146 melhor taxa de crescimento específico para larvas alimentadas com gema de ovo

147 cozida. Entretanto, os autores elegeram os náuplios de artêmia como o melhor
148 alimento na fase inicial, considerando a gema de ovo como um bom substituto.

149 Piaia e Radüns Neto (1997) não recomendaram a utilização de gema de ovo
150 cozida para a fase inicial de *Rhamdia quelen*, por alterar a qualidade de água em
151 demasia e causar maiores índices de mortalidade. Contudo, Kim (2007) observou que
152 a gema de ovo foi importante para manter a sobrevivência de larvas de *Betta*
153 *splendens* até o 11º dia de vida, porém constatando que os náuplios de artêmia
154 promoveram melhor desempenho zootécnico e sobrevivência em todo o período
155 experimental. Portanto, a gema de ovo ainda se mostra um importante substituto de
156 alimento vivo para betas, desde que a forma oferecida venha a causar menor impacto
157 na qualidade de água, como é o caso da gema cozida e posteriormente desidrata.

158

159 ***Reprodução e exigências nutricionais de Betta splendens***

160 Para se fazer uma avaliação de uma reprodução de bettas, é necessário realizar
161 a análise de algumas variáveis, tanto ligadas aos machos, como às fêmeas. Além de
162 parâmetros zootécnicos, como peso, comprimento total e sobrevivência, também
163 devemos avaliar a área de ninho produzida pelo macho, quantidade e tamanho de ovos
164 postos pelas fêmeas.

165 Fêmeas de *Betta splendens* alimentadas com dietas contendo 35% de proteína
166 de origem animal produziram maiores quantidades de ovos, com mais larvas viáveis
167 nascidas (JAMES; SAMPATH, 2003). A alimentação com organismos vivos e com
168 até 25% de substituição por dieta formulada tiveram resultados parecidos em relação
169 à quantidade de ovos fertilizados de fêmeas de *Betta splendens*, mostrando que ração
170 pode ser incluída na dieta das fêmeas e ser benéfica na reprodução (MANDAL et al.,
171 2010).

172 O tamanho do ovo produzido pela fêmea depende de vários fatores
173 relacionados a condições fisiológicas da reprodutora (como idade e peso) e
174 características do ambiente que está inserida (BROOKS; TYLER; SUMPTER, 1997).
175 O tamanho desse gameta está ligado diretamente com a fertilidade e a capacidade de
176 eclosão (COLEMAN; GALVANI, 1998). Em um estudo conduzido por Giannecchini
177 et al. (2012) o fotoperíodo influenciou na produção e tamanho de ovos de *Betta*
178 *splendens*, sendo encontrado maior número e volume de ovos produzidos em dois
179 fotoperíodos diferentes (16 h de luz/ 8 h escuro e 12 h de luz/ 12 h escuro).

180 As bolhas provenientes do ninho produzido pelo macho, com ou sem estímulo
181 visual de fêmeas, são produzidas dentro do aparato bucal dos peixes, pelo órgão
182 faríngeo, e são compostas por glicoproteínas (KANG; LEE, 2010). Os mesmos
183 autores enfatizam que a função primordial das bolhas são promover oxigênio e
184 nutrição durante a embriogênese. Portanto, ninhos maiores e de boa qualidade tendem
185 a permitir uma maior qualidade da prole. Por isso é importante avaliar a relação entre
186 área e perímetro do ninho, cujo o valor permite diferenciar o formato dos ninhos, onde
187 quanto menor o valor, mais compridos e irregulares são os ninhos. Harlioglu e Yonar
188 (2008) avaliaram a importância de características ambientais e o tamanho de machos
189 de *Betta splendens* sobre a produção de ninhos e notaram uma fraca, porém presente
190 correlação entre o tamanho do ninho e o comprimento do peixe. Malawa et al.(2022)
191 constataram que a inclusão de extrato de folha de amêndoa indiana (*Terminalia*
192 *catappa*) na concentração de 25 g L⁻¹ promoveu melhor criação de ninhos pelos
193 machos de *Betta splendens*.

194

195 **Objetivos**

196 O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da inclusão dos alimentos
197 alternativos, bioflocos e gema de ovo, na dieta do *Betta splendens*, e suas influências no
198 desempenho e reprodução da espécie, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- 199
200
201 ABAKARI, G.; LUO, G.; KOMBAT, E. O. Dynamics of nitrogenous compounds and
202 their control in biofloc technology (BFT) systems: A review. **Aquaculture and**
203 **Fisheries**, v. 6, n. 5, p. 441–447, 2021.
204
205 ABINPET. **Mercado PET Brasil 2022**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em:
206 <[https://abinpet.org.br/wp-](https://abinpet.org.br/wp-content/uploads/2022/08/abinpet_folder_dados_mercado_2022_draft3_web.pdf)
207 [content/uploads/2022/08/abinpet_folder_dados_mercado_2022_draft3_web.pdf](https://abinpet.org.br/wp-content/uploads/2022/08/abinpet_folder_dados_mercado_2022_draft3_web.pdf)>.
208
209 APRILIANI, N. S.; SUPRIYATI, H.; LUTHFI, M. J. Histological study of respiratory
210 organ of *Betta* sp. **Proceeding International Conference on Science and**
211 **Engineering**, v. 2, p. 181–184, 2019.
212
213 AVNIMELECH, Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture
214 systems. **Aquaculture**, v. 176, n. 3–4, p. 227–235, 1999.
215
216 AZIM, M. E.; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water
217 quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis*
218 *niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, n. 1–4, p. 29–35, 2008.
219
220 BAUER, W. et al. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein
221 concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**,
222 v. 342–343, n. 1, p. 112–116, 2012.
223
224 BERTECHINI, A. G.; MAZZUCO, H. THE TABLE EGG : A REVIEW Ovo de
225 consumo : uma revisão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 37, n. 2, p. 115–122, 2013.
226
227 BROOKS, S.; TYLER, C. R.; SUMPTER, J. P. Egg quality in fish: What makes a
228 good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 7, n. 4, p. 387–416, 1997.
229
230 CASTRO-MEJÍA, J. et al. Weight gain comparison in *Cyprinus carpio* (Linnaeus ,
231 1758) cultured in a biofloc system with four different carbon sources. **International**
232 **Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, n. 6, p. 11–15, 2018.
233
234 COLEMAN, R. M.; GALVANI, A. P. Egg Size Determines Offspring Size in
235 Neotropical Cichlid Fishes (Teleostei : Cichlidae) Published by : American Society of
236 Ichthyologists and Herpetologists Egg Size Determines Offspring Size in Neotropical
237 Cichlid Fishes (Teleostei : Cichlidae). **Copeia**, v. 1998, n. 1, p. 209–213, 1998.
238
239 DALLE ZOTTE, A. et al. Is the farming method (cage, barn, organic) a relevant factor
240 for marketed egg quality traits? **Livestock Science**, v. 246, p. 104453, 2021.
241
242 DANIEL, N. Status of aquaculture with respect to nutrition and feed. **International**
243 **Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 5, n. 1, p. 333–345, 2017.
244
245 DIATIN, I. et al. Biofloc technology on the intensive aquaculture of bronze corydoras
246 ornamental fish *Corydoras aeneus* with different stocking densities. **Jurnal**
247 **Akuakultur Indonesia**, v. 18, n. 2, p. 202–213, 2019.
248

249 DO COUTO, M. V. S. et al. Effects of live feed containing *Panagrellus redivivus* and
250 water depth on growth of *Betta splendens* larvae. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 8,
251 p. 2671–2675, 2018.

252

253 EMERENCIANO, M. G. C. et al. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water
254 Quality Management in Aquaculture. In: TUTU, H.; GROVER, B. P. (Eds.). . **Water**
255 **Quality**. Rijeka, Croatia: InTech, 2017. p. 91–109.

256

257 EMERENCIANO, M. G. C.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology (BFT):
258 a review for aquaculture application and animal food industry. In: MATOVIC, M. D.
259 (Ed.). . **Biomass Now - Cultivation and Utilization**. Rijeka, Croatia: InTech, 2013. p.
260 301–328.

261

262 EMERENCIANO, M.; GAXIOLA, G.; CUZON, G. Biofloc Technology applied to
263 shrimp broodstock. In: AVNIMELECH, Y. et al. (Eds.). . **Biofloc Technology - a**
264 **practical guide book**. Third ed. Baton Rouge, Louisiana, USA: The World
265 Aquaculture Society, 2015. p. 215–228.

266

267 FAIZULLAH, M. M. et al. Impact of Bioloc Technology on the Growth of Goldfish
268 Young Ones. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 8, n. 13, p. 1–8, 2015.

269

270 FARIA, P. M. C. et al. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan
271 1910). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 134–149, 2006.

272

273 FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. et al. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on
274 egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v. 132, p. 325–
275 337, 1995.

276

277 GELLER, I. V. et al. Aquarismo no Brasil: do simples ao complexo e o descarte de
278 espécies não nativas. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, v. 1, n. 131, p. 33–
279 52, mar. 2020.

280

281 GIANNECCHINI, L. G.; MASSAGO, H.; FERNANDES, J. B. K. Effects of
282 photoperiod on reproduction of Siamese fighting fish *Betta splendens*. **Revista**
283 **Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 821–826, 2012.

284

285 HALIM, M. A.; NAHAR, S.; NABI, M. M. Biofloc technology in aquaculture and its
286 potentiality: A review. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 7,
287 n. 5, p. 260–266, 2019.

288

289 HARLIOGLU, M. M.; MISE YONAR, S. The Importance of Temperature , Individual
290 Size and Habitat Arrangement on the Bubble Nest Construction of Siamese Fighting.
291 **International Journal of Science & Technology**, v. 3, n. 1, p. 53–58, 2008.

292

293 HONORATO, L. et al. Assessment of the cultivation parameters of the pearl cichlid
294 *Geophagus brasiliensis* in biofloc and clear water systems. **Journal of Applied**
295 **Ichthyology**, v. 37, p. 950–956, 2021.

296

297 JAMES, R.; SAMPATH, K. Effect of animal and plant protein diets on growth and
298 fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (Regan). **The Israeli Journal of**

299 **Aquaculture - Bamidgeh**, v. 55, n. 1, p. 39–52, 2003.
300
301 KANG, C. K.; LEE, T. H. The pharyngeal organ in the buccal cavity of the male
302 Siamese fighting fish, *Betta splendens*, supplies mucus for building bubble nests.
303 **Zoological Science**, v. 27, n. 11, p. 861–866, 2010.
304
305 KHANJANI, M. H.; SHARIFINIA, M. Biofloc technology as a promising tool to
306 improve aquaculture production. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 1836–1850, 2020.
307
308 KIM, C. Y. **Efeito de Dietas e Altura da Coluna d ' Água na Sobrevivência de**
309 **Larvas de *Betta splendens* e o Aporte de Nitrogênio e Fósforo**. [s.l.] Universidade
310 Estadual Paulista, 2007.
311
312 KRUNT, O.; ZITA, L.; KRAUS, A. Various hen housing systems determine different
313 egg quality. **Acta Fytotechnica et Zootechnica**, v. 24, n. 3, p. 219–225, 2021.
314
315 KUHN, D. D. et al. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and
316 soybean protein in shrimp feed. **Aquaculture**, v. 296, n. 1–2, p. 51–57, 2009.
317
318 KUNZ, Y. W. **Developmental Biology of Teleost Fishes**. Dublin: Springer, 2004.
319
320 MALAWA, S. et al. Addition of different concentrations of Indian almond
321 (*Terminalia catappa*) leaf extract to aquarium water resulted in improved water
322 quality and increased bubble nest formation by male Siamese fighting fish (*Betta*
323 *splendens*) without having any co. **Aquaculture International**, p. 3269–3288, 2022.
324
325 MANDAL, S. C. et al. Substitution of live feed by formulated diet: effect on the
326 growth and survival of *Betta splendens* (Regan) fry. **Journal of the Indian Fisheries**
327 **Association**, v. 36, p. 55–64, 2009.
328
329 MANDAL, S. C. et al. Replacement of live feed by formulated feed: effect on the
330 growth and spawning performance of Siamese fighting fish (*Betta splendens*, Regan,
331 1910). **Aquaculture Research**, v. 41, n. 11, p. 1707–1716, 2010.
332
333 MANDAL, S. C. et al. Effects of dietary vitamin E and eicosapentaenoic and
334 docosahexaenoic acids on reproduction and gonadal fatty acid composition in *Betta*
335 *splendens*. **Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh**, v. 65, n. 1, 2013.
336
337 MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R. et al. From microbes to fish the next revolution in
338 food production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 287–295, 2017.
339
340 MATIELO, M. D. et al. Five different foods in initial development of siamese fighting
341 fish (*Betta splendens*). **AAFL Bioflux**, v. 12, n. 5, p. 1755–1761, 2019.
342
343 MENAGA, M. et al. Effect of in-situ and ex-situ biofloc on immune response of
344 Genetically Improved Farmed Tilapia. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 92, n.
345 June, p. 698–705, 2019.
346
347 MONVISES, A. et al. The Siamese fighting fish: well-known generally but little-
348 known scientifically. **ScienceAsia**, v. 35, n. 1, p. 8–16, 2009.

