

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM AQUICULTURA CONTINENTAL

ONTOGENIA INICIAL E CONSUMO DE VITELÓ EM
EMBRIÕES DE *BETTA SPLENDENS*

SHAYTNER CAMPOS DUARTE

GOIÂNIA
2009

SHAYTNER CAMPOS DUARTE

**ONTOGENIA INICIAL E CONSUMO DE VITELO EM
EMBRIÕES DE *BETTA SPLENDENS***

Dissertação apresentada no Curso de Mestrado Profissional em Aqüicultura Continental da Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Aqüicultura Continental.

Área de concentração: Zootecnia/Recursos Pesqueiros

Orientador: Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos

GOIÂNIA

2009

SHAYTNER CAMPOS DUARTE

**ONTOGENIA INICIAL E CONSUMO DE VITELÓ EM
EMBRIÕES DE *BETTA SPLENDENS***

Dissertação defendida no Curso de Mestrado Aqüicultura Continental, da Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, aprovada em 13 de Fevereiro de 2009 pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos – UCG
Presidente da Banca

Prof. Dr^a. Ana Christina Sanches – UCG
Avaliadora Interna

Prof Dr. Manoel Vasquez Vidal Junior – UENF
Avaliador Externo

Dedico esta conquista à minha amada esposa Heloisa, que jamais, mesmo nos momentos de maior dificuldade, deixou de acreditar em mim, me amar e me apoiar.

AGRADECIMENTOS

- A Deus pela minha vida.
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos pela confiança, paciência, companheirismo e ensinamentos, e por mostrar o quanto é grande a ciência animal.
- A coordenação do Mestrado em Aqüicultura Continental, pela oportunidade
- Aos meus pais, pelo amor e carinho.
- A minha esposa, Heloisa que jamais deixou de acreditar em mim, que sempre me apoiou e nunca me deixou desistir de nada em nossas vidas.
- Ao seu Enock e a dona Fátima pela confiança e apoio durante todos estes anos.
- A todos os colegas, mas principalmente ao Ricardo de Matos Morais e Alan Soares Machado, pelo auxílio técnico e pelo grande desprendimento em compartilhar de seus conhecimentos.
- Ao professor Bruno Mariano pelo apoio e incentivo antes do mestrado.

“Quando uma porta se fecha para você, em algum lugar existe outra porta que está escancaradamente aberta à sua espera. Se um obstáculo se transpõe em seu caminho, existe uma nova trilha ao redor pela qual você poderá passar. Quando o plano A fracassou e também o plano B, sempre existe o plano C que poderá levá-lo aonde você deseja chegar.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

Dentre as espécies ornamentais o *Betta splendens* é uma das que merece destaque, devido ao grande interesse comercial. O processo de ontogenia pode ser descrito como o desenvolvimento do embrião do momento da fecundação, passando pela fase de desenvolvimento embrionário, até a eclosão ou fases posteriores. O estudo da embriogênese de uma espécie é de grande importância, sendo uma ferramenta útil no estudo do crescimento de espécies em seu ambiente natural. O presente trabalho teve por objetivo descrever a ontogenia inicial em embriões da espécie *B. splendens*. Foi possível observar que com o passar do tempo embrionário, houve uma diminuição na altura do vitelo e posteriormente no comprimento do vitelo principalmente no terço final do período embrionário. Os volumes de vitelo disponíveis para o embrião diminuíram durante o desenvolvimento embrionário, passando de 0,19912 mm³ média do valor às 12,5 HPF, para 0,10262 mm³ momentos após a eclosão que se iniciou com 34,0 HPF. Foi possível observar que as larvas recém-eclodidas continham um volume residual de vitelo de 0,01935mm³ ± 0,005 e nesse resíduo ainda foi possível observar gotas de óleo. As larvas recém eclodidas observadas no presente estudo não utilizaram alimentos de fonte exógena. O embrião de *B. splendens* tem fases de desenvolvimento embrionário comparáveis ao observado em outras espécies de teleósteos. O consumo de vitelo é mais acentuado no terço final do desenvolvimento embrionário, após as 15,0 horas-pós-fecundação, no período próximo à eclosão e no período logo pós-eclosão. Através do presente trabalho foi possível observar e registrar os estágios principais do desenvolvimento do peixe de briga siamês *B. splendens*, e também verificar a taxa de consumo de vitelo durante as fases da embriogênese até o momento da eclosão e das larvas recém-eclodidas, contribuindo dessa forma para um melhor conhecimento da biologia da espécie.

Palavras-chave: ontogenia, beta, peixe-de-briga, vitelo, ornamental.

ABSTRACT

Among the ornamental species, the *Betta splendens* deserve highlights, because of its great commercial interest. The process of ontogeny can be described as the development of the embryo at the time of fertilization, through embryonic development stage to the hatching or later stages. The study of the embryogenesis of a species is of great importance and is a useful tool in study of the growth of species in their natural environment. This work aimed to describe the initial ontogeny in embryos of specimen *B. splendens*. It was possible to observe that as time marches on embryogenesis, there was a decrease in the height of the yolk and in its length, mainly in the final third of the embryonic period. The volume of yolk available to the embryo decreased during embryonic development, from 0.19912 mm³ average value of the HPF 12.5 to 0.10262 mm³ moments after the eruption that began with 34.0 HPF. It was possible to observe that the newly-hatched larvae had a residual volume of yolk of 0.01935 mm³ ± 0005, where was still possible to observe drops of oil. The newly hatching larvae observed in this study did not use exogenous food source. The embryo of *B. splendens* has stages of embryo development comparable to that observed in other species of teleosts. Consumption of yolk is more prominent in the final third of embryonic development, after 15.0 hours post-fertilization, in the period near the hatch and the period immediately after hatching. Through this work we observed and recorded the main stages of the development of the Siamese fighting fish *B. splendens*, and also verify the rate of consumption of yolk during the stages of embryogenesis until the larvae hatch and the newly-hatched, contributing thus to a better understanding of the biology of the species.

Keywords: ontogeny, beta, fight fish, yolk, ornamental

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Observação interna e externa de ovos recém fertilizados de <i>Betta splendens</i> .A: gotas de óleo (GO): B: pólo animal (PA).....	26
Figura 2	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período de clivagem: (A) 0,5 HPF com 2 blastômeros; (B) 2,5 HPF e com 16 blastômeros; (C) 3,0 HPF; (D) 4,0 HPF, Blástula.....	28
Figura 3	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da blástula: (A) 5,0-6,5 HPF e (A1) 256-células; (B) 7,0 HPF estágio oval; (C) 7,5 HPF estágio esférico.....	29
Figura 4	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da gástrula: (A) 11,0 HPF gástrula 50% e (B) 13,0 HPF Gástrula 70%.....	31
Figura 5	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da organogênese: (A) Eixo embrionário (Ee) 15,0 HPF; e (B) Primórdio óptico (Po) 15,5 HPF; (C) 10 somitos (S) e (C1) início da vesícula óptica (Vo) 19,5 HPF.....	33
Figura 6	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da organogênese: (A) e (B) observação do condrocânio (Cd) 24,0 HPF.....	34
Figura 7	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da organogênese: (A) coração 25,0 HPF.....	34
Figura 8	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período da organogênese: (B) momento pós-eclosão dos embriões 38,0 HPF.....	36
Figura 9	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> : decréscimo da altura do vitelo em mm pelo tempo de desenvolvimento em horas-pós fecundação.....	37
Figura 10	Desenvolvimento embrionário de <i>B. splendens</i> durante o período embrionário: decréscimo do comprimento do vitelo em mm pelo tempo de desenvolvimento em horas-pós-fecundação.....	37
Figura 11	Decréscimo do volume de vitelo em função do tempo em horas-pós-fecundação.....	38
Figura 12	Altura de vitelo de <i>B. splendens</i> : (A) organogênese 30,0 HPF; (B) larva recém-eclodida, comprimento do vitelo 40,0 HPF.....	39
Figura 13	Consumo de vitelo nas ultimas 24horas de desenvolvimento embrionário e de larvas recém eclodidas de <i>B. splendens</i>	40
Figura 14	Consumo de vitelo e, porcentagem nas ultimas 24horas de desenvolvimento embrionário e de larvas recém eclodidas de <i>B. splendens</i> .	40
Figura 15	Larvas recém eclodidas de <i>B. splendens</i>	41
Figura 16	Larvas recém eclodidas de <i>B. splendens</i>	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Eventos e estágios embrionários de <i>Betta splendens</i> observados até às 7,5 HPF do experimento.....	27
Tabela 2	Eventos e estágios embrionários de <i>Betta splendens</i> observados das 8,5 às 14,5 HPF do experimento.....	30
Tabela 3	Eventos e estágios embrionários de <i>Betta splendens</i> observados das 15 às 38 HPF do experimento.....	32
Tabela 4	Valores médios (n=10) de comprimento e altura da vesícula vitelínica e volume do vitelo durante o período embrionário.....	38
Tabela 5	Valores de médias(\pm desvio padrão), CV e erro padrão do volume do vitelo (em mm ³), durante o período embrionário de <i>Betta splendens</i>	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CV	Coeficiente de variação
FAO	Food and Agriculture rganization
H0	Hora zero da fecundação
HGPF	Horas-graus-pós-fecundação
HPF	Horas-pós-fecundação
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
MPAC	Mestrado profissionaI em aquíicultura continental

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
3	REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1	A aqüicultura no Brasil e no Mundo.....	16
3.2	O <i>Betta splendens</i> : caracterização da espécie.....	17
3.3	Hábitos alimentares.....	18
3.4	Reprodução.....	19
3.5	Desenvolvimento embrionário.....	20
3.6	O vitelo.....	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1	Os ovos de <i>Betta splendens</i>	26
5.2	Desenvolvimento Embrionário de <i>Betta splendens</i>	26
5.3	Período de clivagem.....	27
5.4	Período de blástula.....	28
5.5	Período de gástrula.....	30
5.6	Período de organogênese.....	31
5.7	Consumo do vitelo.....	37
6	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
	APÊNDICE A	51
	APÊNDICE B	52

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura pode ser definida como a produção de organismos com habitat predominantemente aquático, tais como peixes, camarões e rãs. Pode-se dizer que o sucesso desta atividade está associado ao conhecimento das características morfo-fisiológicas e comportamentais das espécies cultivadas.