349 NAJDEGERAMI, E. H.; BAKHSHI, F.; LAKANI, F. B. Effects of biofloc on growth
350 performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp
351 (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system. **Fish Physiology and**
352 **Biochemistry**, v. 42, n. 2, p. 457–465, 2016.

353
354 PALACE, V. P.; WERNER, J. Vitamins A and E in the maternal diet influence egg
355 quality and early life stage development in fish: A review. **Scientia Marina**, v. 70, n.
356 SUPPL. 2, p. 41–57, 2006.

357
358 PIAIA, R.; RADÜNS NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o
359 desempenho inicial de larvas de jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v. 27, p. 319–
360 323, 1997.

361
362 PLEEGING, C. C. F.; MOONS, C. P. H. Potential welfare issues of the Siamese
363 fighting fish (*Betta splendens*) at the retailer and in the hobbyist aquarium. **Vlaams**
364 **Diergeneeskundig Tijdschrift**, v. 86, p. 213–223, 2017.

365
366 RAMÍREZ-NÚÑEZ, J. et al. Biofloc excess as raw material for flakes production to
367 ornamental fish and their use as organic fertilizer (liquid or dry) for plants.
368 **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 7, n. 6, p. 31–38, 2019.

369
370 READING, B. J. et al. Oogenesis and egg quality in Finfish: Yolk formation and other
371 factors influencing female fertility. **Fishes**, v. 3, n. 45, p. 1–28, 2018.

372
373 SIPAÚBA-TAVARES, L. H. et al. Feed of Siamese fighting fish, *Betta splendens*,
374 (Regan, 1910) in open pond: live and formulated diets. **Brazilian Journal of Biology**,
375 v. 76, n. 2, p. 292–299, 2016.

376
377 UAWISETWATHANA, U.; SITUMORANG, M. L.; ARAYAMETHAKORN, S.
378 Supplementation of ex-situ biofloc to improve growth performance and enhance
379 nutritional values of the Pacific white shrimp rearing at low salinity conditions.
380 **Applied Sciences**, v. 11, p. 4598, 2021.

381
382 VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture**
383 **Reports**, v. 19, n. December 2020, p. 100611, 2021.

384
385 WALKER, D. A. U.; SUAZO, M. C. M.; EMERENCIANO, M. G. C. Biofloc
386 technology: principles focused on potential species and the case study of Chilean river
387 shrimp *Cryphiops caementarius*. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 1759–1782, 2020.

388
389 ZAFAR, A.; RANA, M. Biofloc technology : na eco-friendly “ green approach ” to
390 boost up aquaculture production. **Aquaculture International**, v. 30, n. 1, p. 51–72,
391 2022.

CAPÍTULO II
ARTIGO I

392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425

**Crescimento e sobrevivência de *Betta splendens* alimentados com agregados
microbianos de um sistema de tecnologia de bioflocos (BFT) *ex-situ***

*Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Tropical Animal Health and
Production*

426 **Resumo:** o presente trabalho objetiva avaliar o crescimento e sobrevivência de alevinos
427 de *Betta splendens* alimentados com bioflocos *ex-situ*. Um total de 375 alevinos ($8,3 \pm$
428 $4,1$ mg) foram distribuídos em 25 caixas de plásticos, com 15 litros de volume útil. O
429 experimento teve uma duração de 16 dias e cinco tratamentos foram aplicados: (i)
430 apenas alimento vivo (LF100), (ii) apenas bioflocos (BFT), (iii) alimento vivo
431 suplementado com bioflocos (LF100+BFT), e (iv) redução de 15 e (v) 30% de alimento
432 vivo suplementado com bioflocos (LF85+BFT e LF70+BFT, respectivamente). Os
433 peixes foram alimentados duas vezes por dia com náuplios de artêmia (*Artemia* spp.)
434 recém eclodidos e/ou bioflocos fresco. Ao fim do experimento o peso (g), comprimento
435 total (cm) e sobrevivência foram analisados. Peixes que receberam 15% menos alimento
436 vivo suplementados com bioflocos (LF85+BFT) apresentaram o maior peso final
437 ($P < 0,05$), mas não diferiram dos peixes dos tratamentos LF ou LF100+BFT. Peixes com
438 comprimento final maior ($P < 0,05$) foram observados no tratamento LF100+BFT em
439 relação a outros. A sobrevivência foi maior ($P < 0,05$) no tratamento LF em relação aos
440 outros tratamentos. O tratamento BFT teve os piores resultados para todas as variáveis
441 analisadas. *Betta splendens* suplementado com bioflocos *ex-situ* e redução de alimento
442 vivo apresentaram desempenho comparativo e destacam que bioflocos *ex-situ* pode ser
443 usado como uma ferramenta para reduzir o uso de alimento vivo, mantendo a
444 performance.

445

446 **Palavras-chave:** Peixes ornamentais, alimentos alternativos, náuplios de *Artemia* spp.,
447 macroagregados.

448 **Introdução**

449 O peixe de briga ou beta (*Betta splendens*) é uma espécie de peixe ornamental
450 carnívora do sudeste da Ásia, habita regiões alagadas com baixa coluna de água, assim
451 como pântanos, lagos e arrozais, e tolera uma larga faixa de temperatura (Faria et al.,
452 2006). É da subordem Anabantoidei, sendo um peixe de respiração aérea e adaptado
453 para águas pouco oxigenadas (Apriliani et al., 2019). Alimentos vivos são importantes
454 para a boa saúde e desenvolvimento do beta, principalmente nos primeiros três meses
455 de vida, e as pós-larvas e alevinos podem ser alimentados com diferentes tipos de
456 zooplâncton, como por exemplo, *Daphnia* spp., *Artemia* spp. e *Moina* spp. (Daug,
457 1967; Monvises et al., 2009).

458 Em geral, produtores de peixes ornamentais tendem a criar os peixes utilizando
459 *água verde* (água fertilizada), a qual é uma maneira de oferecer alimento vivo (*ex.*
460 zooplâncton) para larvas e alevinos sem depender completamente de rações (Zuanon et
461 al., 2011). Produtores de beta geralmente também incluem náuplios de artêmia (*Artemia*
462 spp.) na dieta dos peixes, sendo, não apenas uma excelente fonte de proteína, como
463 também uma forma viável de adicionar outros macro e micronutrientes através do
464 processo de enriquecimento (Radhakrishnan et al., 2019). Infelizmente, cistos de
465 artêmia possuem altos custos, adicionando ainda mais aos custos com alimentação, e
466 isso acontece principalmente pelo alto valor de fontes de proteína que são incluídos nas
467 dietas (Daniel, 2017; Faizullah et al., 2019).

468 Um possível alimento substituto ou complementar que poderia ser utilizado na
469 nutrição de betas são agregados microbianos da produção de bioflocos. A tecnologia de
470 bioflocos (BFT) é um tipo de aquicultura sustentável, com zero troca de água, na qual o
471 nitrogênio é reciclado em proteína microbiana (Emerenciano et al., 2013). O floco
472 gerado é composto de bactéria, zooplâncton, microalgas, matéria orgânica e outros

473 componentes que servem como alimento para outros organismos aquáticos, como os
474 peixes e camarões (Faizullah et al., 2019). Bioflocos pode ser oferecido aos peixes de
475 três diferentes formas: *in situ*; onde o peixes comem o floco livremente no tanque de
476 cultivo; Diatin et al., 2019), *ex-situ*; quando os agregados são coletados de um tanque
477 de cultivo de bioflocos e oferecidos aos peixes como alimento fresco (Martínez-Córdova
478 et al., 2017), ou incorporado em rações como um ingrediente (*ex. farinha de bioflocos*)
479 (Bauer et al., 2012).

480 Como os betas geralmente habitam águas calmas, como os arrozais, não é
481 aconselhável cria-los em tanques com BFT, levando em consideração que esse sistema
482 de aquicultura necessita constante aeração e movimento para evitar sedimentação de
483 partículas e zonas anóxicas no tanque de cultivo (Emerenciano et al., 2017). Desta
484 forma, para evitar estresse, a melhor forma de se ofertar o bioflocos é na forma *ex-situ*,
485 como um alimento fresco adicional. *Betta splendens* precisam de 35% de proteína em
486 sua dieta para obter um máximo de crescimento e de parâmetros reprodutivos (James
487 and Sampath, 2003) e o bioflocos pode ter entre 20 e 49% de proteína em sua
488 composição (Khanjani and Sharifinia, 2020) .

489 Além disso, em comparação com peixes criados para consumo humano, peixes
490 ornamentais tem um maior custo por unidade (Satam et al., 2018). Esse fator de mercado
491 enfatiza a necessidade do controle de mortalidade durante a produção, considerando que
492 mais peixes tornam a atividade mais lucrativa. Portanto, providenciar um bom ambiente
493 para a espécie juntamente à uma nutrição adequada de bom custo-benefício irão garantir
494 melhor crescimento e taxas de sobrevivência (Pleeging and Moons, 2017). Portanto,
495 objetivamos avaliar o crescimento e sobrevivência de alevinos de *Betta splendens*
496 alimentados com bioflocos *ex-situ*.

497

498 **Material e Métodos**

499 **Local e aquisição de peixes**

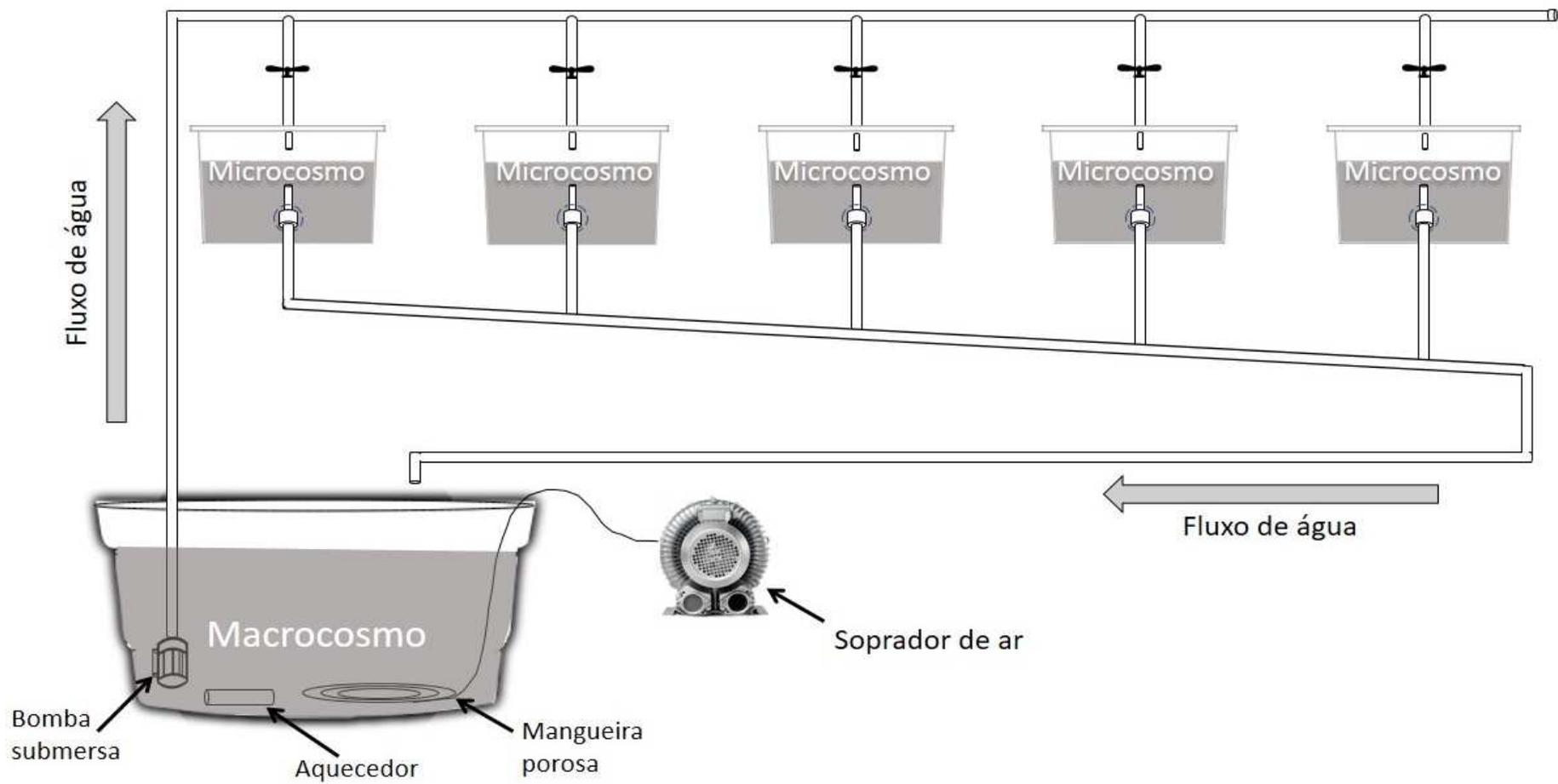
500 O experimento foi realizado na Estação Experimental de Piscicultura da
501 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, estado do Mato
502 Grosso do Sul, Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal
503 (UFMS, protocolo No 1.164/2021).

504 Dois casais de betas adultos (dois machos e duas fêmeas) foram reproduzidos
505 para a obtenção das larvas para o experimento. Os betas adultos foram comprados
506 comercialmente e mantidos no laboratório em aquários individuais de seis litros com
507 água doce (sifonagem de resíduos e troca de 80% da água a cada dois dias usando água
508 de torneira declorada) até o dia da reprodução. Dois aquários de 10 L, com 5 L de
509 volume útil, foram utilizados para a reprodução. Um pedaço de isopor (8 x 15 x 1 cm)
510 foi colocado em cada aquário de reprodução, para que os machos pudessem construir o
511 ninho de bolhas. Após 48 h, os ninhos de bolhas já estavam posicionados embaixo do
512 isopor, e uma fêmea foi colocada em cada aquário para a realização do abraço nupcial.
513 O cortejo foi monitorado constantemente, para que as fêmeas fossem retiradas dos
514 aquários assim que o macho cessasse os abraços nupciais.

515 Todas as larvas foram mantidas no aquário de reprodução por três dias após
516 eclosão, para cuidado parental e durante o período de assimilação das reservas
517 vitelínicas. Assim, eles foram contados e distribuídos de forma aleatória e igualmente
518 distribuídos em quatro caixas plásticas de 30 L, em um sistema semi-estático, para
519 manutenção até o início do experimento. Os alevinos foram alimentados com náuplios
520 de artêmia três vezes ao dia *ad libitum*. Cinquenta por cento do volume de água foi
521 trocado com água doce limpa e os resíduos sifonados a cada três dias para evitar
522 acúmulo de compostos nitrogenados.

523 **Delineamento experimental**

524 Para desenvolver o experimento de 16 dias, 375 alevinos de *Betta splendens* (13
525 dias de idade, $8,3 \pm 4,1$ mg de peso médio e $0,8 \pm 0,14$ cm de comprimento total médio)
526 foram distribuídos aleatoriamente em 25 unidades experimentais (caixas plásticas
527 cobertas de 29 L com 15 L de volume útil, denominadas microcosmos). Cada grupo de
528 cinco tanques estava conectado a um tanque de 500 L (410 L de volume útil,
529 denominados macrocosmos), totalizando cinco sistemas de circulação e cada sistema
530 representando um tratamento (Figura 1). As unidades experimentais foram alocadas
531 adotando o modelo “macrocosmo-microcosmo” com circulação de água apenas para
532 facilitar a troca de água (Durigon et al., 2019; Sgnaulin et al., 2021). Cada macrocosmo
533 continha uma bomba submersa (Boyu-jad Fp-58 2500 L/h), um aquecedor com
534 termostato (300 watts Roxin HT-1900) e aeração constante com mangueira porosa
535 (soprador de 1,5 HP). O fotoperíodo permaneceu 12 h luz e 12 horas escuro durante o
536 experimento (Sales et al., 2016).



537
538
539

Figura 1. Representação do sistema de circulação macrocosmo-microcosmo onde cada sistema representava um tratamento. O sistema foi utilizado para facilitar trocas de águas após a sifonagem das unidades experimentais.

540 O experimento consistiu em cinco tratamentos: LF100: 100% náuplios de
 541 artêmia ('controle positivo'); LF100+BFT: 100% náuplios de artêmia + 100% BFT;
 542 BFT: 100% BFT ('controle negativo'); LF85+BFT: 85% náuplios de artêmia + 100%
 543 BFT; e LF70+BFT: 70% náuplios de artêmia + 100% BFT. Os peixes foram
 544 alimentados duas vezes ao dia (08:00 e 16:00) seguindo recomendações de Santos et al.
 545 (2014). Do dia nove ao dia 16, houve um aumento da oferta de náuplios de artêmia para
 546 cada peixe e de BFT para cada unidade experimental em 25% para manter todos os
 547 peixes saciados conforme cresciam, baseado em observações no consumo diário (Tabela
 548 1). Essa metodologia foi adaptada de Mandal et al. (2010).

549

550 Tabela 1. Composição das dietas durante o período experimental

| Dietas* | Dias 1-8 | Dias 9-16 |
|-----------|-------------------------|---------------------------|
| LF100 | 60 náuplios | 75 náuplios |
| LF100+BFT | 60 náuplios + 10 mL BFT | 75 náuplios + 12.5 mL BFT |
| BFT | 10 mL BFT | 12.5 mL BFT |
| LF85+BFT | 51 náuplios + 10 mL BFT | 64 náuplios + 12.5 mL BFT |
| LF70+BFT | 42 náuplios + 10 mL BFT | 53 náuplios + 12.5 mL BFT |

551 * LF100: 100% náuplios de artêmia; LF100+BFT: 100% náuplios de artêmia + 100% BFT; BFT: 100% BFT;
 552 LF85+BFT: 85% náuplios de artêmia + 100% BFT; e LF70+BFT: 70% náuplios de artêmia + 100% BFT.

553 **Monitoramento da qualidade de água**

554 Todos os dias, todas as 25 unidades experimentais foram sifonadas antes da
555 alimentação da manhã. Os resíduos foram sifonados de cada tanque com uma mangueira
556 em um balde com lã acrílica, para que todos os resíduos fossem retirados da água,
557 funcionando com um filtro mecânico. A água filtrada era retornada para a respectiva
558 unidade experimental. Então, a bomba submersa do macrocosmo era utilizada por 10
559 minutos para ativar o sistema de circulação, para que qualquer resíduo sobrenado nas
560 unidades experimentais fosse retida pela manta de lã acrílica colocada ao fim do cano
561 de drenagem (filtro mecânico). A bomba submersa também era ligada uma hora antes
562 da alimentação da tarde por 10 minutos para limpar as unidades antes que os peixes
563 fossem alimentados com alimento fresco. Metade do volume total dos macrocosmos foi
564 trocada com água limpa a cada quatro dias, para manter uma boa qualidade de água para
565 os alevinos de beta. Essa metodologia foi baseada no trabalho de Emerenciano et al.
566 (2007, 2011) .

567 Um instrumento multiparâmetros (YSI Professional Plus, Yellow Springs, EUA)
568 foi utilizado para verificar a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e pH
569 diariamente nos microcosmos. Esses três parâmetros de qualidade de água foram
570 checados nos macrocosmos todos os dias antes da circulação, para garantir que ambas
571 as qualidades de água estivessem equiparadas. Nitrogênio Amoniacal Total (NAT – mg
572 L^{-1}), nitrito (mg L^{-1}) e alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) foram mensurados três vezes por
573 semana com testes colorimétricos (Labcon Test - Alcon®, Camburiú, \estado de Santa
574 Catarina, Brasil). Os parâmetros de qualidade de água estão representados na Tabela 2.

575

Tabela 2. Médias \pm Desvio Padrão dos parâmetros de qualidade de água dos microcosmos nos 16 dias de experimento

| Parâmetros | Tratamentos* | | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | LF100 | LF100+BFT | BFT | LF85+BFT | LF70+BFT |
| Temperatura (°C) | 27,8 \pm 0,5 | 27,9 \pm 0,44 | 27,8 \pm 0,47 | 27,9 \pm 0,49 | 27,8 \pm 0,5 |
| Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹) | 4,39 \pm 0,44 | 4,14 \pm 0,33 | 4,31 \pm 0,33 | 4,12 \pm 0,43 | 4,1 \pm 0,40 |
| pH | 7,05 \pm 0,08 | 7,07 \pm 0,11 | 7,09 \pm 0,12 | 7,10 \pm 0,12 | 7,09 \pm 0,12 |
| Nitrogênio Amoniacal Total (mg L ⁻¹) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Amônia (mg L ⁻¹) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nitrito (mg L ⁻¹) | 0 | 0,25 \pm 0,14 | 0,11 \pm 0,13 | 0,07 \pm 0,12 | 0,07 \pm 0,12 |
| Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹) | 28,13 \pm 9,57 | 28,13 \pm 9,57 | 28,13 \pm 9,57 | 30,69 \pm 8,73 | 28,13 \pm 9,57 |

576

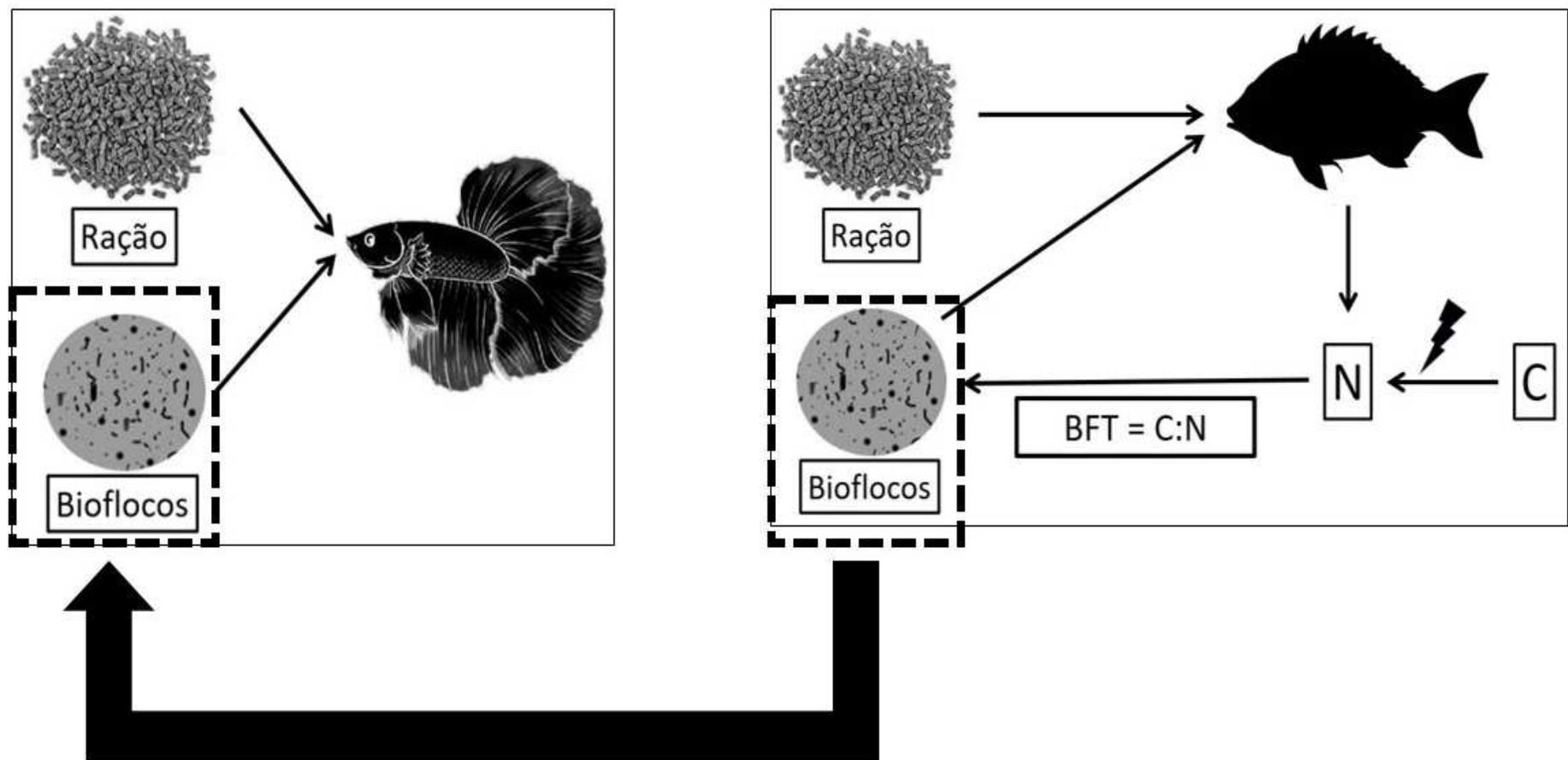
* LF100: 100% náuplios de artêmia; LF100+BFT: 100% náuplios de artêmia + 100% BFT; BFT: 100% BFT; LF85+BFT: 85% náuplios de artêmia + 100% BFT; e LF70+BFT: 70% náuplios de artêmia + 100% BFT.

577

578

Obtenção e caracterização do BFT e dos náuplios de *Artemia* spp.