A piscicultura ornamental brasileira é uma atividade relativamente recente, e tem como marco histórico a introdução de peixes ornamentais asiáticos em meados da década de 20 no Rio de Janeiro/RJ, por um imigrante de origem japonesa, Sigeiti Takase, que veio ao Brasil interessado em estudar a ictiofauna local. Takase trouxe mais de 50 espécies para cultivo e em águas brasileiras descobriu mais de uma centena de espécies da ictiofauna brasileira, algumas das quais ele passou a cultivar (CAMARGO, 1971).

Dentre as espécies ornamentais, o *Betta splendens*, conhecido popularmente no Brasil como beta ou peixe de briga, e no exterior como “Siamese fighting fish”, destaca-se no mercado de peixes ornamentais não só pela beleza e variedade de cores como também pela rusticidade. Esta espécie ornamental é uma das cinco mais importadas pelos Estados Unidos, tanto em número de peixes como em dólares gastos anualmente, o que torna cada vez mais necessário o emprego de novas tecnologias de manejo, para aproveitamento destes nichos de mercado (CHAPMAN et al., 1997, FERREIRA, 2007).

A descrição e o conhecimento dos estágios embrionários dos peixes teleósteos favorecem o manejo da incubação, evitando que as variáveis ambientais possam conduzir as larvas à má formação e à baixa produtividade em cativeiro. Este conhecimento permite, ainda, a identificação precisa dos embriões, facilitando a avaliação do estágio do desenvolvimento embrionário, em laboratórios que realizam a produção maciça de peixes juvenis a partir da reprodução induzida (ORBOLATO, 2006).

Segundo Ferreira (2007), o processo de ontogenia pode ser descrito como o desenvolvimento do embrião, do momento da fecundação até a eclosão ou fases posteriores, passando pela fase de desenvolvimento embrionário. A ontogenia inicial de peixes pode ser considerada como uma série de etapas susceptíveis a fatores externos, das quais a mais importante é o período de transição entre a alimentação endógena e a exógena (SANTIN et al., 2004). Alguns autores comentam que a ontogenia de peixes nativos, de corte e ornamentais, tem despertado o interesse dos pesquisadores, uma vez que é importante para o conhecimento da história de vida inicial e da biologia da espécie, para taxonomia e

larvicultura comercial e para o bom desempenho da piscicultura (MACIEL, 2006; FERREIRA 2007).

Existe uma grande mortalidade nas fases iniciais causada por uma série de limitações e variações físico-químicas, o que dificulta a produção de peixes. Informações relacionadas ao desenvolvimento morfológico e morfométrico, padrões de crescimento e comportamento de peixes são fundamentais para compreender as mudanças das exigências fisiológicas e ecológicas de cada espécie e os fatores que afetam o desenvolvimento da população estudada (KOVAC & COPP, 1999, MACIEL, 2006).

O estudo da ontogenia é útil como ferramenta para a descrição e conhecimento do início do desenvolvimento de diversas espécies, da classe Osteichthyes, podendo contribuir para o desenvolvimento comercial em cativeiro de novos estoques e avaliação daqueles já explorados (SANTIN et al., 2004). O estudo da embriogênese de uma espécie é uma ferramenta útil no estudo do crescimento de espécies em seu ambiente natural. Estudos mais detalhados da histologia dos embriões estão sendo realizados a fim de detalhar e determinar os eventos principais do desenvolvimento embrionário.

Há pouca informação sobre desenvolvimento embrionário de peixes ornamentais, em especial no caso do *B. splendens*. Não foi observado, na literatura consultada, registro científico do seu desenvolvimento embrionário e sobre o consumo de vitelo desta espécie ornamental, de importância econômica na aqüicultura ornamental.

Atualmente, a aqüicultura é o setor de produção de maior crescimento no mundo, e a aqüicultura ornamental acompanha este crescimento. O Brasil é um país com grande potencial para o desenvolvimento dessas atividades, mas enfrenta um grande desafio, que é desenvolvê-la e utilizá-la de forma sustentável.

A pesquisa em ontogenia e consumo de vitelo pode contribuir na identificação dos ovos e das larvas viáveis, produzidas em cativeiro para otimizar o momento do início da alimentação. O monitoramento e a observação da desova e o acompanhamento do desenvolvimento inicial podem subsidiar o processo de criação maximizando o desenvolvimento do *B. splendens*.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Descrever a ontogenia inicial e o consumo de vitelo em embriões da espécie *B. splendens*.

2.2 Específicos

Descrever a seqüência de eventos morfo-fisiológicos durante o desenvolvimento dos embriões de *B. splendens*;

Acompanhar o processo de consumo de vitelo durante o período embrionário até o momento da eclosão;

Determinar o momento crítico do consumo de vitelo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A aquicultura no Brasil e no Mundo

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, FAO (2006), no ano de 2005 a aquicultura teve um crescimento de 5,2% na produção total, alcançando o valor de 63 milhões de toneladas, dos quais 30,3 milhões são de peixes; por outro lado a pesca extrativista apresentou uma produção de 94,6 milhões de toneladas, representando queda de 1,2% em relação ao ano anterior. No total foram 157,6 milhões de toneladas de pescado produzido, dos quais aproximadamente 40% são provenientes da aquicultura.

No Brasil, a produção em 2005, foi de um milhão de toneladas, das quais 75% foram provenientes da pesca extrativista e 25% da aquicultura (IBAMA, 2005).

A aquicultura brasileira é responsável por 10,4% da produção aquícola da América Latina. A produção nacional está concentrada na região Sul (234.000 t), seguido pelas regiões Sudeste (161.000 t), Centro-Oeste (44.000 t), Nordeste (323.000 t) e Norte (252.000 t). No entanto, o que mais chama atenção nos dados relativos ao período de 1995 a 1998 são as taxas de crescimento verificadas na região Centro-Oeste, onde o aumento da produção chegou a 86,2% (SEAP, 2005).

A aquicultura encontra-se em plena expansão no Brasil, principalmente devido ao grande potencial hídrico e a enorme biodiversidade, com espécies de peixes nativas de corte, e ornamentais ainda pouco exploradas e com potencial zootécnico ainda pouco conhecido ou desconhecido (PEZZATO, 1997).

A prática de colecionar peixes desenvolveu-se na China durante a dinastia Sung (d.C. 970-1279), quando a coleção de carpas vermelhas já era uma prática comum no Japão. Com o advento das navegações e desenvolvimento do comércio no século XVI, estes peixes foram levados para outras partes do mundo, chegando à Europa no século XVII e à América no século seguinte (MILLS, 1998).

A produção de peixes ornamentais é uma modalidade da aquicultura em plena expansão nas últimas décadas (CHAPMAN et al., 1997). O estado de Minas Gerais destaca-se como o maior centro de produção do Brasil. Entretanto, o Brasil participa com apenas 6,5% das importações no mercado norte-americano, indicando a necessidade de maior apoio e incentivo à atividade, tendo em vista o grande potencial nacional (PEZZATO & SCORVO FILHO, 2000).

3.2 O *Betta splendens*: caracterização da espécie

O *B. splendens* pertence à família *Belontiidae* e à Subordem *Anabantoidei*, cuja característica principal é a existência de um órgão acessório, localizado na parte superior de seu tórax, chamado de labirinto, que permite que o animal respire o oxigênio atmosférico (FARIA et al, 2006).

Classificado pelo ictiólogo inglês Charles Tate Regan no ano de 1910, o *B. splendens* é oriundo dos países asiáticos, mais exatamente do Vietnã, Cambodja, Laos, Tailândia e Sião, habitando charcos, quase sempre ocupados por plantações de arroz e culturas semelhantes. A água desses mananciais geralmente é estagnada e possui baixo potencial de oxigênio dissolvido (GOUVEIA JR et al., 2007)

Estima-se que os primeiros exemplares de beta foram capturados no Sião, próximo ao local onde habitou, no passado, uma tribo de guerreiros chamada de “Ikan Bettah”. O fato de o beta ter esse nome seria pelo seu territorialismo e sua agressividade, levando o animal em questão a receber o nome de “Betta” (FARIA et al., 2006).

Ainda segundo o mesmo autor, os primeiros exemplares chegaram ao Brasil por volta do ano de 1930, passando a serem cultivados pelos aquarofilistas e produzidos comercialmente a partir da década de 1950 por estrangeiros radicados, principalmente no Rio de Janeiro e São Paulo.

Inicialmente a produção limitava-se a algumas centenas de exemplares por mês que eram vendidos em empresas de aquarofilia e aquarofilistas que existiam na época. Atualmente estima-se que a produção de betas, no Brasil, ultrapasse a barreira de duzentas mil unidades/mês, sendo que este número aumenta no verão e diminui no inverno, em função das variações de temperatura (FARIA et al, 2006).

O beta é conhecido popularmente como peixe de briga, porque dois ou mais exemplares machos, quando colocados juntos se atacam. O processo começa com rodeios e movimentações de suas nadadeiras, onde cada qual procura mostrar suas cores. Aberturas e fechamentos dos opérculos também fazem parte deste comportamento. A partir daí podem ocorrer interações agonísticas. O combate só termina quando um dos peixes se afasta ou cai ao fundo totalmente debilitado (KIM, 2007).

O clima tropical, a abundância de água de qualidade e de custo relativamente baixo, favorecem a expansão da atividade de criação de betas na maioria dos estados brasileiros, excetuando-se aqueles localizados na região sul, onde as baixas temperaturas tendem a onerar os custos de produção em função da necessidade de estufas climatizadas (LUZ, 2002).

O mesmo autor afirma ainda que RETIRE A VIRGULA alguns países da continente asiático apreciam as brigas de beta. Eles são colocados em rinhas, algumas em praças públicas, e as contendas geram apostas envolvendo altos valores; os peixes vencedores são vendidos por altas somas.