O bioflocos utilizado no experimento foi formado com machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), em uma densidade de estocagem de 10 kg m⁻³. Seis semanas antes de colocar os betas nas unidades experimentais, as tilápias foram alocadas em dois tanques plásticos de 500 L (B1 e B2), com 410 L de volume útil, com 3‰ de salinidade, mantidos durante toda a fase experimental dos betas, objetivando produzir continuamente bioflocos *ex-situ*. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia e a quantidade de ração foi registrada. A relação C:N (20:1) foi controlada utilizando-se melaço diariamente até total maturação do bioflocos em ambos os tanques (Emerenciano et al., 2017). A média de qualidade de água de ambos os tanques (B1/B2) estavam dentro do adequado para BFT (T °C: 27,7; DO: 6,5 mg L⁻¹; pH: 7,5; NO₂: 0,25 mg L⁻¹; NAT: 0,4 mg L⁻¹; SS: 24,7 mL L⁻¹; alcalinidade: 78,5 mg CaCO₃ L⁻¹). Sólidos Sedimentáveis (SS) foram mensurados diariamente de ambas as unidades de BFT, com amostras de 1 L sedimentando por 30 minutos em cones de Imhoff. Para alimentar os betas, 6 L de água de cada unidade de BFT foram misturadas e os agregados microbianos foram decantados em garrafas plásticas cônicas de 2 L e transferidas para um Becker. Observações feitas antes do experimento demonstraram que 10 mL é uma porção que fornece uma quantidade suficiente para ser consumida, sem excesso ou limitação, as quais ajudaram a estimar as doses diárias de bioflocos (baseado na medida do cone de Imhoff) para cada unidade experimental. Uma representação esquemática da formação e utilização do BFT nesse experimento é mostrado na Figura 2.



600
601
602
603
604
605

Figura 2. Representação esquemática da formação e utilização de bioflocos. Os macroagregados foram produzidos em tanques de 500 L com tilápia (*Oreochromis niloticus*), alimentados com ração comercial. Uma fonte de carbono (melaço) foi utilizado nos tanques para fornecer energia e outros microrganismos presentes na água. Após formação completa, os agregados foram coletados e oferecidos *in natura* para os betas nas unidades experimentais.

606 Náuplios de artêmia (*Artêmia Salina* do RN®) foram eclodidos diariamente em
607 uma incubadora (380 mL), com água salgada (30‰ de salinidade), 1 g de cistos de
608 *Artemia* spp., e aeração constante e um fotoperíodo de 24/0 h. Os náuplios foram
609 coletados, transferidos para um Becker e uma alíquota de 100 µ foi colocada em um slide
610 sob uma lupa para contagem. Esse procedimento foi feito em triplicata após cada nova
611 eclosão, e a média das três contagens foi usada para a predição do número de náuplios
612 mL⁻¹. Após decantação do BFT e contagem dos náuplios, ambos foram amostrados em
613 volumes específicos para serem oferecidos em cada tratamento.

614 Ao final do experimento,, 50 L de água de ambos os tanques de BFT foram
615 misturados, decantado e subsequentemente filtrados (filtro de papel) e armazenados (-20
616 °C). Náuplios de *Artemia* spp. Foram eclodidos em água salgada (30‰ de salinidade) em
617 garrafas plásticas cônicas com aeração constante por 24 horas, coletados e armazenados
618 (-20 °C). A composição proximal de ambos BFT e artêmia foram analisados de acordo
619 com (AOAC, 2016) no Laboratório de Nutrição Aplicada da Faculdade de Medicina
620 Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Brasil. As
621 amostras foram desidratadas em uma estufa com circulação de ar forçado (55 °C) até peso
622 constante. As amostras secas foram analisadas em duplicatas para cinzas (mufla a 600
623 °C), proteína bruta (método Kjeldahl) e lipídio bruto (ANKOM XT15 Lipid Extractor,
624 ANKOM Technology, Inc., Macedon, NY, EUA). Os resultados das análises estão
625 apresentados na Tabela 3.

626 Tabela 3. Composição proximal (%) dos agregados
627 microbianos (BFT) e náuplios de *Artemia* spp..

| Variável | BFT | <i>Artemia</i> spp. |
|----------------|-------|---------------------|
| Umidade | 99,51 | 98,93 |
| Cinzas | 18,86 | 8,20 |
| Proteína bruta | 41,94 | 54,69 |
| Lipídio bruto | 0,22 | 15,38 |

628

629 **2.4 Análise estatística**

630 Todas as variáveis dependentes foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e
631 Levene para homogeneidade das variâncias. Como todas as premissas foram atingidas em
632 todos os casos, as variáveis foram analisadas por um modelo com uma variável
633 dependente (ANOVA – One-way) seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey.
634 A variável sobrevivência foi submetida à transformação angular. Todas as análises foram
635 feitas seguindo as recomendações de Zar (2010) e utilizando o software Statistical
636 Analyses System (SAS, 2002). O nível de significância utilizado em todos os testes foi
637 0,05.

638

639 **Resultados**

640 Todos os resultados em relação ao desempenho zootécnico e taxa de
641 sobrevivência estão apresentados na Tabela 4. Com respeito ao peso final, peixes do
642 tratamento LF85+BFT apresentaram maior valor do que aqueles dos tratamentos
643 LF70+BFT e BFT ($P < 0,05$), mas não diferiu ($P > 0,05$) de LF100 e LF100+BFT. O
644 tratamento LF70+BFT teve melhores ($P < 0,05$) resultados do que BFT e não diferiu dos
645 tratamentos LF100 e LF100+BFT ($P > 0,05$). O Tratamento BFT mostrou o menor peso
646 de todos os tratamentos. Em relação ao comprimento total e sobrevivência dos peixes, o

647 tratamento LF100+BFT apresentou maiores valores de comprimento do que os
648 tratamentos LF100 e BFT ($P < 0,05$), mas não diferiu significativamente de LF85+BFT e
649 LF70+BFT ($P > 0,05$). Peixes do tratamento BFT obtiveram os menores valores de
650 comprimento e não diferiram de LF100 e LF70+BFT. Tratamentos LF100, LF85+BFT e
651 LF70+BFT não diferiram entre si. O Tratamento LF100 obteve maior sobrevivência do
652 que BFT, LF85+BFT e LF70+BFT ($P < 0,05$). Peixes de LF100+BFT não diferiram
653 significativamente dos tratamentos LF85+BFT e LF70+BFT ($P > 0,05$). A menor taxa de
654 sobrevivência aconteceu no tratamento BFT, o qual foi significativamente diferente de
655 todos os tratamentos.

656 Tabela 4. Peso médio, comprimento total e sobrevivência de *Betta splendens* alimentados com alimento vivo (LF100),
 657 bioflocos (BFT) e alimento vivo suplementado com bioflocos (LF100+BFT, LF85+BFT e LF70+BFT) durante 16
 658 dias.

| Variáveis | Tratamentos | | | | | CV(%) | Valor-P ⁽²⁾ |
|----------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------|------------------------|
| | LF100 | BFT | LF100+BFT | LF85+BFT | LF70+BFT | | |
| Peso final (mg) | 16,82 ^{ab} | 10,98 ^c | 18,00 ^{ab} | 18,72 ^a | 16,44 ^b | 7,08 | <,0001 |
| Comprimento total (cm) | 1,064 ^{bc} | 1,036 ^c | 1,15 ^a | 1,116 ^{ab} | 1,104 ^{abc} | 3,82 | 0,0031 |
| Sobrevivência (%) ⁽¹⁾ | 100 ^a | 30,05 ^c | 98,4 ^{ab} | 91,17 ^b | 89,85 ^b | 9,35 | <,0001 |

659 (1) Sobrevivência apresentada como % após transformação reversa.
 660 (2) Valor-P da ANOVA.
 661 (3) Valores médios seguidos pela mesma letra na linha não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

662 Discussão

663 Betas são carnívoros e apesar de eles serem capazes de se adaptar para se
664 alimentarem de ração extrusada desde uma idade muito jovem, eles necessitam alimentos
665 vivos enquanto estão na fase de alevinos, já que necessitam de presas para aprenderem a
666 caçar (Zuanon et al., 2011). Um nível de 35% de proteína bruta nas dietas do beta é
667 suficiente para um ótimo crescimento e bons resultados de parâmetros de reprodução
668 (James and Sampath, 2003). Em nosso estudo, os resultados de análise proximal
669 demonstraram que náuplios de artêmia e BFT tiveram 54,69% e 41,94% de proteína bruta,
670 respectivamente, o que pode ser considerado satisfatório para a nutrição do beta. No
671 entanto, o tratamento alimentado com apenas BFT (controle negativo) obteve os
672 resultados mais negativos de todos os parâmetros avaliados. Isso pode ser explicado pelo
673 fato de que o BFT sozinho não consegue alcançar todos os requerimentos nutricionais,
674 levando em consideração que seu perfil nutricional muda consideravelmente, por
675 exemplo, de acordo com a incidência de luz, salinidade da água, fontes de carbono e
676 proteínas adicionados à água e o estabelecimento da comunidade microbiana
677 (Emerenciano et al., 2015). Outra explicação é o fato de que betas são predadores e são
678 estimulados pelo movimento e tendem a capturar sua presa por debaixo, ou enquanto o
679 alimento está afundando (Pleeging and Moons, 2017). Durante o nosso experimento, após
680 a oferta do *ex*-bioflocos nos microcosmos, as partículas afundaram lentamente até o fundo
681 das caixas e a reposta dos betas ao alimento não foi imediata. Após um certo tempo, os
682 peixes lentamente começavam a “forragear” o fundo enquanto capturavam os agregados
683 que os interessavam. Forrageamento é um dos comportamentos alimentares encontrado
684 em betas, juntamente à procura e captura de presa/alimento (Cardoso et al., 2020).

685 O fato dos peixes do LF85+BFT e LF70+BFT obtiveram melhores resultados
686 juntamente aos peixes do tratamento LF100+BFT (controle positivo), mostra que uma

687 redução de 30% em náuplios de artêmia não muda o crescimento dos betas que também
688 receberam BFT como alimento. Entretanto, o grande destaque foi a taxa de sobrevivência
689 que não foi impactada pela redução de alimento vivo (*Artemia* spp.). Em operações
690 comerciais, quanto mais peixes sobreviverem durante estratégias de produção, mais o
691 produtor vai ganhar por unidade vendida (Satam et al., 2018). Mandal et al. (2010)
692 realizaram um substituição de 75% de alimento vivo (tubifex) em uma dieta formulada,
693 levando a 93% de sobrevivência dos alevinos ($0,19 \pm 0,01\text{g}$) de betas durante 105 dias.
694 Uma taxa de sobrevivência semelhante (91,8%) foi encontrada para alevinos de *Carassius*
695 *auratus* ($1,48 \pm 0,08\text{g}$) criados em bioflocos com ração comercial contendo 32% de
696 proteína bruta (Faizullah et al., 2015). É ressaltado por Fosse et al. (2013) que quanto
697 mais tempo o beta se alimentar de alimentos vivos, maior será a sobrevivência, mesmo
698 quando alimentados parcialmente com ração. Contudo, os autores também ressaltam a
699 necessidade de diminuir a oferta de alimento vivo, devido aos altos custos, sem prejudicar
700 os parâmetros zootécnicos.

701 Em um BFT *in-situ*, as partículas em suspensão (bioflocos) necessitam estar em
702 constante movimento para evitar a sedimentação e a formação de substâncias tóxicas,
703 como sulfeto de hidrogênio e metano (Vijayan and Panigrahi, 2019). Entretanto, essa
704 condição não é ideal para betas, levando em consideração que essa espécie habita águas
705 estacionárias, com pouco ou nenhum movimento, o que é levado em consideração na
706 criação deles (Faria et al., 2006). Portanto, bioflocos ainda pode ser oferecido aos betas
707 em outras duas formas: *ex-situ* (fresco) ou adicionado à ração (farinha de bioflocos). O
708 bioflocos *ex-situ* pode ser formado usando biorreatores, sem a necessidade de peixes ou
709 camarões para produzir ele (Kuhn et al., 2009), e sua composição pode ser manipulada
710 com a adição de diferentes fontes de carbono e proteína, e também probióticos e
711 microalgas específicas (Wei et al., 2020). Quando se inclui 10% de bioflocos na

712 composição da ração, peixes dourados (*Carassius auratus*) também apresentaram maior
713 crescimento (Wang et al., 2015). No presente trabalho, a biomassa de bioflocos foi
714 ofertada fresca para os betas, mas em um estudo usando *ex*-bioflocos desidratado com
715 uma redução de 5% de ração comercial, promoveu resultados comparativos de
716 crescimento para o camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Uawisetwathana
717 et al., 2021).

718 Apesar das altas concentrações de proteína (Khanjani and Sharifinia, 2020) e
719 níveis intermediários de LC-PUFA (Emerenciano et al., 2013), bioflocos pode apresentar
720 uma ampla variedade de microrganismos que podem servir como presas vivas,
721 probióticos ou até mesmo como imunostimulantes (Ahmad et al., 2017), favoráveis na
722 nutrição e saúde de peixes (Durigon et al., 2019). A tecnologia de bioflocos tem sido
723 estudada extensivamente para tilápia (Monroy-Dosta et al., 2013; Brol et al., 2017; Laice
724 et al., 2021), e camarões peneídeos (Ray and Lotz, 2012; Emerenciano et al., 2015;
725 Martins et al., 2020) na última década. Espécies alternativas de peixes e crustáceos para
726 consumo humano também têm sido testadas em BFT (para mais detalhes, veja a revisão
727 extensa feita por Walker et al., 2020). Apesar disso, pouco se sabe sobre os benefícios
728 que o bioflocos pode trazer aos peixes ornamentais. Alguns estudos têm mostrado
729 melhorias em parâmetros zootécnicos (Faizullah et al., 2015, 2018; Castro et al., 2016) e
730 pigmentação da pele (da Cunha et al., 2020) de *Carassius auratus* criados em tecnologia
731 de bioflocos. Honorato et al. (2021) observaram um maior desempenho zootécnico em
732 sistema de bioflocos comparado a um sistema de água clara de juvenis ($4,76 \pm 1,67$ g) de
733 *Geophagus brasiliensis* durante 40 dias. Outros estudos apresentaram resultados de
734 crescimento satisfatórios de *Corydoras aeneus* (Diatin et al., 2019) e *Cyprinus carpio*
735 (Najdegerami et al., 2016; Castro-Mejía et al., 2018) em tanques de cultura de BFT. Ainda

736 assim, faltam informações sobre a adoção de BFT para muitas espécies de peixes
737 ornamentais, incluído os betas.

738 Portanto, nosso estudo conclui que *Betta splendens* pode ser parcialmente
739 alimentado com bioflocos *ex-situ* sem prejudicar seu crescimento. Uma redução de 30%
740 de alimento vivo (náuplios de *Artemia* spp.) com biomassa fresca de bioflocos pode
741 proporcionar mais de 89% de sobrevivência de alevinos de betas.

742

743 **Agradecimentos**

744 O presente trabalho foi parcialmente financiado pela Coordenação de
745 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de
746 Financiamento 001 e da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).
747 Agradecemos a Ricardo Augusto Ferraz Borges pela elaboração e produção das
748 figuras.

749

750 **Referências Bibliográficas**

- 751 Ahmad, I., Babitha Rani, A.M., Verma, A.K. and Maqsood, M., 2017. Biofloc
752 technology: an emerging avenue in aquatic animal healthcare and nutrition
753 Aquaculture International, 25, 1215–1226 (Aquaculture International)
- 754 AOAC, A. of O.A.C., 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International, 20th
755 ed. G. W. Latimer Jr (ed), (AOAC International: Rockville)
- 756 Apriliani, N.S., Supriyati, H. and Luthfi, M.J., 2019. Histological study of respiratory
757 organ of *Betta* sp. Proceeding International Conference on Science and
758 Engineering, 2, 181–184
- 759 Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Tesser, M.B., Wasielesky, W. and Poersch, L.H.S.,
760 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein

- 761 concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*
762 Aquaculture, 342–343, 112–116 (Elsevier B.V.)
- 763 Brol, J., Pinho, S.M., Sgnaulin, T., Pereira, K. da R., Thomas, M.C., Mello, G.L. d.,
764 Miranda-Baeza, A. and Emerenciano, M.G.C., 2017. Tecnologia de bioflocos
765 (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de
766 estocagem Archivos de Zootecnia, 66, 229–235
- 767 Cardoso, M.E.T., Santos, M.C.F. and Signorini, C.E., 2020. Etograma de *Betta*
768 *splendens* em cativeiro In: A. C. de Oliveira (ed), Consolidação do Potencial
769 Científico e Tecnológico das Ciências Biológicas, (Editora Atena: Ponta Grossa),
770 96–102
- 771 Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G., Castro-Castellón, A.E., Vega-U, I.L. and Moreno-O,
772 L., 2018. Weight gain comparison in *Cyprinus carpio* (Linnaeus , 1758) cultured in
773 a biofloc system with four different carbon sources International Journal of
774 Fisheries and Aquatic Studies, 6, 11–15
- 775 Castro, M.G., Castro, M.J., De Lara, A.R., Monroy, D.M., Ocampo, C.J. and Davila,
776 F.S., 2016. Length , weight and condition factor comparison of *Carassius auratus*
777 (Linnaeus , 1758) juveniles cultured in biofloc system International Journal of
778 Fisheries and Aquatic Studies, 4, 345–350
- 779 da Cunha, L., Besen, K.P., Ha, N., Uczay, J., Skoronski, E. and Fabregat, T.E.Ha.P.,
780 2020. Biofloc technology (BFT) improves skin pigmentation of goldfish
781 (*Carassius auratus*) Aquaculture, 522, 735132
- 782 Daniel, N., 2017. Status of aquaculture with respect to nutrition and feed International
783 Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 5, 333–345
- 784 Daus, D.R., 1967. *Betta splendens*--the siamese fighting fish The American Biology
785 Teacher, 29, 528–530

- 786 Diatin, I., Suprayudi, M.A., Budiardi, T., Harris, E. and Widanarni, W., 2019. Biofloc
787 technology on the intensive aquaculture of bronze corydoras ornamental fish
788 *Corydoras aeneus* with different stocking densities Jurnal Akuakultur Indonesia,
789 18, 202–213
- 790 Durigon, E.G., Almeida, A.P.G., Jerônimo, G.T., Baldisserotto, B. and Emerenciano,
791 M.G.C., 2019. Digestive enzymes and parasitology of Nile tilapia juveniles raised
792 in brackish biofloc water and fed with different digestible protein and digestible
793 energy levels Aquaculture, 506, 35–41 (Elsevier)
- 794 Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O. and Wasielesky, W., 2011. Effect of
795 biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp
796 *Farfantepenaeus paulensis*: Growth performance, floc composition and salinity
797 stress tolerance Aquaculture International, 19, 891–901
- 798 Emerenciano, M., Gaxiola, G. and Cuzon, G., 2015. Biofloc Technology applied to
799 shrimp broodstock In: Y. Avnimelech , P. De-Schryver , M. Emerenciano , D.
800 Kuhn , A. Ray , and N. Taw (eds), Biofloc Technology - a practical guide book,
801 (The World Aquaculture Society: Baton Rouge, Louisiana, USA), 215–228
- 802 Emerenciano, M.G.C., Gaxiola, G. and Cuzon, G., 2013. Biofloc Technology (BFT): a
803 review for aquaculture application and animal food industry In: M. D. Matovic
804 (ed), Biomass Now - Cultivation and Utilization, (InTech: Rijeka, Croatia), 301–
805 328
- 806 Emerenciano, M.G.C., Junior, W.W., Soares, R.B., Ballester, E.C., Izeppi, E.M. and
807 Cavalli, R.O., 2007. Crescimento e sobrevivência do camarão-rosa
808 (*Farfantepenaeus paulensis*) na fase de berçário em meio heterotrófico Acta
809 Scientiarium. Biological Sciences, 29, 1–7
- 810 Emerenciano, M.G.C., Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M. and Miranda-

- 811 Baeza, A., 2017. Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality
812 Management in Aquaculture In: H. Tutu and B. P. Grover (eds), Water Quality,
813 (InTech: Rijeka, Croatia), 91–109
- 814 Faizullah, M.M., Daniel, N., Lakshmegayathre, V. and Harini, C., 2018. Length weight
815 relationship of goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) youngones reared in
816 biofloc system Journal of Experimental Zoology India, 20, 1043–1047
- 817 Faizullah, M.M., Rajagopalsamy, C., Ahilan, B. and Dani, D., 2019. Application of
818 biofloc technology (BFT) in the aquaculture system Journal of Entomology and
819 Zoology Studies, 7, 204–212
- 820 Faizullah, M.M., Rajagopalsamy, C.B.T., Ahilan, B. and Francis, T., 2015. Impact of
821 Bioloc Technology on the Growth of Goldfish Young Ones Indian Journal of
822 Science and Technology, 8, 1–8
- 823 Faria, P.M.C., Crepaldi, D.V., Teixeira, E. de . A., Ribeiro, L.P., De Souza, A.B.,
824 Carvalho, D.C., Melo, D.C. and Saliba, E. de O.S.S., 2006. Criação, manejo e
825 reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan 1910) Revista Brasileira de
826 Reprodução Animal, 30, 134–149
- 827 Fosse, P.J., Mattos, D.C., Cardoso, L.D., Motta, J.H., Jasper, A.P., Radael, M.,
828 Andrade, D. and Vidal Junior, M., 2013. Estratégia de alimentação na
829 sobrevivência de larvas de *Betta splendens* durante a transição alimentar Aquivo
830 Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65, 1801–1807
- 831 Honorato, L., Pereira, N.F., Mello, G.L.D. and Medeiros, M. V., 2021. Assessment of
832 the cultivation parameters of the pearl cichlid *Geophagus brasiliensis* in biofloc
833 and clear water systems Journal of Applied Ichthyology, 37, 950–956
- 834 James, R. and Sampath, K., 2003. Effect of animal and plant protein diets on growth
835 and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (Regan) The Israeli Journal of

- 836 Aquaculture - Bamidgeh, 55, 39–52
- 837 Khanjani, M.H. and Sharifinia, M., 2020. Biofloc technology as a promising tool to
838 improve aquaculture production *Reviews in Aquaculture*, 12, 1836–1850
- 839 Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Lawrence, A.L., Marsh, L. and Jr, G.J.F., 2009.
840 Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein
841 in shrimp feed *Aquaculture*, 296, 51–57 (Elsevier B.V.)
- 842 Laice, L.M., Corrêa Filho, R.A.C., Ventura, A.S., Farias, K.N.N., Silva, A.L. do N.,
843 Fernandes, C.E., Silva, A.C.F., Barbosa, P.T.L., de Souza, A.I., Emerenciano,
844 M.G.C. and Povh, J.A., 2021. Use of symbiotics in biofloc (BFT)-based Nile
845 tilapia culture: production performance, intestinal morphometry and hematological
846 parameters *Aquaculture*, 530, 735715 (Elsevier)
- 847 Mandal, S.C., Sahu, N.P., Singh Kohli, M.P., Das, P., Gupta, S.K. and Munilkumar, S.,
848 2010. Replacement of live feed by formulated feed: effect on the growth and
849 spawning performance of Siamese fighting fish (*Betta splendens*, Regan, 1910)
850 *Aquaculture Research*, 41, 1707–1716
- 851 Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M., Emerenciano, M.G.C., Miranda-Baeza,
852 A. and Gollas-Galván, T., 2017. From microbes to fish the next revolution in food
853 production *Critical Reviews in Biotechnology*, 37, 287–295
- 854 Martins, M.A., Poli, M.A., Legarda, E.C., Pinheiro, I.C., Carneiro, R.F.S., Pereira, S.A.,
855 Martins, M.L., Gonçalves, P., Schleder, D.D. and do Nascimento Vieira, F., 2020.
856 Heterotrophic and mature biofloc systems in the integrated culture of Pacific white
857 shrimp and Nile tilapia *Aquaculture*, 514, 734517 (Elsevier)
- 858 Monroy-Dosta, M. del C., de Lara, R.A., Castro-Mejía, J., Castro-Mejía, G. and Coelho-
859 Emerenciano, M.G., 2013. Microbiology community composition and abundance
860 associated to biofloc in tilapia aquaculture *Revista de Biología Marina y*

- 861 Oceanografia, 48, 511–520
- 862 Monvises, A., Nuangsaeng, B., Sriwattanarothai, N. and Panijpan, B., 2009. The
863 Siamese fighting fish: well-known generally but little-known scientifically
864 ScienceAsia, 35, 8–16
- 865 Najdegerami, E.H., Bakhshi, F. and Lakani, F.B., 2016. Effects of biofloc on growth
866 performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp
867 (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings in zero-water exchange system Fish Physiology
868 and Biochemistry, 42, 457–465 (Springer Netherlands)
- 869 Pleeging, C.C.F. and Moons, C.P.H., 2017. Potential welfare issues of the Siamese
870 fighting fish (*Betta splendens*) at the retailer and in the hobbyist aquarium Vlaams
871 Diergeneeskundig Tijdschrift, 86, 213–223
- 872 Radhakrishnan, D.K., John, E.M., Akbarali, I., Schmidt, B. V, Sivanpillai, S. and
873 Thazhakot, S., 2019. Improvement of nutritional quality of live feed for
874 aquaculture : An overview Aquaculture Research, 51, 1–17
- 875 Ray, A.J. and Lotz, J.M., 2012. Study shows lower biofloc concentration may improve
876 shrimp production Global Aquaculture Advocate, 28–31
- 877 Sales, A.D., Veras, G.C., Brabo, M.F., Abrunhosa, F.A., Alves, A.X., Dias, B.C.B.,
878 Campelo, D.A.V. and Ferreira, M.S.S., 2016. Fotoperíodo e frequência alimentar
879 na larvicultura do peixe beta Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e
880 Zootecnia, 68, 1062–1068
- 881 Santos, E.L., Lira, R.C., Souza, C.A., Santos, I.V.V.S., Silva, F.C.B. and Albuquerque,
882 I.C.M., 2014. Desempenho de *Betta splendens* associados a diferentes frequências
883 alimentares Revista Científica de Produção Animal, 16, 10–16
- 884 SAS, 2002. SAS - Statistical Analysis System User's Guide, (Cary: SAS Institute)
- 885 Satam, S.B., Sawant, N.H., Ghughuskar, M.M., Sahastrabuddhe, V.D., Naik, V. V.,