As linhagens comerciais atualmente encontradas são o resultado de uma longa seleção feita por criadores visando a dois aspectos distintos: a produção de peixes com características morfológicas desejáveis, como belas nadadeiras e corpo colorido com reflexos metálicos e iridescentes, e a criação de peixes mais agressivos para serem utilizados em torneios de luta, mais comuns no Sudeste Asiático, sendo que esses últimos normalmente apresentam nadadeiras curtas e são de maior tamanho (PAMPLONA et al., 2004). Estes mesmos autores afirmam que, atualmente, além do aquarismo convencional, essa espécie tem sido utilizada no Brasil como controle biológico de mosquitos em caixas d'água e em outros recipientes, como os das espécies *Aedes aegypti*, no Ceará, e o da *Culex quinquefasciatus* em Pernambuco.

O habitat natural do beta tem como características uma pequena coluna de água e um baixo teor de oxigênio dissolvido, o que pode ter sido a causa de sua adaptação a condições que seriam poucos favoráveis a outras espécies. Na criação em cativeiro tais características facilitam o manejo e diminuem os problemas com a oxigenação da água (AGUIRE, 1998).

No período pós-eclosão onde a larva e o alevino ainda não possuem o labirinto desenvolvido tal característica não ocorre, sendo necessária a oxigenação da água nesta fase do desenvolvimento do peixe.

3.3 Hábitos alimentares

Originalmente o beta é carnívoro e, desta forma, possui o trato digestivo curto indicando que realiza uma digestão rápida. Desta forma, uma vez que o período de exposição da digesta à mucosa intestinal é pequeno, se torna conveniente alimentá-los muitas vezes ao dia sempre em pequenas porções. Além de uma gama de rações industrializadas existente no mercado “Pet”, pode-se utilizar também uma série de outros alimentos, como por exemplo: raspas de coração de boi cru, raspas de camarão cru, patês de coração com espinafre, artêmia salina viva ou congelada, minhocas de jardim cortadas em pequenos pedaços, enquitrêias, larvas de *Drosophila melanogaster* (mosca da fruta), larva de pernilongo, dáfnia, entre outros (WOLFSHEIMER, 2003; VIANA, 2008a).

Deve-se fornecer para o beta, uma alimentação de fácil digestão e rica em proteínas. Atualmente, existem poucos estudos sobre as exigências nutricionais da maioria das espécies ornamentais e, conseqüentemente, não existem dietas comerciais balanceadas específicas para utilização na produção em larga escala (VIANNA, 2008b).

3.4 Reprodução

O sucesso na piscicultura está estreitamente relacionado com a capacidade de perpetuação das espécies, produzindo larvas que serão utilizadas para criação visando a sua terminação ou formação do plantel de reprodutores. O processo reprodutivo nos peixes é bastante diversificado, apresentando diversos mecanismos reprodutivos como a partenogênese, a bissexualidade e o hermafroditismo. O mecanismo reprodutivo mais comum nos peixes é a bissexualidade, em que os indivíduos apresentam sexo separado, ou seja, macho e fêmea (ZIMMERMANN, 2001).

O *B. splendens* é uma espécie ovípara, sendo o cuidado parental feito pelo macho. A sua reprodução em cativeiro pode ser considerada fácil. Escolhem-se os exemplares para reprodução entre adultos jovens, com cerca de um ano de idade ou pouco mais, que alcançaram a idade adulta recentemente (DAMAZIO, 1992).

O macho estará apto para a reprodução quando estiver construindo o ninho de bolhas na superfície da água. Uma característica interessante dessa espécie é a sua precocidade sexual. Exemplares de três meses, quando bem alimentados estão aptos à reprodução. James & Sampath (2004) avaliaram a idade necessária para a maturidade sexual em juvenis de beta a partir de 30 dias sendo administrado alimento uma, duas ou três vezes ao dia. Após 77 dias, as fêmeas estavam aptas à reprodução em ambos os três tratamentos, apresentando melhor desempenho reprodutivo aquelas que foram as alimentadas duas vezes ao dia.

A fêmea estará pronta para a reprodução quando apresentar o ventre mais arredondado e a saída do canal urogenital saliente, com o formato semelhante a um pequeno ovo, se projetando na parte ventral do abdome. Uma fêmea sexualmente madura e apta para a reprodução, quando é colocada na presença do macho altera a organização de seus cromatóforos que são as células providas de pigmentos responsáveis pela mudança de coloração dos peixes. O seu corpo que geralmente apresenta uma cor sólida ou compacta passa a apresentar barras verticais (FARIA, 2006).

Ainda segundo o mesmo autor, geralmente, em poucas horas o macho terá construído um ninho feito de pequenas bolhas, utilizando-se da sua própria “saliva”.

Durante a reprodução o macho fica por varias vezes ao lado da fêmea. Nestes momentos o beta nada em par e ocorre o que pode ser chamado de “abraço nupcial”. A desova pode demorar até 4 horas. Após isto o macho vai se dedicar exclusivamente ao ninho (SMITH, 2005).

3.5 Desenvolvimento embrionário

O processo de desenvolvimento embrionário inicia-se com a fecundação do óvulo pelo espermatozóide, via micrópila. Após a fertilização, o ovo absorve água e ocorre a formação do espaço perivitelínico, com a separação do córion da membrana vitelina. Os ovos dos peixes são telolécitos, ou seja, possuem grande quantidade de vitelo, estando o pólo animal junto ao citoplasma em um pequeno compartimento do ovo, do qual o embrião irá se nutrir durante a embriogênese, e que é também utilizado para nutrir a larva por algum tempo após a eclosão (NAKATANI et al., 2001).

A descrição dos estágios embrionários dos teleósteos contribui para a avaliação precisa do seu desenvolvimento (SENHORINI, 1993).

Segundo Maciel (2006), tem havido nos últimos anos uma maior repercussão das pesquisas em ontogenia, pois o estudo do desenvolvimento embrionário tem fornecido subsídios às pesquisas de grande repercussão e inovação no meio científico. A ontogenia de peixes de corte e ornamentais tem despertado o interesse dos pesquisadores, uma vez que estes estudos são importantes para o conhecimento da história de vida inicial e da biologia da espécie, para taxonomia e larvicultura comercial e para o bom desempenho da piscicultura.

Na espécie *B. splendens*, a eclosão dos ovos se dá de 24 a 48 horas após a desova. O ninho vai ficando escurecido pelos filhotes que já nasceram. Às vezes, alguns deles se desprendem das bolhas e o pai os apanha, conserta o ninho e os recoloca. Quando os filhotes estiverem nadando normalmente, na posição horizontal, em torno de três a cinco dias após a eclosão, é hora de retirar o macho, pois este irá atacar os juvenis devido ao seu territorialismo. Após o quarto dia, quando os filhotes já começarem a nadar sozinhos, deve-se retirar o macho e começar a oxigenar a água já que os filhotes ainda não possuem o labirinto formado e, portanto, não conseguem ainda aproveitar o oxigênio aéreo (KIM, 2006).

Após a eclosão, o embrião torna-se muito ativo, sendo o córion amolecido como resultado da ação enzimática. O grau de diferenciação da larva recém-eclodida depende da espécie considerada e relaciona-se ao tamanho do ovo. O período de incubação depende desses fatores e da temperatura (BLAXTER, 1998).

Este autor cita ainda que algumas espécies de peixes, eclodem com o sistema alimentar inicialmente funcional e com olhos pigmentados. A flexão da notocorda que precede a formação da nadadeira caudal ocorre antes da eclosão demonstrando que algumas larvas são mais avançadas que outras. O estágio larval pode durar alguns dias ou meses dependendo da espécie e fatores externos. Durante este período a larva aumenta seu tamanho e peso em até 100 vezes. Ocorre diferenciação progressiva de caracteres adultos, tais como raios das nadadeiras e ossificação do esqueleto. A larva passa por um período de metamorfose até a fase de juvenil, o sangue torna-se pigmentado, as escamas e os pigmentos aparecem na superfície do corpo, os caracteres merísticos, tais como raios das nadadeiras, são completados e a forma do corpo torna-se igual à do adulto. Assim sendo, o juvenil assemelha-se a um pequeno adulto.

Os eventos morfo-fisiológicos comumente observados ao longo das avaliações ontogênicas em embriões são: a formação e clivagem do blastodisco; a evolução da blástula e da gástrula sobre a vesícula vitelínica (pólo vegetal); a diferenciação do eixo embrionário, da vesícula óptica, dos somitos, o surgimento da vesícula de Kupffer e de melanóforos e a eclosão (REID & HOLDWAY, 1995; SOUZA, 2004; FUJIMOTO et al., 2004; FUJIMOTO et al., 2006; FERREIRA et al., 2006).

O ovo recém-fertilizado compreende a fase a partir da fertilização até a organização do pólo animal, representado pelo blastodisco e do pólo vegetativo. A segmentação se caracteriza por clivagens sucessivas dos blastodisco, originando os blastômeros.

A blastulação é a fase na qual o blastodisco apresenta-se estratificado e alto, com pequenas cavidades entre os blastômeros e a presença de uma lâmina sincicial perivitelínica (NAKATANI et al., 2001)

Na gastrulação as células do blastodisco deslocam-se e separam-se em epiblasto, futuro folheto externo e hipoblasto que formará a notocorda, meso e endoderme. Na fase de fechamento do blastóporo temos a delimitação de três regiões: a zona embriogênica, que é o corpo do embrião, exceto a cauda, as bordas de fechamento, que compreendem a porção caudal e a parede do saco vitelínico, podendo ser ainda visualizados os primeiros somitos. Após estes fatos ocorre a formação da vesícula óptica, que a essa altura se torna evidente,

seguida da liberação da cauda que irá se destacar do saco vitelínico. A eclosão acontecerá após sucessivas contrações musculares da cauda e do corpo (NAKATANI et al., 2001)

Estudos morfométricos dos ovos e larvas de peixes são uma ferramenta extremamente valiosa, sobretudo para a taxonomia. A grande semelhança morfológica entre diferentes grupos taxonômicos foi o principal obstáculo à identificação de larvas, principalmente larvas coletadas no ambiente natural. Análises morfométricas nos permitem comparar as diferentes fases de desenvolvimento dentro e entre espécies e, em conjunto com outras características, permite a identificação correta das larvas (SANCHES et al., 1999).

3.6 O vitelo

O vitelo pode ser descrito como plasma nutritivo com função de fornecer substâncias necessárias ao embrião em desenvolvimento. A quantidade de vitelo é variável nos diferentes óvulos; varia também a localização de vitelo em relação ao citoplasma e ao núcleo. Esses dois caracteres permitem classificar os óvulos em diversos tipos (BALDISSEROTTO, 2002; BLAXTER, 1998).