- 886 Pagarkar, A.U., Chogale, N.D., Metar, S.Y., Shinde, K.M., Sadawarte, V.R.,
887 Sawant, A.N., Singh, H., Sawant, P.A., Patil, V.K., Rane, A.D., Haldankar, P.M.
888 and Bhattacharyya, T., 2018. Ornamental fisheries: a new avenue to supplement
889 farm income *Advance Agriculture Research and Technology*, 2, 193–197
- 890 Sgnaulin, T., Pinho, S.M., Durigon, E.G., Thomas, M.C., de Mello, G.L. and
891 Emerenciano, M.G.C., 2021. Culture of pacu *Piaractus mesopotamicus* in biofloc
892 technology (BFT): insights on dietary protein sparing and stomach content
893 *Aquaculture International*, 29, 2319–2335 (Aquaculture International)
- 894 Uawisetwathana, U., Situmorang, M.L. and Arayamethakorn, S., 2021.
895 Supplementation of ex-situ biofloc to improve growth performance and enhance
896 nutritional values of the Pacific white shrimp rearing at low salinity conditions
897 *Applied Sciences*, 11, 4598
- 898 Vijayan, K.K. and Panigrahi, A., 2019. Training manual on Biofloc Technology for
899 Nursery and Growout Aquaculture, (Tamil Nadu, India)
- 900 Walker, D.A.U., Suazo, M.C.M. and Emerenciano, M.G.C., 2020. Biofloc technology:
901 principles focused on potential species and the case study of Chilean river shrimp
902 *Cryphiops caementarius* *Reviews in Aquaculture*, 12, 1759–1782
- 903 Wang, G., Yu, E., Xie, J., Yu, D., Li, Z., Luo, W., Qiu, L. and Zheng, Z., 2015. Effect
904 of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc
905 supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius*
906 *auratus* *Aquaculture*, 443, 98–104 (Elsevier B.V.)
- 907 Wei, Y., Wang, A. and Liao, S., 2020. Effect of different carbon sources on microbial
908 community structure and composition of ex-situ biofloc formation *Aquaculture*,
909 515, 734492
- 910 Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*, 5th ed. (New Jersey : Prentice-Hall)

- 911 Zuanon, J.A.S., Salaro, A.L. and Furuya, W.M., 2011. Produção e nutrição de peixes
912 ornamentais Revista Brasileira de Zootecnia, 40, 165–174

CAPÍTULO III**ARTIGO II**

913

914

915

916

917

918

919

920

921

922

923

924

925

926

Reprodução de *Betta splendens* alimentados com gema de ovo

927

928

929

930

931

932

933

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

944

945 *Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Tropical Animal Health and*946 *Production*

947 **Resumo:** o objetivo do presente estudo foi avaliar os parâmetros de desempenho
948 zootécnico e reprodutivo do peixe ornamental *Betta splendens* alimentados com
949 diferentes níveis de substituição da ração por gema de ovo. Foi utilizado o delineamento
950 inteiramente casualizado, com três tratamentos e repetições (cinco casais) por tratamento,
951 sendo um grupo controle com peixes alimentados somente com ração comercial para
952 *Betta* (R100); um grupo alimentado com dieta composta de 30% de gema de ovo (0,030
953 g) e 70% de ração comercial (0,070 g) (R70); e um grupo alimentado com uma dieta
954 composta de 15% de gema de ovo (0,015 g) e 85% de ração comercial (0,085 g) (R85).
955 O experimento teve duração de 30 dias, com duas reproduções (uma antes do início e uma
956 ao fim do experimento). As fêmeas de todos os tratamentos não desovaram no primeiro
957 período reprodutivo; apenas os machos construíram os ninhos. Contudo, apenas as fêmeas
958 que receberam suplementação com gema de ovo desovaram na segunda reprodução. Nos
959 machos, o peso final foi maior ($P < 0,05$) nos peixes que receberam a suplementação com
960 15% (2,56 g) e 30% (2,83 g) de gema de ovo em relação aos peixes que receberam
961 somente ração (1,95 g). Os tratamentos com inclusão parcial de gema de ovo na dieta de
962 *Betta splendens* foram os únicos em que as fêmeas apresentaram desova, indicando que
963 uma substituição parcial de ração por gema de ovo pode influenciar na reprodução da
964 espécie.

965

966 **Palavras-chave:** Peixes ornamentais, alimentos alternativos, ovócitos, ninho de bolhas.

967 **Introdução**

968 *Betta splendens* é uma espécie de peixe ornamental originária do Sudeste da Ásia,
969 tendo suas primeiras evidências na Tailândia no século 18 e com várias espécies do
970 gênero distribuídas pelo continente (Lichak et al., 2022). Em 2019, esse peixe foi
971 registrado como o Animal Aquático Nacional da Tailândia em reconhecimento à sua
972 importância para pequenos aquicultores do país (Panijpan et al., 2020). Esta espécie é
973 conhecida principalmente por suas formas domesticadas, muito apreciada como peixe
974 ornamental, devido à fácil criação e manutenção, além de ser um peixe que possui
975 respiração aérea, não necessitando a utilização de aerador em seu aquário (Zuanon et al.,
976 2009).

977 O Brasil encontra-se em sexto lugar quando se refere em mercado consumidor de
978 produtos e serviços relacionados a pets (ABINPET, 2022), e um dos segmentos que vem
979 ganhando destaque é a comercialização de organismos aquáticos ornamentais. O betta
980 aparece na primeira posição dentre as 10 espécies mais escolhidas para ser o primeiro
981 peixe dos lares brasileiros (Geller et al., 2020).

982 *Betta splendens* é considerado um peixe com hábito alimentar carnívoro, o que o
983 torna uma boa alternativa no combate biológico de larvas de mosquitos e outros insetos
984 presentes na superfície da água (De Oliveira Lima et al., 2010), além de consumir outros
985 invertebrados (Faria et al., 2006). Essa espécie é adaptada para comer ração comercial,
986 porém melhores resultados de crescimento e reprodução são obtidos quando a
987 alimentação oferecida tem proteína e gordura de origem animal (James and Sampath,
988 2003; Rasdi et al., 2020).

989 Uma possível sugestão de alimento alternativo é a gema de ovo de galinha, rica
990 em gorduras, contendo também aminoácidos, vitaminas e minerais (Bertechini and
991 Mazzuco, 2013). A composição do ovo de galinha varia de acordo com espécie e idade

992 do animal, ambiente de produção e alimento que o animal recebe durante o período de
993 postura (Dalle Zotte et al., 2021; Krunt et al., 2021). Sua composição de lipídios e
994 fosfolipídios, inseridas na alimentação de peixes, pode ser interessante no auxílio da
995 produção de gametas, principalmente durante a vitelogênese, período em que há
996 deposição de gorduras no ovócito (Kunz, 2004; Reading et al., 2018).

997 Apesar do uso da gema de ovo estar presente na alimentação de pós-larvas de
998 peixes em geral (Lim et al., 2003), inclusive promovendo melhor taxa de crescimento
999 específico de pós-larvas de bettas (Matielo et al., 2019), não há estudos que
1000 demonstrem resultados com a utilização de gema de ovo durante a reprodução dessa
1001 espécie. Mediante o exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os parâmetros de
1002 desempenho zootécnico e reprodutivo do peixe ornamental *Betta splendens* alimentados
1003 com diferentes níveis de substituição da ração por gema de ovo.

1004

1005 **Material e Métodos**

1006 ***Local e peixes***

1007 O experimento foi realizado na Estação Experimental de Piscicultura da UFMS,
1008 localizado no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil (Latitude 20° 29'
1009 59'' S e Longitude 54° 36' 53'' W). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética de uso
1010 de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (número 1.164/2021). Foram
1011 utilizados 30 exemplares adultos em idade reprodutiva de *Betta splendens*, sendo 15
1012 machos (peso médio inicial de 2,95 g) e 15 fêmeas (peso médio inicial de 2,98 g), com
1013 idade média de dois anos, todos provenientes do plantel de reprodutores da estação
1014 experimental.

1015

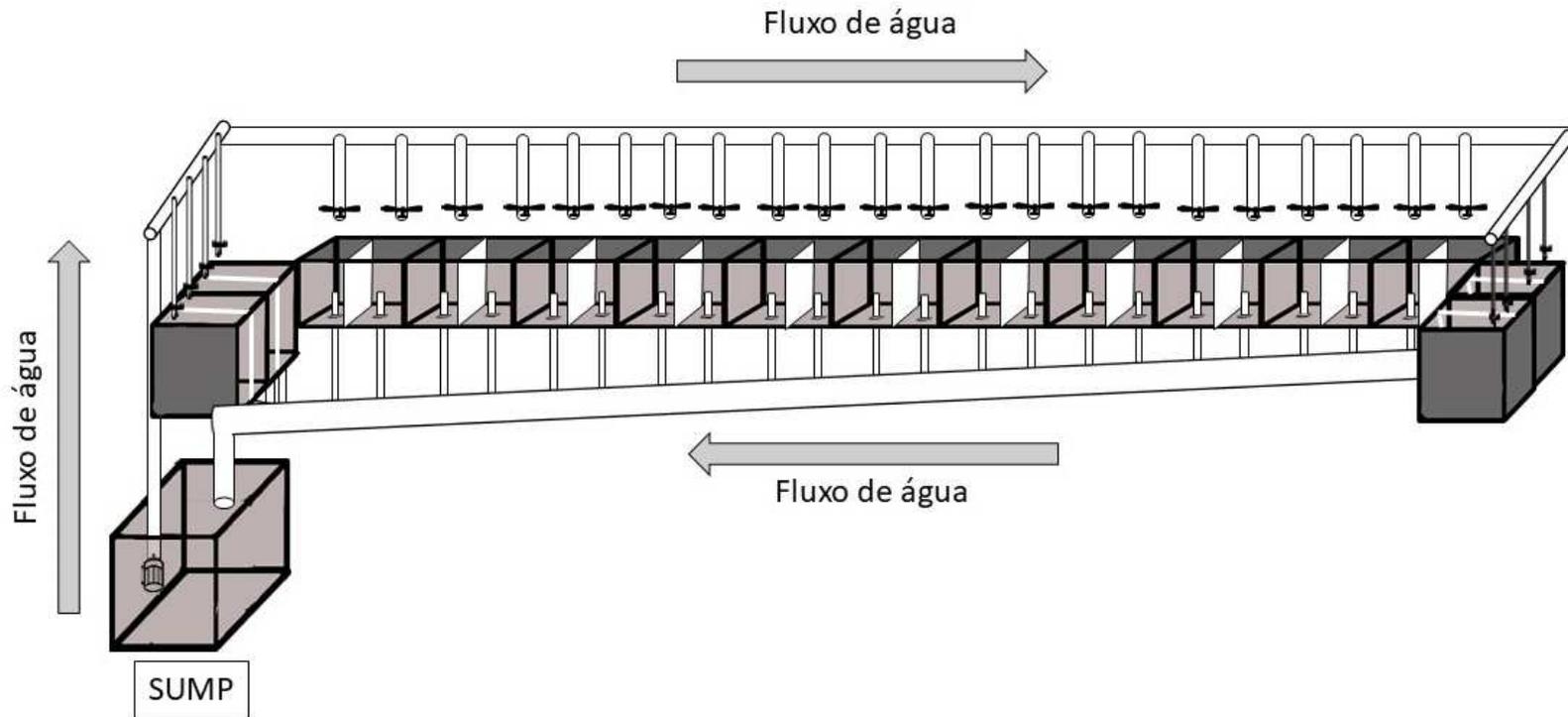
1016

1017 ***Delineamento experimental***

1018 Para a mensuração da quantia de alimentos a ser fornecida para cada animal, antes
1019 do início do experimento os animais foram alimentados até saciedade aparente, duas
1020 vezes ao dia, para verificar a quantidade média de ração extrusada ingerida por
1021 refeição/betta/dia (média = 0,1 g). A quantidade de ração ofertada em cada tratamento foi
1022 definida a partir dos resultados desse ensaio preliminar.

1023 Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e
1024 cinco casais por tratamento (repetições), totalizando 15 casais, sendo: R100 - grupo
1025 controle com peixes alimentados somente com ração comercial para betta (Betta Premium
1026 Poytara®; 35% de proteína, 6% extrato etéreo, 2,5% de fibra bruta e 8,5% de matéria
1027 mineral); R70 - grupo alimentado com dieta composta de 30% de gema de ovo (0,030 g)
1028 e 70% de ração comercial (0,070 g); e R85 - um grupo alimentado com uma dieta
1029 composta de 15% de gema de ovo (0,015 g) e 85% de ração comercial (0,085 g). O
1030 período experimental foi de 30 dias, onde foram feitas duas reproduções: uma no dia 0
1031 (zero – antes do início do período experimental) e outra ao fim do período de 30 dias.

1032 Anteriormente ao experimento, os peixes foram alocados em 15 aquários com
1033 volume útil de 26 litros, divididos ao meio com uma placa branca de 30 cm de PVC (10
1034 mm) separando machos e fêmeas até o momento da reprodução (Figura 1). Em cada
1035 aquário foram acoplados dois canos de 15 cm de altura, um em cada lado da divisória,
1036 para que cada aquário possuísse uma saída de água própria para a renovação de água
1037 individual e constante.



1038

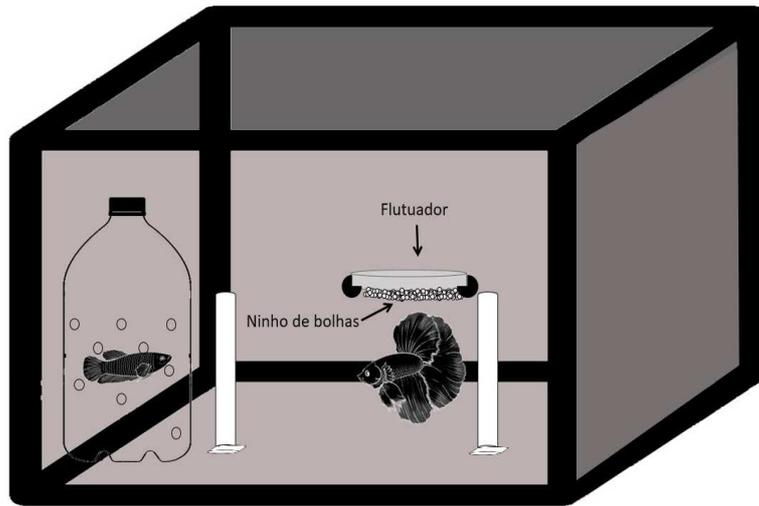
1039

Figura 1. Esquema de representação do sistema de recirculação para manutenção de reprodutores de *Betta splendens*. O sistema era composto por 15 aquários com volume útil de 26 L, divididos aos meio por placas de PVC, separando os casais até o momento da reprodução. A água de todos os aquários retornava ao SUMP, composto de filtros físicos e biológicos, para a retenção de sujidades e nitrificação da amônia.

1040 Para a recirculação e filtragem do sistema, foi utilizado um aquário com volume
1041 útil de 63 litros juntamente com uma bomba submersa (2000L h⁻¹ Aleas Hm-5063) para
1042 realizar a parte de filtragem mecânica (manta acrílica) e biológica (argila expandida),
1043 além de redistribuir água para todos os aquários. A bomba era desligada 10 minutos antes
1044 de cada trato e religada 30 minutos após os peixes se alimentarem. Além disso, a bomba
1045 permaneceu desligada durante os dois períodos reprodutivos (três dias seguidos em cada
1046 período). O SUMP possuía um aquecedor com termostato (200W) ajustado para 26°C
1047 durante todos os dias do experimento.

1048 Antes de serem alocados em seus respectivos aquários, uma biometria foi feita em
1049 todos os peixes para averiguação do peso (gramas) e comprimento total (cm) individual
1050 antes do período reprodutivo. Após a biometria, cada peixe foi alocado em seu respectivo
1051 recinto.

1052 Para a reprodução, os canos de saída de cada aquário foram trocados por canos
1053 menores (10 cm), para diminuir a coluna d'água e tornar o ambiente mais propício para a
1054 reprodução (De Lima et al., 2017). As fêmeas foram alojadas em garrafas PET cortadas
1055 ao meio e com furos em todo o redor para livre entrada e saída de água (Figura 2). A
1056 barreira física (placa de PVC) foi retirada para que cada macho pudesse ter acesso visual
1057 às fêmeas.



1058

1059

Figura 2. Aquário preparado para a reprodução de *Betta splendens*.

1060

1061

1062

1063

1064

1065

1066

1067

1068

1069

1070

1071

1072

1073

Cada aquário recebeu um “flutuador” do lado oposto às fêmeas, em formato de um disco, feito com garrafa PET transparente com um pequeno pedaço de mangueira porosa atrelada ao plástico (bóia), para que o macho utilizasse como referência para construir o ninho de bolhas. Após a colocação do flutuador, foram esperadas 48 horas para que os machos tivessem tempo suficiente para construção do seu ninho e para que tivessem estímulo visual pela presença das fêmeas. Após o período de 48 horas, as fêmeas foram retiradas da garrafa PET e soltas no aquário juntamente com o macho. Após a soltura das fêmeas, foi feita uma observação por dois avaliadores, com duração de 12 horas para que houvesse tempo suficiente para a ocorrência de abraço nupcial de cada casal. No caso de não observação do abraço nupcial ou de qualquer agressão por parte dos machos, a barreira de PVC era recolocada no aquário imediatamente para que ambos os animais fossem preservados.

Variáveis analisadas

1074 As seguintes variáveis foram analisadas para as fêmeas: peso final (g),
1075 comprimento total final (cm), diâmetro maior do ovócito (dm), diâmetro menor de
1076 ovócitos (dm) e quantidade total de ovócitos.

1077 As variáveis avaliadas para os machos foram as seguintes: peso final (g),
1078 comprimento total final (cm), área do ninho (primeira e segunda reprodução através do
1079 aplicativo ImageJ®), perímetro do ninho (primeira e segunda reprodução através do
1080 dimensionamento padrão do aplicativo ImageJ®, convertendo pixel em cm) e a relação
1081 entre área e perímetro do ninho nas duas reproduções (Área do ninho dividida pelo
1082 perímetro do ninho), cujo o valor permite diferenciar o formato dos ninhos, onde quanto
1083 menor o valor, mais compridos e irregulares são os ninhos.

1084

1085 *Alimentação*

1086 Foram pesados 200 gramas de gema de ovo, devidamente cozidas e separadas da
1087 clara, e em seguida foram aquecidas em micro-ondas por 10 minutos conforme
1088 metodologia adaptada de Oliveira et al. (2015); em seguida, foram trituradas e congeladas
1089 a -20°C. Para a implementação da gema na dieta dos peixes, foram pesados 0,015g e
1090 0,030g de gema (respectivamente substituindo 15 e 30% da alimentação), e colocados em
1091 microtubos de 1,5 ml, os quais foram conservados congelados durante todo o decorrer do
1092 experimento.

1093 A análise realizada nos primeiros dias foi em relação a aceitabilidade dos peixes
1094 com a nova dieta, na qual era ofertada a gema de ovo a cada peixe em dois tratos até
1095 saciedade aparente. Assim que os mesmos se adaptaram com a nova alimentação (sete
1096 dias de oferta de gema de ovo), iniciou-se o período experimental. Após 30 minutos da
1097 alimentação, todos os aquários foram sifonados e foi realizada a reposição de água
1098 perdida tanto por evaporação, quanto pelo sifonamento.

1099 **Análise bromatológica**

1100 Para as análises bromatológicas da gema de ovo foi utilizado a metodologia de
1101 Silva e Queiroz (2002). Para estas análises, foi necessário fazer a pesagem em balança
1102 digital (Marte Científica, LS1) de todas as amostras de gemas que não foram utilizadas
1103 na alimentação durante o experimento. Uma amostra de gema de ovo foi levada à estufa
1104 de secagem com circulação e renovação de ar à 54°C por uma semana (168 horas) sendo
1105 revolvida diariamente para não gerar zonas de umidade. Após o processo de secagem, a
1106 amostra foi novamente pesada para determinação de matéria seca.

1107 Conjuntamente foi pesado 0,2000 g de amostra e colocados em 4 diferentes tubos
1108 de ensaio para se analisar a quantidade de proteína bruta, utilizando-se o método de
1109 Kjeldahl. Por fim, fez-se necessário a pesagem de mais 2,0 g de amostra para a realização
1110 da análise de extrato etéreo pela metodologia de Soxhlet. Ambas as análises foram feitas
1111 seguindo as recomendações de (AOAC, 2016). Os resultados das análises se encontram
1112 na Tabela 1.

1113 Tabela 1. Composição proximal da gema de ovo

| Variáveis | Gema de Ovo |
|----------------------|-------------|
| Umidade | 97,34% |
| Matéria seca | 2,66% |
| Proteína bruta | 23,6% |
| Extrato etéreo total | 7,38% |

1114

1115 **Análise de qualidade de água**

1116 Um equipamento multiparâmetros (YSI Professional Plus, Yellow Springs, USA)
1117 foi utilizado diariamente para verificar temperatura (°C), oxigênio dissolvido (OD - mg
1118 L⁻¹) e pH. Foram mensurados três vezes por semana nitrogênio amoniacal total (NAT -
1119 mg L⁻¹), amônia não-ionizada (NH₃ - mg L⁻¹) e nitrito (NO₂⁻ - mg L⁻¹) pelos testes
1120 colorimétricos (Alcon®, Camburiú, SC, Brasil) e nitrato (NO₃⁻ - mg L⁻¹) também por teste
1121 colorimétrico (PRODAC, Cittadella, PD, Itália). A alcalinidade total também foi

1122 mensurada três vezes por semana através de titulação seguindo a metodologia de Eaton
1123 et al. (2005).

1124 Durante o período experimental de 30 dias, a temperatura média dos aquários foi
1125 de $25,1 \pm 1,15^{\circ}\text{C}$, o oxigênio dissolvido foi $7,6 \pm 0,98 \text{ mg L}^{-1}$ e pH médio de $7,43 \pm 0,35$.
1126 A média de NO_2^- foi 0 mg L^{-1} , de NO_3^- foi $0,21 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$, de NAT de $0,06 \pm 0,01$
1127 mg L^{-1} , de NH_3^- de $0,008 \pm 0,008$ e alcalinidade média total de $24,2 \pm 7,03 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$.

1128

1129 *Análise estatística*

1130 As variáveis dependentes foram submetidas aos testes de normalidade de Shapiro-
1131 Wilk e de Levene para homogeneidade de variâncias. As variáveis dependentes foram
1132 analisadas por um modelo com uma variável independente (Anova - One Way) seguida
1133 do Teste de t de Student. Os pesos iniciais foram utilizados como covariável para análises
1134 dos pesos finais e o comprimento total inicial como covariável para as demais variáveis
1135 dependentes, com exceção de diâmetro maior do ovo, diâmetro menor do ovo e número
1136 de ovos. Cada reprodutor foi considerado como uma unidade experimental, sendo cinco
1137 para cada tratamento em cada sexo. Todas as análises foram feitas seguindo as
1138 recomendações de (Zar, 2010) e utilizando o Sistema de Análise Estatística (SAS, 2002).
1139 O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 0,05.

1140

1141 **Resultados**

1142 As fêmeas de todos os tratamentos não desovaram na primeira reprodução; apenas
1143 os machos construíram os ninhos. Embora a suplementação com gema de ovo não tenha
1144 promovido um maior peso final das fêmeas de *Betta splendens* na segunda reprodução,
1145 ocorreu desova apenas nas fêmeas que foram suplementadas com gema de ovo.

1146 As variáveis de desempenho zootécnico das fêmeas, como o peso, comprimento
1147 total não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos. Da mesma forma, as variáveis de
1148 desempenho reprodutivo das fêmeas diâmetro maior de ovo, diâmetro menor de ovo e
1149 número de ovos não foi diferente significativamente ($P>0,05$) entre os tratamentos na
1150 segunda desova (Tabela 2).

1151 Tabela 2 - Médias de mínimos quadrados para características morfológicas e reprodutivas
 1152 de reprodutores fêmeas de *Betta splendens* submetidas a diferentes dietas.*

| Variáveis ¹ | Dietas ² | | | CV (%) ³ | Valor- <i>P</i> ⁴ |
|------------------------|---------------------|---------|---------|---------------------|------------------------------|
| | R100 | R85 | R70 | | |
| PF (g) | 2,56a | 3,10a | 2,99a | 13,12 | 0,111 |
| CTF (cm) | 6,80a | 7,21a | 7,11a | 4,72 | 0,168 |
| DMA(dm) | - | 0,65a | 0,61a | 11,84 | 0,566 |
| DME(dm) | - | 0,53a | 0,54a | 5,89 | 0,561 |
| NOVOS | - | 476,50a | 217,75a | 39,68 | 0,068 |

1153 *Resultados provenientes da segunda reprodução.