A vitelogenina é o precursor das proteínas que formam o vitelo, em todos os animais ovíparos. Estocadas nos ovócitos em crescimento, elas servem de fonte de energia e de alimentos durante a embriogênese. Vários genes da vitelogenina foram isolados e caracterizados para um grande número de organismos. Nos vertebrados a vitelogenese ocorre no fígado de fêmeas sob controle dos estrógenos. Após a síntese, esta proteína é modificada e secretada para a corrente sanguínea. Nos ovócitos ela é, então, internalizada via receptores membranares. Durante este processo a vitelogenina é clivada gerando as proteínas do vitelo, aquelas ricas em lipídeos, lipovitelinas e aquelas ricas em fosfatos (OLIVIERA, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para a observação da embriogenese do beta e a análise do consumo de vitelo foram utilizados ovos provenientes de desovas naturais de *B. splendens*, variedade comum provenientes do plantel do setor de aquicultura do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Foram colocados para o acasalamento 06 casais, distribuídos em 06 aquários de 05 litros cada. Para estímulo à reprodução, a fêmea foi colocada dentro de um recipiente no aquário, ficando separada do macho. O casal foi alimentado com ração comercial com 42% de proteína bruta e também com artêmias e dáfneas. Como suporte para a ovoposição, foram colocadas folhas da aguapé ou um pedaço quadrado de isopor (5 X 5 cm), o que facilitou para o macho fazer o ninho.

As desovas ocorreram de forma espontânea e os ovos foram retirados dos ninhos com auxílio de peneiras finas, sendo agrupados em um aquário de 40 litros que continha apenas água do sistema de abastecimento do laboratório.

A primeira desova retirada continha aproximadamente 400 ovos e a segunda, aproximadamente 200, estas desovas foram acondicionadas juntas no aquário experimental, formando o grupo de ovos a serem usados, a finalidade de se utilizar duas desovas foi a de aumentar a quantidade de ovos no final, já que a perda era muito grande. As desovas foram acomodadas em peneiras flutuantes, onde ficaram durante todo o período de incubação a 28°C até o momento da eclosão. As amostras, contendo em média 10 (dez) ovos foram observadas em microscópio óptico com aumento de 25X ou 100X para caracterização e identificação do estágio embrionário.

A altura dos ovos foi definida como a distância do pólo animal a extremidade diametralmente oposta e o comprimento definido como o eixo longitudinal do ovo. Estes dois eixos foram medidos com o auxílio de ocular dotada de escala micrométrica. As observações foram feitas a cada 04 horas, onde foram observados e medidos 10 (dez) ovos, totalizando 09 (nove) repetições com 90 (noventa) observações.

A observação da aparência externa dos embriões foi realizada a cada meia hora durante o período embrionário de 0 a 30 h, a cada 1h no período de 30h até o momento de eclosão, que ocorreu por volta das 04 horas do terceiro dia pós-fecundação, totalizando um total de 69 (sessenta e nove) observações.

A cada etapa de observação 10 (dez) ovos eram retirados aleatoriamente da peneira, colocados em lâminas de vidro, observados em microscópio óptico (25X e 100X) e fotografados com câmera digital DSC P-200, acoplada ao tubo trinocular do microscópio óptico. Ao final de cada observação os ovos retornavam para as respectivas peneiras.

Cada um dos estágios de desenvolvimento embrionário foi identificado a partir do momento em que a maioria dos ovos atingiu aquele estágio. As figuras ilustrando os estágios embrionários foram documentadas por meio de micrografias.

Os estágios desenvolvimento embrionários foram classificados com base nas características morfológicas, de acordo com a metodologia utilizada para a piabanha (*Brycon insignis*) (SOUZA, 2004) e os critérios utilizados para o dojô (*Misgurnus anguillicaudatus*) (FUJIMOTO et al. 2006), e seguiram as definições de Fujimoto et al. (2004) e Ferreira (2007), com a clivagem compreendendo o período de 2 blastômeros até 64 blastômeros, passando logo após, a partir de 128 blastômeros para o período de blástula. Após este período tivemos a descrição do desenvolvimento no período de gástrula e depois foram descritos os eventos morfo-fisiológicos do período de organogênese. As definições para os estágios de blástula foram adaptadas de Fujimoto et al. (2006).

Para a mensuração de tempo e correlação com os eventos morfo-fisiológicos e o consumo do vitelo foram utilizadas as medidas de horas-pós-fecundação (HPF) e horas-graus-pós-fecundação (HGPF). Para HPF a medida é feita apenas contando-se o tempo passado após a desova que corresponde a H0. No caso das HGPF faz-se a multiplicação da hora-pós-fecundação em que ocorreu o evento pelo o valor em graus celsius da temperatura da água do experimento no dado momento.

Após a eclosão dos ovos, as larvas recém eclodidas (larvas H0) foram caracterizadas visualmente, quanto à capacidade natatorial e a posteriormente 11 indivíduos tiveram estimados, o comprimento total, altura da larva, comprimento e altura do saco vitelínico. Além desses parâmetros também foi contado o número de somitos.

A temperatura da água dos aquários das matrizes e da incubadora foi mantida dentro de uma variação mínima desejada mediante o uso de aquecedor acoplado a termostato automático, que foi medida no momento da coleta dos ovos nos aquários das matrizes e em cada momento de observação na água dos aquários incubadoras. Estas mensurações foram realizadas utilizando-se termômetros de bulbo de mercúrio.

Os valores médios observados para os parâmetros físico-químicos da água da incubadora, durante o período experimental, foram de $27,98 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ para a temperatura; $7,43 \pm 0,46$ para o pH; para a condutividade e de $6,30 \pm \mu\text{S}$ e $0,41 \text{ mg/L}$ para oxigênio dissolvido.

O pH da água foi mantido em valores próximos a 7,0. O pH foi avaliado a cada 06 horas, no momento da observação com auxílio de medidor eletrônico de pH.

O oxigênio dissolvido da água da incubadora foi monitorado com auxílio de oxímetro digital, medido durante todo o período do experimento, 4 vezes ao dia, as 0h, as 6h, as 12h e 18h.

Os valores de altura (AV) e de comprimento da vesícula vitelínica (CV) foram utilizados para o cálculo do volume de vitelo através da fórmula, proposta por Blaxter & Hempel (1963):

$$\text{onde: } V = \frac{\pi \cdot CV \cdot AV^2}{6}$$

A análise estatística dos dados foi descritiva para todos os parâmetros e foi feita uma análise de regressão do volume de vitelo pelo tempo definido em horas-pós-fecundação e horas-*graus*-pós-fecundação, buscando determinar a equação que melhor descrevesse a variação do volume de vitelo em função do tempo pré-eclosão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Os ovos de *Betta splendens*

Os ovos de *B. splendens* observados apresentaram forma esférica, com o córion e a vesícula vitelínica pouco translúcida (mais escura que outras espécies). O diâmetro dos ovos recém fecundados variou de 0,6210mm a 0,7200mm, com valor médio de 0,6506mm. Esses resultados demonstraram que os ovos de *B. splendens* possuem diâmetros menores que ovos de *Melanotaenia splendida inornata* com média de 0,8800mm e de *Melanotaenia nigrans* que foram de 1,0500mm (REID & HOLDWAY, 1995), e de *Glossolepis incisus* que foi 0,9000mm a 1,1000mm (FERREIRA, 2007).

O córion demonstrou-se pouco rígido e sua textura era semelhante à de pequenas “esferas gelatinosas”. Os ovos (Figura 1) continham inúmeras gotas de óleo de tamanhos variados, inicialmente espalhadas pela periferia da vesícula vitelínica.

Foi observada a mesma disposição e o mesmo comportamento de agregação das gotas de óleo observados para ovos recém fecundados de *Melanotaenia fluviatilis* por Ferreira, (2007). As gotas de óleo ao longo do desenvolvimento se agruparam em uma região da vesícula oposta ao blastodisco.

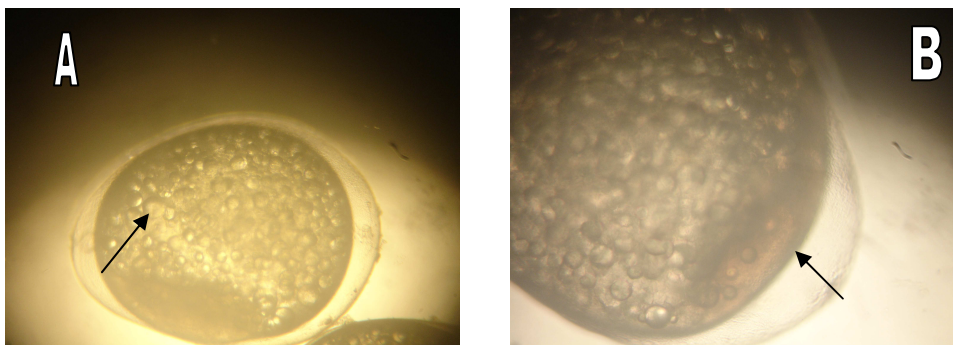


Figura 1. Observação interna e externa de ovos recém fertilizados de *B.splendens*. A: gotas de óleo (GO); B: pólo animal (PA).

5.2 Desenvolvimento embrionário de *Betta splendens*

O desenvolvimento embrionário de *B. splendens* apresentou cinco períodos bem definidos, divididos em clivagem, blástula, segmentação, organogênese e pré-eclosão assim

como observado para o gênero *Melanotênia* e demais teleósteos (REID & HOLDWAY, 1995; HUMPHREY et al. 2003; FUJIMOTO, 2006).

As primeiras modificações observadas no ovo foram a movimentação do citoplasma em direção ao pólo animal e a formação do blastodisco, 30 minutos após a fertilização. A clivagem em embriões de *B. splendens* foi do tipo meroblástica ocorrendo da mesma forma que em outros teleósteos. Os blastômeros se dividiram inicialmente a cada 30 minutos em média. Os estágios do desenvolvimento embrionário estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Eventos e estágios embrionários de *Betta splendens* observados até às 7,5 HPF do experimento.

Estágios	HPF	HGPF °C
Fecundação	0	0
Pólo animal 1ª divisão	1,0	28,0
2 blastômeros	1,5	42,0
4 blastômeros	2,0	56,0
8 blastômeros	2,5	70,0
16 blastômeros	3,0	84,0
32 blastômeros	3,5	98,0
64 blastômeros	4,0	112,0
128 blastômeros	4,5	126,0
256-1024 blastômeros	5,0 – 6,5	140,0 – 182,0
Oval 2048 blastômeros	7,0	196,0
Esférico	7,5	210,0

* Horas-pós-fecundação (HPF)

* Horas-graus-pós-fecundação (HGPF)

5.3 Período de clivagem

A primeira clivagem, com 2 células, ocorrida às 1,5 HPF e 42,0 HGPF, se iniciou logo após a fecundação, e com 90 minutos, dois blastômeros já eram perfeitamente visíveis (Figura 2A).

O sulco da segunda clivagem, com 4 células, observado às 2,00 HPF e 56,0 HGPF, foi formado transversalmente ao primeiro dividindo os dois blastômeros. O blastodisco nesta fase foi formado por quatro blastômeros, dispostos num arranjo 2 X 2 sobre a vesícula vitelina.

Os sulcos da terceira clivagem, com 8 células, observado às 2,5 HPF e 70,0 HGPF, foram formados verticalmente ao segundo sulco da fase anterior de 4 blastômeros. O blastodisco nesta fase foi formado por oito blastômeros, dispostos em um arranjo de 4 X 2 sobre a vesícula vitelina (Figura 2B).

Os sulcos da quarta clivagem, com 16 células, observados às 3,0 HPF e 84,0 HGPF, foram formados transversalmente aos sulcos da terceira clivagem. Ao final da divisão foram formados 16 blastômeros, observados em um arranjo de 4 X 4 (Figura 2C).

Os sulcos da quinta clivagem, com 32 células, visualizados às 3,5 HPF e 98,0 HGPF formaram uma fila de blastômeros, organizando o blastodisco com 32 blastômeros em uma camada simples, em um arranjo de 4 X 8.

A divisão do blastodisco, com 64 células, observada às 4,0 HPF e 112,0 HGPF gerou uma nova camada de blastômeros devido à divisão latitudinal em cada blastômero. Não foi observado o deslocamento das gotas de óleo para a periferia do pólo vegetativo, na região oposta ao blastodisco (Figura 2D).

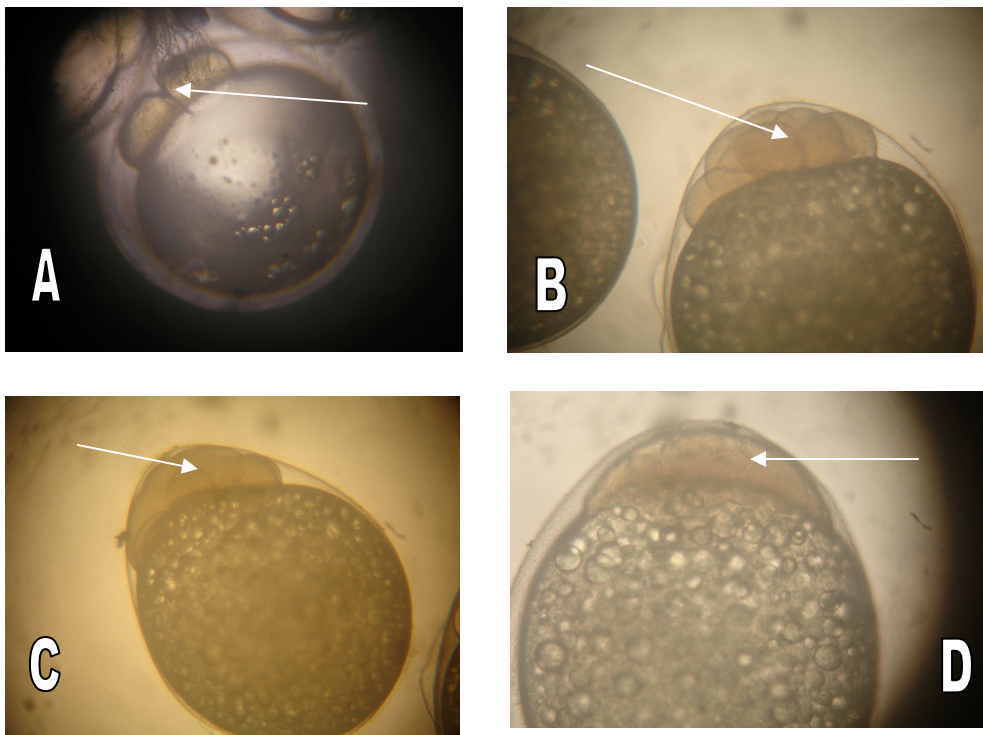


Figura 2. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período de clivagem: (A) 0,5 HPF com 2 blastômeros; (B) 2,5 HPF e com 16 blastômeros; (C) 3,0 HPF; (D) 4,0 HPF, Blástula.

5.4 Período de blástula

Às 4,5 HPF e 126,0 HGPF foi observado o início da fase de blástula que consistiu na evolução das bordas do aglomerado celular sobre a vesícula vitelínica e em divisões de um blastodisco disforme e posteriormente a sua organização. Esta evolução das bordas sobre a vesícula vitelínica também pode ser observado em embriões de *Brycon insignis* por Orbolato

(2006) e para embriões de *G. incisus* por Ferreira (2007) ambos definam como fase de mórula.

Às 4,5 HPF e 126,0 HGPF, o blastodisco tornou-se alto, com 128-células, devido às múltiplas camadas formadas. Nessa fase a coloração do blastodisco tornou-se mais escura que no período da clivagem.

Foi observado que de 256 células, às 5,0 HPF e 140,0 HGPF até 1024 células, às 6,5 HPF e 182,0 HGPF formou-se uma blastoderme organizada e semi-esférica sobre a vesícula vitelínica (Figura 3A). Nesse estágio a borda do blastodisco evoluiu sobre a vesícula vitelínica ao mesmo tempo em que a massa de blastômeros se organizou e foi ganhando forma semi-esférica (3A1).

O estágio oval, que teve início com 7,00 HPF e 196,0 HGPF, diferiu com a evolução da borda do blastodisco sobre a vesícula vitelínica, assim como a organização dos blastômeros e conferiu ao embrião a forma elipsoidal. Foi ainda observada a região da lâmina sincicial, que nesse estágio embrionário estava plana (Figura 3B). Segundo Fujimoto (2006) nesse estágio, os embriões de *Misgurnus anguillicaudatus* estavam com mais de 2 mil blastômeros

Logo após esta fase iniciou-se o estágio esférico, às 7,5 HPF e 210,0 HGPF. Os dois eixos, maior e menor, nesse momento, apresentam valores semelhantes, conferindo ao embrião uma forma esférica. Os limites entre a blastoderme e a vesícula vitelínica tornam-se contínuos (Fig. 3C).

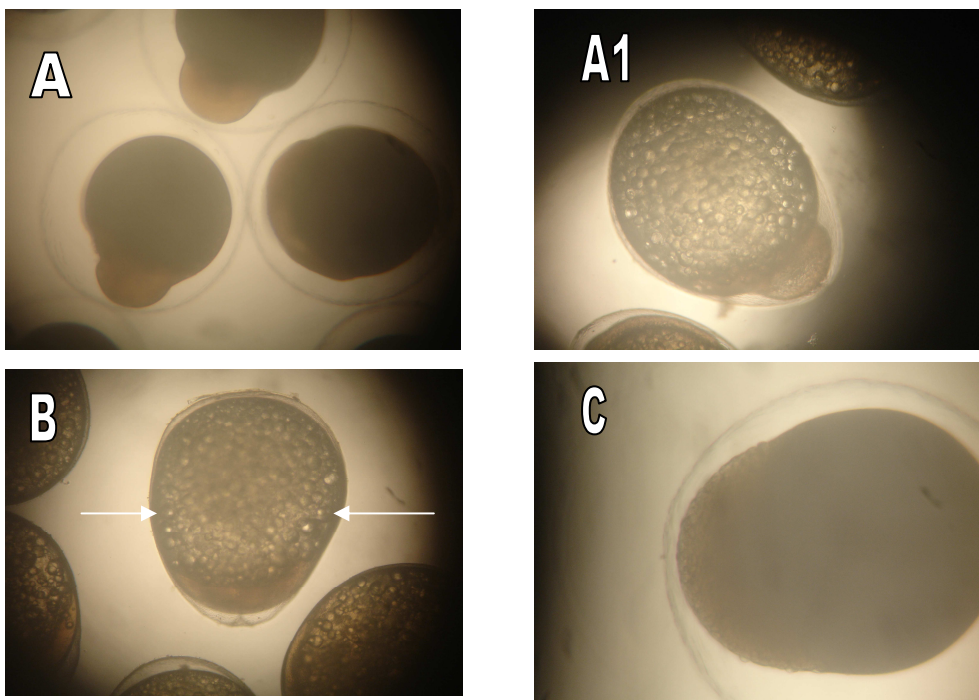


Figura 3. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da blástula: (A) 5,0-6,5 HPF e (A1) 256-células; (B) 7,0 HPF estágio oval; (C) 7,5 HPF estágio esférico.

5.5 Período de Gástrula

As 8,5 HPF e 238,0 HGPF iniciou-se a epibolia, evolução da blastoderme sobre a vesícula vitelínica (tabela 2). A blastoderme inicialmente, a partir de uma cobertura 10% da vesícula vitelínica, formou uma pequena cúpula sobre a vesícula vitelínica. Ao final da epibolia identificou-se que a progressão da blastoderme foi em média em torno de 20% por hora. Reid & Holdway (1995) relataram o início da gástrula em torno de 13,0 HPF para *M. fluviatilis* e Humphrey et al. (2003) relataram, para *M. s. splendida*, o início da gástrula em torno de 10,0 HPF. Ferreira et al. (2006) reportam o início da gástrula às 2 HPF e duração em até aproximadamente às 3,5 HPF a 28°C, para *Astyanax bimaculatus*. Nakatani et al. (2001) observaram, para o início da gástrula em peixes reofílicos brasileiros cultivados, valores inferiores aos observados para *G. incisus*.