1154 ¹PF – Peso Final; CTF – Comprimento Total Final; DMA – diâmetro maior do ovo; DME – diâmetro menor
 1155 do ovo; NOVOS – número de ovos.

1156 ²R100: 100% ração; R85: 85% de ração+15% de gema de ovo; R70: 70% de ração + 30% de gema de ovo.

1157 ³CV - Coeficiente de variação.

1158 ⁴Valor-*P* da análise de variância para o efeito da dieta, sendo significativo quando $P < 0,05$.

1159

1160 Nos machos, o peso final foi maior ($P < 0,05$) nos peixes que receberam
 1161 suplementação 15% (2,56 g) e 30% (2,83 g) de gema de ovo em relação aos peixes que
 1162 receberam somente ração (1,95 g). Por outro lado, o comprimento total não foi diferente
 1163 ($P > 0,05$) (Tabela 3).

1164 Na primeira tentativa de desova, as variáveis área e perímetro do ninho feito pelos
 1165 machos dos tratamentos R100 e R70 não obtiveram diferença significativa entre si, porém
 1166 obtiveram menores resultados ($P < 0,05$) em relação aos peixes do tratamento R85. É
 1167 importante ressaltar que na primeira reprodução, todos os animais recebiam apenas ração
 1168 em suas dietas. Na segunda reprodução, as mesmas variáveis não diferiram ($P > 0,05$) entre
 1169 os tratamentos. Da mesma forma, as variáveis relação entre área e perímetro da primeira
 1170 e segunda reprodução não diferiram entre os tratamentos.

1171 Tabela 3 - Médias de mínimos quadrados para características morfológicas e reprodutivas
 1172 de reprodutores machos de *Betta splendens* submetidas a diferentes dietas.

| Variáveis ¹ | Dieta ² | | | CV (%) ³ | Valor- <i>P</i> ⁴ |
|-------------------------|--------------------|--------|--------|---------------------|------------------------------|
| | R100 | R85 | R70 | | |
| PF(g) | 1,95b | 2,56a | 2,83a | 11,83 | 0,003 |
| CTF(cm) | 7,53a | 7,69a | 7,76a | 6,34 | 0,760 |
| ANIH1(cm ²) | 3,78b | 30,33a | 14,78b | 52,85 | 0,002 |
| ANIH2(cm ²) | 11,25a | 22,14a | 11,54a | 79,21 | 0,304 |
| PERIM1(cm) | 14,04b | 53,50a | 19,55b | 40,13 | 0,001 |
| PERIM2(cm) | 31,59a | 38,70a | 25,68a | 53,14 | 0,502 |
| RAP1 | 0,41a | 0,58a | 0,66a | 31,24 | 0,117 |
| RAP2 | 0,37a | 0,58a | 0,49a | 51,82 | 0,480 |

1173 ¹PF - Peso Final; CTF – Comprimento Total Final; ANINH1 – Área total do ninho 1° reprodução; ANINH2 -
 1174 Área total do ninho 2° reprodução; PERIM1 – Perímetro total do Ninho 1° reprodução; PERIM2 – Perímetro
 1175 total do Ninho 2° reprodução; RAP1 – Relação Área e Perímetro 1° Reprodução; RAP2 – Relação Área e
 1176 Perímetro 2° Reprodução.

1177 ²R100: 100% ração; R85: 85% de ração+15% de gema de ovo; R70: 70% de ração + 30% de gema de ovo.

1178 ³CV - Coeficiente de variação.

1179 ⁴Valor-*P* da análise de variância para o efeito da dieta, sendo significativo quando *P*<0.05.

1180

1181 **Discussão**

1182 A desova observada apenas nas fêmeas que receberam gema de ovo evidencia que
 1183 a suplementação com este ingrediente foi importante para reprodução. Isso pode ter
 1184 ocorrido devido à gema de ovo conter lipídios e fosfolipídios essenciais na lipidação
 1185 de ovócitos, ou seja, no acúmulo de gordura necessária para o desenvolvimento do
 1186 gameta (Reading et al., 2018).

1187 A ausência de reprodução dos peixes alimentados apenas com ração (tratamento
 1188 controle) impossibilitou a comparação reprodutiva em relação aos peixes alimentados
 1189 com gema de ovo. Contudo, essa situação demonstrou benefício da inclusão da gema
 1190 de ovo na reprodução. Além disso, as fêmeas dos tratamentos R85 e R70 apresentaram
 1191 pesos finais maiores do que a média de peso inicial, demonstrando ainda mais a
 1192 importância dessa suplementação para as fêmeas. Ainda não há trabalhos na literatura
 1193 que demonstrem a utilização de gema de ovo na reprodução de peixes.

1194 Apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos R85 e R70 para
1195 a variável número de ovos, ainda assim, a quantidade de ovos produzida no tratamento
1196 R85 foi equivalente a mais que o dobro do tratamento R70. Essa situação mostra que,
1197 uma substituição de 15% de gema de ovo na dieta pode contribuir para uma maior
1198 oogênese. Tendo em vista que o número médio de ovos por postura de uma fêmea é de
1199 100 a 600 ovos por reprodução (Faria et al., 2006), ambos os tratamentos mostraram
1200 dados dentro do esperado para as fêmeas da espécie estudada.

1201 A inclusão de 15% de gema de ovo na dieta de reprodutores machos de betta
1202 melhorou o desempenho produtivo e comportamento reprodutivo, evidenciado pelo maior
1203 tamanho de ninho. O mesmo não foi observado para fêmeas quanto ao desempenho
1204 produtivo e reprodutivo. Estes resultados sugerem que a gema de ovo pode ser
1205 implementada em dietas de betta, principalmente em machos em fase reprodutiva.

1206 O maior peso final dos machos quando receberam gema de ovo evidencia a
1207 importância da incorporação deste alimento na dieta dos peixes na fase de reprodução. O
1208 desgaste reprodutivo dos machos é grande, o que é corroborado considerando que estes
1209 perderam peso em relação ao peso inicial. Com a necessidade de construção de ninho e o
1210 estímulo visual constante com a fêmea durante a reprodução, os machos podem ter
1211 perdido peso devido a um aumento de gasto energético ao longo dessa fase (Tytler e
1212 Calow, 1985). Ainda assim, a gema de ovo na dieta dos animais dos tratamento R85 e
1213 R70 pode ter permitido que os animais não perdessem tanto peso em relação aos machos
1214 que comiam somente ração, ajudando na compensação energética.

1215

1216 **Conclusão**

1217 Os tratamentos com inclusão parcial de gema de ovo na dieta de *Betta splendens*
1218 foram os únicos em que as fêmeas apresentaram desova, indicando que uma

1219 substituição parcial de ração por gema de ovo do presente estudo influencia na
1220 reprodução da espécie; também houve uma melhora no desempenho produtivo e de
1221 comportamento reprodutivo evidenciado pela construção de ninhos em machos.
1222 Contudo, mais estudos são necessários para demonstrar outros efeitos desse alimento
1223 alternativo no desempenho zootécnico e na reprodução do peixe ornamental *Betta*
1224 *splendens*.

1225

1226 **Agradecimentos**

1227 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de
1228 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de
1229 Financiamento 001 e da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).
1230 Agradecemos a Ricardo Augusto Ferraz Borges pela elaboração e produção das
1231 figuras.

1232 .

1233 **Referências**

1234 ABINPET, 2022. Mercado PET Brasil 2022, (São Paulo)

1235 AOAC, A. of O.A.C., 2016. Official Methods of Analysis of AOAC International, 20th
1236 ed. G. W. Latimer Jr (ed), (AOAC International: Rockville)

1237 Bertechini, A.G. and Mazzuco, H., 2013. THE TABLE EGG : A REVIEW Ovo de
1238 consumo : uma revisão *Ciência e Agrotecnologia*, 37, 115–122

1239 Dalle Zotte, A., Cullere, M., Pellattiero, E., Sartori, A., Marangon, A. and Bondesan, V.,
1240 2021. Is the farming method (cage, barn, organic) a relevant factor for marketed
1241 egg quality traits? *Livestock Science*, 246, 104453 (Elsevier B.V.)

1242 De Lima, B.S.L., De Sousa, P.H.A.A. and Arauco, L.R.R., 2017. Substrato e nível da
1243 coluna de água na reprodução de *Betta splendens* *Revista Electrónica de*

1244 Veterinaria, 18, 1–9

1245 De Oliveira Lima, J.W., De Góes Cavalcanti, L.P., Pontes, R.J.S. and Heukelbach, J.,
1246 2010. Survival of *Betta splendens* (Regan, 1910) in domestic water containers and
1247 its effectiveness in controlling *Aedes aegypti* larvae (Linnaeus, 1762) in Northeast
1248 Brazil Tropical Medicine and International Health, 15, 1525–1532

1249 Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W. and Greenberg, A.E., 2005. Standard Methods
1250 for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. (American Public Health
1251 Association: Springfield)

1252 Faria, P.M.C., Crepaldi, D.V., Teixeira, E. de . A., Ribeiro, L.P., De Souza, A.B.,
1253 Carvalho, D.C., Melo, D.C. and Saliba, E. de O.S.S., 2006. Criação, manejo e
1254 reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan 1910) Revista Brasileira de
1255 Reprodução Animal, 30, 134–149

1256 Geller, I. V., Garcia, D.A.Z., Yabu, M.H.S., Pereira, A., Ferraz, J.D., Fernandes, A.G.J.,
1257 Magalhães, A.L.B. and Orsi, M.L., 2020. Aquarismo no Brasil: Do simples ao
1258 complexo e o descarte de espécies não nativas Boletim da Sociedade Brasileira de
1259 Ictiologia, 1, 33–52

1260 James, R. and Sampath, K., 2003. Effect of animal and plant protein diets on growth
1261 and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (Regan) The Israeli Journal of
1262 Aquaculture - Bamidgeh, 55, 39–52

1263 Krunt, O., Zita, L. and Kraus, A., 2021. Various hen housing systems determine
1264 different egg quality Acta Fytotechnica et Zootechnica, 24, 219–225

1265 Kunz, Y.W., 2004. Developmental Biology of Teleost Fishes, (Springer: Dublin)

1266 Lichak, M.R., Barber, J.R., Kwon, Y.M., Francis, K.X. and Bendesky, A., 2022. Care
1267 and Use of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens*) for Research Comparative
1268 Medicine, 72, 169–180

- 1269 Lim, L.C., Dhert, P. and Sorgeloos, P., 2003. Recent developments in the application of
1270 live feeds in the freshwater ornamental fish culture *Aquaculture*, 227, 319–331
- 1271 Matiello, M.D., Gonçalves, L.P., Pereira, S.L., Selvatici, P.D.C., Mendonça, P.P. and
1272 Troina, C.A., 2019. Five different foods in initial development of siamese fighting
1273 fish (*Betta splendens*) *AAACL Bioflux*, 12, 1755–1761
- 1274 Oliveira, J.S., de Miranda, J.E.C., Arnero, J. da C., D’Oliveira, P.S. and de Magalhães,
1275 V.M.A., 2015. Como medir a matéria seca (MS%) em forragem utilizando forno
1276 de micro-ondas EMBRAPA, 1–6
- 1277 Panijpan, B., Sriwattanarothai, N. and Laosinchai, P., 2020. Wild Betta fighting fish
1278 species in Thailand and other Southeast Asian countries *ScienceAsia*, 46, 382–391
- 1279 Rasdi, N.W., Ramlee, A., Abol-Munafi, A.B., Ikhwanuddin, M., Azani, A., Yuslan, A.,
1280 Suhaimi, H. and Arshad, A., 2020. The effect of enriched Cladocera on growth,
1281 survivability and body coloration of Siamese fighting fish *Journal of*
1282 *Environmental Biology*, 41, 1257–1263
- 1283 Reading, B.J., Andersen, L.K., Ryu, Y.W., Mushirobira, Y., Todo, T. and Hiramatsu,
1284 N., 2018. Oogenesis and egg quality in Finfish: Yolk formation and other factors
1285 influencing female fertility *Fishes*, 3, 1–28
- 1286 SAS, 2002. SAS - Statistical Analysis System User’s Guide, (Cary: SAS Institute)
- 1287 Silva, D.J. and Queiroz, A.C., 2002. Food analysis: chemical and biological methods,
1288 3rd ed. (UFV: Viçosa, MG)
- 1289 Tytler, P. and Calow, P. (eds), 1985. *Fish Energetics*, 1st ed. (Croom Helm Ltd: London
1290 & Sydney)
- 1291 Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*, 5th ed. (New Jersey : Prentice-Hall)
- 1292 Zuanon, J.A.S., Salaro, A.L., Veras, G.C., Tavares, M.M. and Chaves, W., 2009.
1293 Tolerância aguda e crônica de adultos de beta, *Betta splendens*, à salinidade da