Tabela 2. Eventos e estágios embrionários de *Betta splendens* observados das 8,5 às 14,5 HPF do experimento.

Estágios	HPF	HGPF °C
Gástrula 10%	8,5	238,0
Gástrula 50%	11,0	308,0
Gástrula 70%	13,0	364,0
Gástrula 80%	14,0	392,0
Fechamento do blastóporo	14,5	406,0

Ainda no período de gástrula, o embrião cobria 50% da vesícula vitelínica, o que ocorreu às 11,0 HPF e 308,0 HGPF. A metade da vesícula vitelínica estava coberta com a evolução da blastoderme. No restante do embrião e vitelo apenas houve um desenvolvimento das estruturas já existentes e uma pequena redução do vitelo (Figura 4A).

Às 13,0 HPF e 364,0 HGPF, ainda na fase de gástrula, a evolução da cobertura da blastoderme sobre a vesícula vitelínica estava em 70% sem ser observada a formação do eixo embrionário durante a evolução das bordas das blastoderme (Figura 4B). Reid & Holdway (1995) cita a formação do eixo embrionário no desenvolvimento de *M. fluviatilis* durante a evolução da blastoderme. Segundo Humphrey et al. (2003) durante o desenvolvimento embrionário de *M. s. splendida*, no estágio de gástrula 70% HPF, cita que foi possível verificar a diferenciação do eixo embrionário e do anel germinativo.

Na fase de gástrula 80%, às 14 HPF e 392,0 HGPF, observou-se que a cobertura da blastoderme estava sobre 80% da vesícula vitelínica e nesse momento evidenciou-se a borda da blastoderme formando o blastóporo.

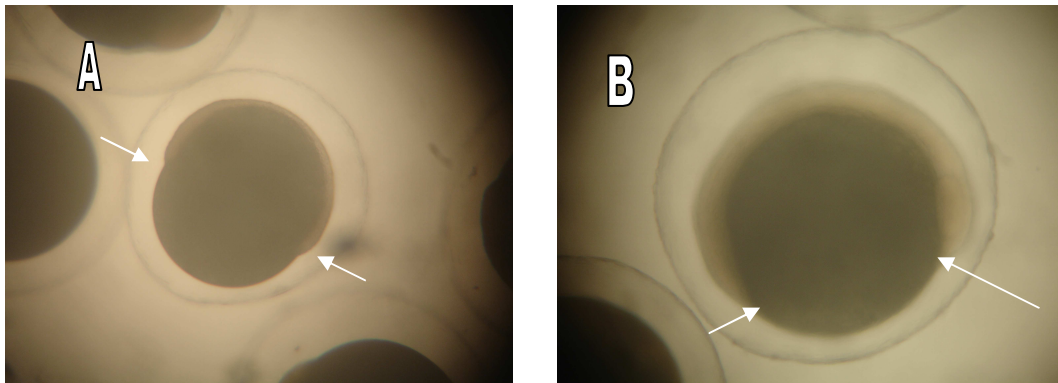


Figura 4. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da gástrula: (A) 11,0 HPF gástrula 50% e (B) 13,0 HPF Gástrula 70%.

O fechamento do blastóporo se deu às 14,5 HPF e 406,0 HGPF, no momento em que as bordas da blastoderme se encontraram e se fundiram cobrindo 100% da vesícula vitelínica. Este fechamento foi citado em *M. nigrans* e *M. s. inornata* próximo às 18,0 HPF (REID e HOLDWAY, 1995) e em *M. s. splendida* próximo às 12,5 HPF (HUMPHREY et al., 2003). Em peixes reofílicos brasileiros percebe-se um desenvolvimento embrionário mais rápido, foi observado, por exemplo, para embriões de *Brycon orbygnianus* o fechamento do blastóporo às 6,5 HPF (REYNALTE-TATAJE et al. 2004) e para *Brycon insignis* 5,5 HPF e 161,0 HGPF (SOUZA et al., 2004). Ferreira et al. (2006) relataram o fechamento do blastóporo em *A. bimaculatus* também com 5,5 HPF. Ainda Ferreira (2007) cita o fechamento do blastóporo às 11,8 HPF para *G. incisus*.

5.6 Período de Organogênese

Durante a organogênese, os tecidos e os órgãos se diferenciaram. A organogênese teve início assim que terminou o período de gástrula e foi observada até o momento da pré-eclosão. Entre os eventos desse período foram observados a diferenciação de órgãos visuais e auditivos, a pigmentação e o início dos batimentos cardíacos, entre outros (tabela 3). Essas características são importantes e muito utilizadas na descrição morfo-fisiológica e na identificação dos estágios de desenvolvimento dessa família (FUJIMOTO, 2006; HUMPHREY et al. 2003).

Tabela 3. Eventos e estágios embrionários de *Betta splendens* observados das 15 às 38 HPF do experimento.

Estágios	HPF	HGPF °C
Diferenciação do embrião	15,0	420,0
Diferenciação do primórdio óptico	15,5	434,0
Primórdio óptico bem evidente	17,0	476,0
Aparecimento dos somitos (8-10)	17,5	490,0
10 Somitos bem visíveis	19,0	532,0
Somitos e início da vesícula óptica	19,5	546,0
Somitos em "V" (15 somitos)	21,0	588,0
Botão caudal; início da formação membrana hialina	22,0	616,0
Desenvolvimento das estruturas	23,5	658,0
Primeira observação condrocânio	24,0	672,0
Primeira observação dos batimentos cardíacos em três embriões 60/min	25,0	700,0
Batimento cardíacos valores de 3 embriões 120; 120; 108 média de 116/min	26,5	742,0
Circulação	27,0	756,0
Circulação, movimento da cauda (contração muscular)	27,5	770,0
Movimentos do olhos, cristalino	28,5	798,0
Crescimento das estruturas	30,0	840,0
Aumento dos melanóforos	30,5	854,0
Visualização da glândula adesiva	32,5	910,0
Melanóforos com aspecto dendrítico	34,0	931,6
Crescimento das estruturas	36,0	1008,0
Início da eclosão	38,0	1064,0

* Horas-pós-fecundação (HPF)

* Horas-graus-pós-fecundação (HGPF)

O eixo embrionário do *B. splendens* pode ser observado 15,0 HPF e 420,0 HGPF, sendo formado inicialmente sobre o escudo embrionário na vesícula vitelínica (Figura 5A). Ferreira (2006) relata a diferenciação do eixo embrionário com 12,3 HPF para *G. incisus*. Reid & Holdway (1995) citam a diferenciação do eixo embrionário com 15,0 HPF, durante o desenvolvimento da gástrula de *M. fluviatilis*. Humphrey et al. (2003) relatam a diferenciação do eixo embrionário em torno das 10,0 HPF, também durante o período da gástrula para *M. splendida*. Estes mesmos autores reportam a diferenciação do eixo embrionário no estágio de gástrula 30%, o que provavelmente pode ter ocorrido em fases anteriores com o *B. splendens* mas não observado devido à dificuldade da observação.

O primórdio óptico pode ser observado às 15,5 HPF e 434,0 HGPF. Neste estágio ocorreu a evaginação de um par de vesículas ópticas rudimentares que surgem na região cefálica do embrião, dando origem a esta estrutura (Figura 5B).

Às 17,5 HPF e 490,0 HGPF foram ser observados cerca de oito somitos rudimentares com forma elíptica, na região mediana do embrião. Na região da cabeça houve progressão no

desenvolvimento da vesícula óptica (Figura 5C). Nesse estágio também foi possível identificar a notocorda ao longo do eixo do embrião. Reynalte-Tataje et al. (2001), relataram que a notocorda de *Oryzias latipes* se organiza do folheto epitelial, consistindo de células que contém inúmeros vacúolos, conectadas e envolvidas por uma bainha complexa, formada por uma membrana interna secretada pelas células do epitélio da notocorda. Essa membrana é recoberta por uma densa bainha fibrosa, composta por fibras colágenas, uma camada externa elástica, devido à presença de fibras elásticas e uma camada superficial de bainha de tecido conectivo com a matriz extracelular de colágeno depositada por fibroblastos do mesênquima.

A visualização de aproximadamente 10 somitos e o início da vesícula óptica ocorreu às 19,5 HPF e 546,0 HGPF. Nesta fase pôde-se observar a diferenciação da retina no primórdio óptico dando início a diferenciação da vesícula óptica (Figura 5C1). Já Ferreira (2007) observou em *G. incisus* esta diferenciação as 23,0 HPF.

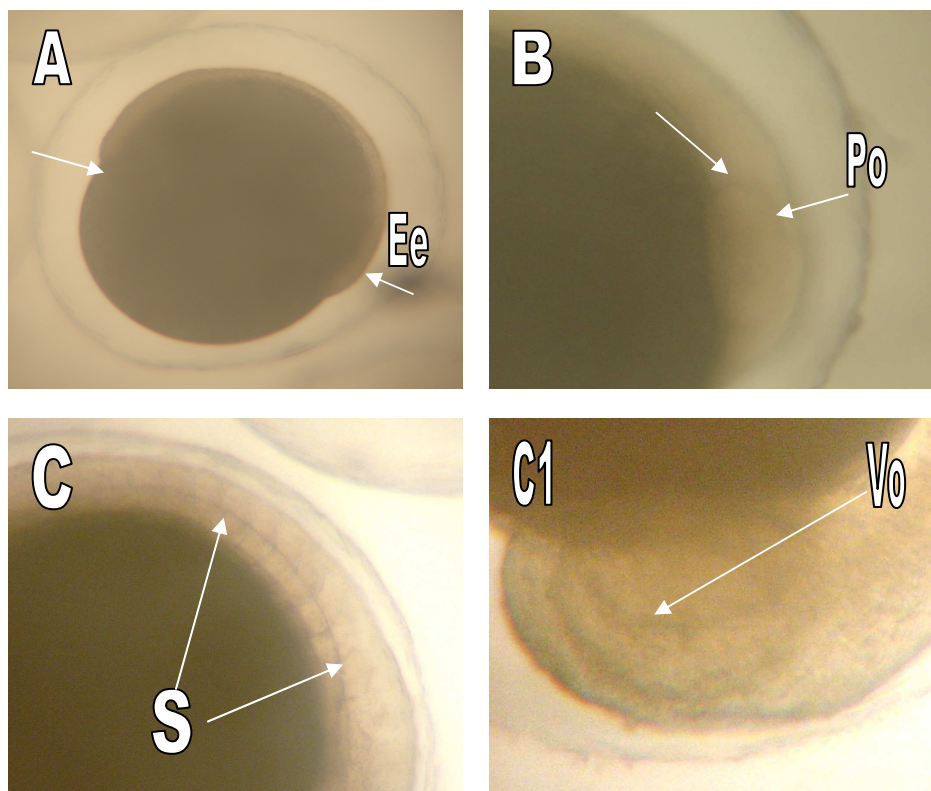


Figura 5. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da organogênese: (A) Eixo embrionário (Ee) 15,0 HPF; e (B) Primórdio óptico (Po) 15,5 HPF; (C) 10 somitos (S) e (C1) início da vesícula óptica (Vo) 19,5 HPF.

A formação do condrocrânio foi observada às 24,0 HPF e 672,0 HGPF. Nesse estágio foi possível visualizar a estrutura cranial cartilaginosa do embrião na região cefálica que dará

origem à base do crânio que sustenta o encéfalo. Esta estrutura não se ossifica, formando uma caixa fechada (Figura 6A e 6B). Fujimoto et al. (2006) observaram as mesmas estruturas em momento semelhante para a espécie *M. anguillicaudatus*.

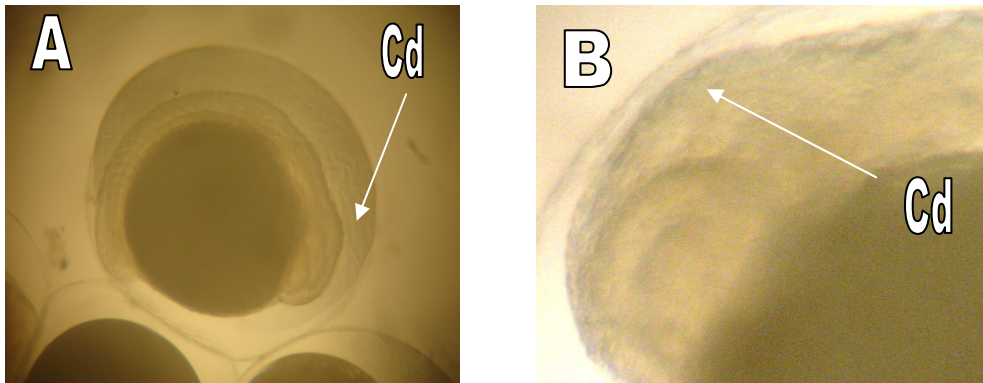


Figura 6. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da organogênese: (A) e (B) observação do condrocrânio (Cd) 24,0 HPF.

O batimento cardíaco se iniciou às 25,0 HPF e 742,0 HGPF. Inicialmente foram observados 60 batimentos por minuto, em média, nos indivíduos analisados. Reid & Holdway (1995) relataram, em *M. fluviatilis*, 72 batimentos por minutos às 46,0 HPF. Também as estruturas primordiais do coração embrionário foram observadas na região da veia axial na mesoderme que inicia movimentos peristálticos promovendo lentamente a circulação do sangue. Segundo os mesmos autores, *M. fluviatilis* iniciou seus batimentos cardíacos com 46 HPF. Crowley & Ivantsoff (1982) reportaram o início de batimento cardíaco em *M. nigrans* e *M. s. inornata* com 47 HPF a 25°C, enquanto Ferreira (2006) cita, que em embriões de *G. incisus*, o início do batimento cardíaco com média de 50,44 batimentos às 27,0 HPF (Figura 7).

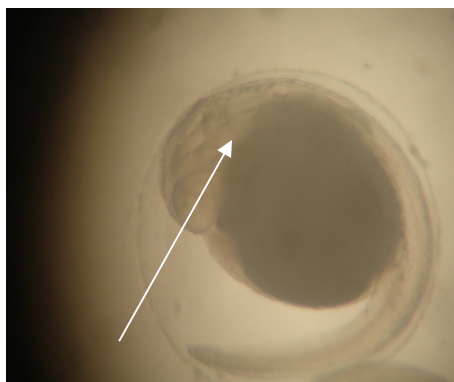


Figura 7. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da organogênese: (A) coração 25,0 HPF.

A circulação sanguínea sobre a vesícula vitelínica foi observada às 27,0 HPF e 756,0 HGPF. Esta circulação, que havia se iniciado sobre o eixo embrionário, nesse momento possui uma maior velocidade no fluxo sanguíneo, com 120 batimentos cardíacos por minuto. Observou-se também nesse horário que o vaso embrionário axial se bifurca. O novo vaso se desenvolve e se ramifica sobre a vesícula vitelínica promovendo a irrigação sanguínea sobre a região periférica do vitelo. Ferreira (2007) verificou em *G. incisus* circulação sanguínea as 34,0 HPF. Humphrey et al. (2003) citam em *M. s. splendida* o início da circulação sobre a vesícula em 30,5 HPF. Reid & Holdway (1995) descrevem em *M. fluviatilis* o início da circulação sobre a vesícula próximas às 50,0 HPF.

Foi observado às 27,5 HPF e 770,0 HGPF, a movimentação do embrião e o início das contrações musculares com pouca frequência na repetição dos espasmos. Este início de movimento ou contrações musculares foi observado inicialmente na cauda, mas os somitos já apresentavam disposição em “V”, e foi observado, nos embriões, que o botão caudal estava liberado. Souza (2004), trabalhando com *B. insignis*, e Ferreira (2007) trabalhando com *G. incisus* relataram estes movimentos com 35,0 HPF.

Após as 28,5 HPF e 798,0 HGPF verificou-se um maior desenvolvimento da pigmentação do cristalino e da pigmentação da retina, também neste momento observou-se que os olhos passaram a mover-se.

Às 34,0 HPF e 931,6 HGPF os melanóforos surgiram aleatoriamente ao longo do eixo embrionário passando logo depois para a vesícula vitelínica. Inicialmente estas células são dendríticas, com várias ramificações e também foram relatados por Ferreira (2007) trabalhando com *G. incisus* que verificou estes movimentos com 28,0 HPF, e em *M. fluviatilis* por Reid & Holdway (1995).

A pigmentação do sistema circulatório foi observada, pela primeira vez às 36,0 HPF e 1008,0 HGPF. O sangue inicia sua coloração, passando do incolor para avermelhado, com o coração apresentando duas câmaras trabalhando em movimentos antagônicos de sístole e diástole, representando o átrio e o ventrículo. Ferreira (2007) cita este momento do desenvolvimento para *G. incisus* com 59,75 HPF. Já Luz & Zaniboni Filho (2002) verificaram esta pigmentação pouco antes da eclosão das larvas de *Pimelodus maculatus* que aconteceu com 21,20 HPF.

A eclosão dos embriões teve início a partir de 38,0 HPF e 1064,0 HGPF com duração até 40,0 HPF e 1120,0 HGPF (Figura 8). Esse tempo de desenvolvimento embrionário pode ser considerado normal para os peixes nacionais (NAKATANI et al., 2001; REYNALTE-TATAJE et al., 2004).

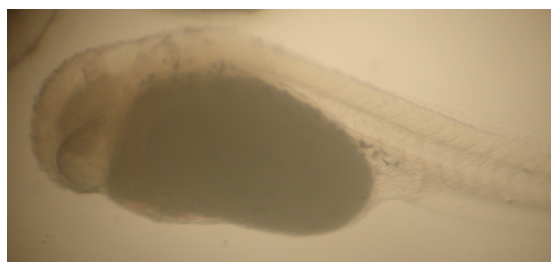


Figura 8. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período da organogênese: (B) momento pós-eclosão dos embriões 38,0 HPF.

Já para animais do gênero *Melanotaenia*, valores entre 6 e 7 dias de desenvolvimento embrionário são normalmente observados na literatura como tempo normal de desenvolvimento (HUMPHREY et al. 2003; REID e HOLDWAY, 1995; FERREIRA, 2007). Para *M. fluviatilis* o período de eclosão observado foi entre 7 e 9 dias Humphrey et al. (2003), este mesmos autores ainda citam que em *M. s. splendida*, tempo de eclosão entre 4 e 8 dias do desenvolvimento embrionário. Ivantsoff et al. (1988) citam que em *M. s. australis*, *M. s. inornata* e *M. niigrans*, espécies do gênero *Melanotaenia*, período embrionário de 4,5 dias a 26°C.

A saída das larvas mediante o rompimento do córion aconteceu de maneira muito rápida, semelhantemente ao observado por Ferreira et al. (2006) e Ferreira (2007) para o gênero *Melanotaenia*. As larvas recém eclodidas apresentam-se ativas e com habilidade natatória, o que demonstra a normalidade morfo-fisiológica desses animais. Após a eclosão foram medidas 11 larvas que apresentaram $0,6405 \pm 0,02$ mm de comprimento total médio, e $0,1657 \pm 0,02$ mm de altura total média (Apêndice A).

Foi possível observar que as larvas recém-eclodidas continham um volume residual médio de vitelo de $0,01935\text{mm}^3 \pm 0,005$. Nesse resíduo ainda se observaram gotas de óleo, o que não foi descrito por nenhum dos autores, na literatura consultada.

A frequência de batimentos cardíacos das larvas recém eclodidas de *B. splendens* foi de 156 por minuto. Durante a progressão do desenvolvimento do sistema circulatório, e conseqüentemente da intensificação da frequência cardíaca, observou-se no período noturno queda na frequência cardíaca, retornando a níveis mais elevados pela manhã. Isso sugere uma relação específica com o ciclo circadiano ou uma resposta fisiológica ao período de escuro, devido ao stresse causado pelo período de iluminação.

5.7 Consumo do vitelo

Foi possível notar que ao longo do período de observação houve uma diminuição na altura e no comprimento do vitelo. Percebe-se que estas medidas têm seu decréscimo acelerado no terço final do período embrionário o que se dá mais intensamente a partir das 15,0 horas-pós-fecundação para ambas as medições conforme pode ser visto na Figura 9 e na Figura 10.

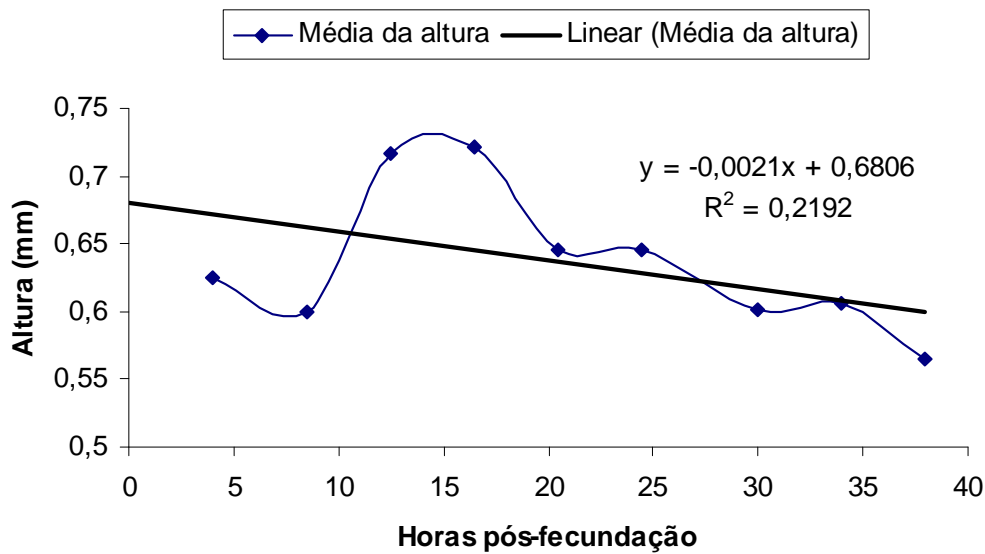


Figura 9. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens*: decréscimo da altura do vitelo em mm pelo tempo de desenvolvimento em horas-pós fecundação.

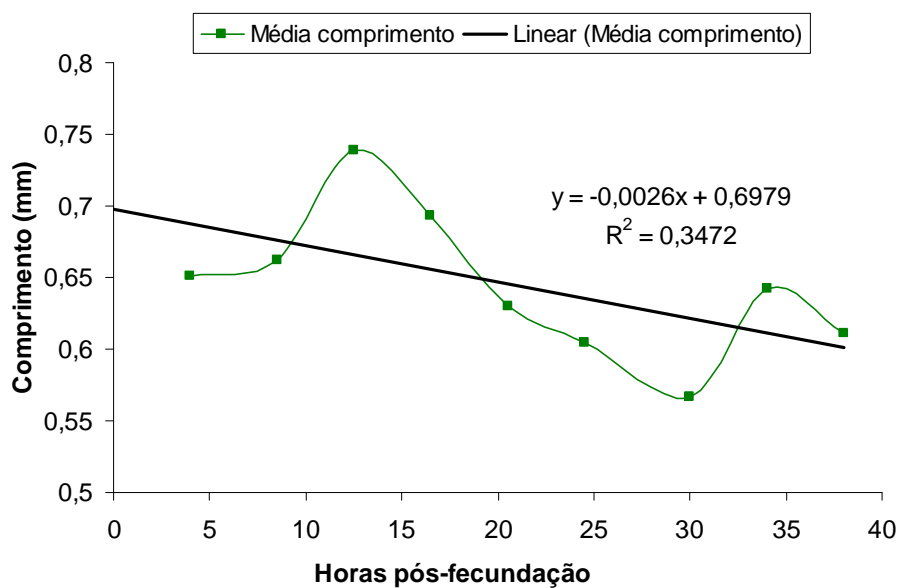


Figura 10. Desenvolvimento embrionário de *B. splendens* durante o período embrionário: decréscimo do comprimento do vitelo em mm pelo tempo de desenvolvimento em horas-pós-fecundação.

Os volumes de vitelo (Tabela 4) disponíveis para o embrião diminuíram durante o desenvolvimento, passando de $0,12166 \pm 0,0311\text{mm}^3$ média do valor as 4,0 HPF, para $0,1200 \pm 0,0207\text{mm}^3$ até o momento da eclosão que se iniciou com 38,0 HPF. A figura 11 mostra a relação do consumo de vitelo com as horas-pós-fecundação durante todo o período embrionário e descreve este decréscimo.

Tabela 04. Valores médios (n=10) de comprimento e altura da vesícula vitelínica e volume do vitelo durante o período embrionário.

HPF	HGPF	Altura mm	Comprimento mm	Volume do vitelo mm^3
4,0	112,0	0,62560	0,65060	0,12166
8,5	238,0	0,59931	0,66267	0,12520
12,5	350,0	0,71629	0,73864	0,19912
16,5	462,0	0,72083	0,69280	0,18913
20,5	574,0	0,64508	0,62955	0,13772
24,5	686,0	0,64508	0,60492	0,13214
30,0	840,0	0,60190	0,56701	0,11150
34,0	931,6	0,60606	0,64205	0,12442
38,0	1064	0,56439	0,61061	0,10262

A partir de 16,0 HPF, ou seja, logo após o período gástrula e no início da organogênese, observou-se um consumo mais intenso de vitelo em relação ao período inicial. Foi observado que o volume vitelínico passou de $0,18903\text{mm}^3$ no início para $0,11150\text{mm}^3$ ao final desta fase, o que ocorreu às 30,0 HPF, quando os embriões já estavam em estágios avançados da organogênese. Evento semelhante foi descrito por Heming & Buddington (1988).

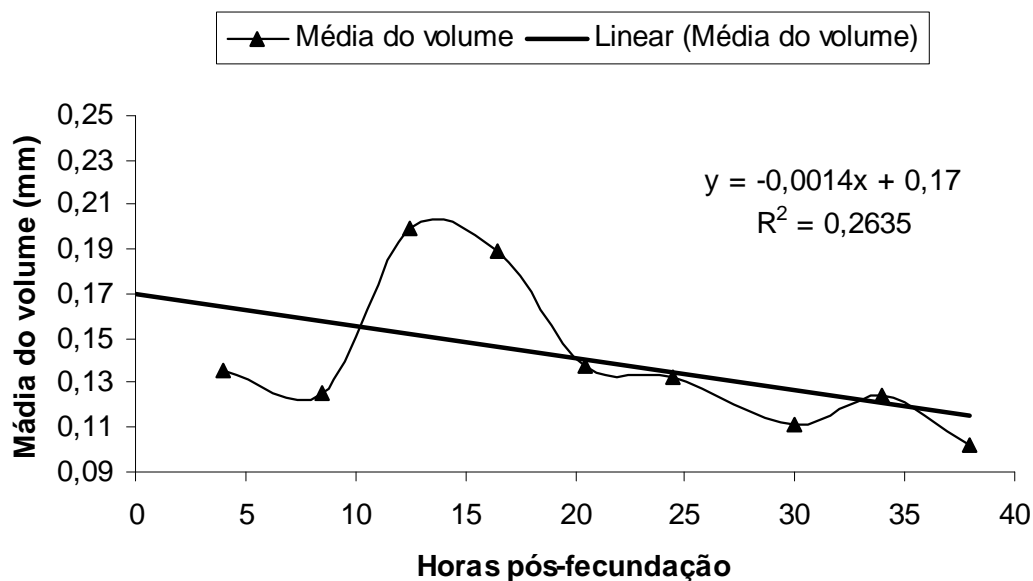


Figura 11. Decréscimo do volume de vitelo em função do tempo em horas-pós-fecundação.

Após 30,0 HPF foi observado que o consumo do vitelo no período embrionário voltou a crescer até 38,0 HPF. Os volumes nesse período foram reduzidos de $0,11150\text{mm}^3$ até valores de $0,10262\text{mm}^3$, na eclosão. A diferença entre o espaço ocupado pela vesícula vitelínica nesse momento e o espaço original foi bastante perceptível como reportado também por Holdway & Reid (1995) para embriões de *M. fluviatilis* e Ferreira (2007) para embriões de *G. incisus*. A vesícula vitelínica demonstrou regredir primeiramente em altura e, posteriormente em largura até o momento de pré-eclosão, às 38,0 HPF (Figura 12A e 12B).

Heming & Buddington (1988), propuseram três fases distintas para a absorção de vitelo em peixes teleósteos, com a primeira fase indo até o momento da pré-eclosão e as outras duas fases após a eclosão, sendo que em *B. splendens* foram observadas apenas a fase do interior do ovo, até o momento pré-eclosão, e logo após a eclosão (Figura 13 e 14).

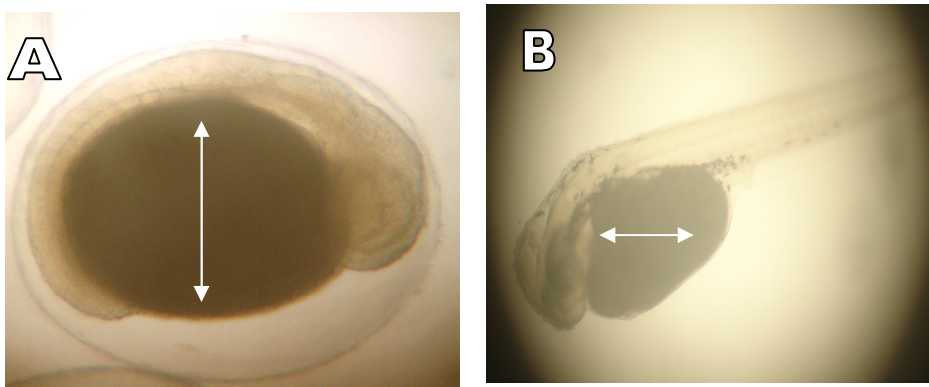


Figura 12. Altura de vitelo de *B. splendens*: (A) organogênese 30,0 HPF; (B) larva recém-eclodida, comprimento do vitelo 40,0 HPF.

Para a *G. incisus* foi relatado, por Ferreira (2007), que as três fases ocorreram no interior dos ovos durante o período embrionário segundo, terminologia sugerida por Crowley & Ivantsoff (1986), diferentemente das larvas de peixes citadas por Heming & Buddington (1988).

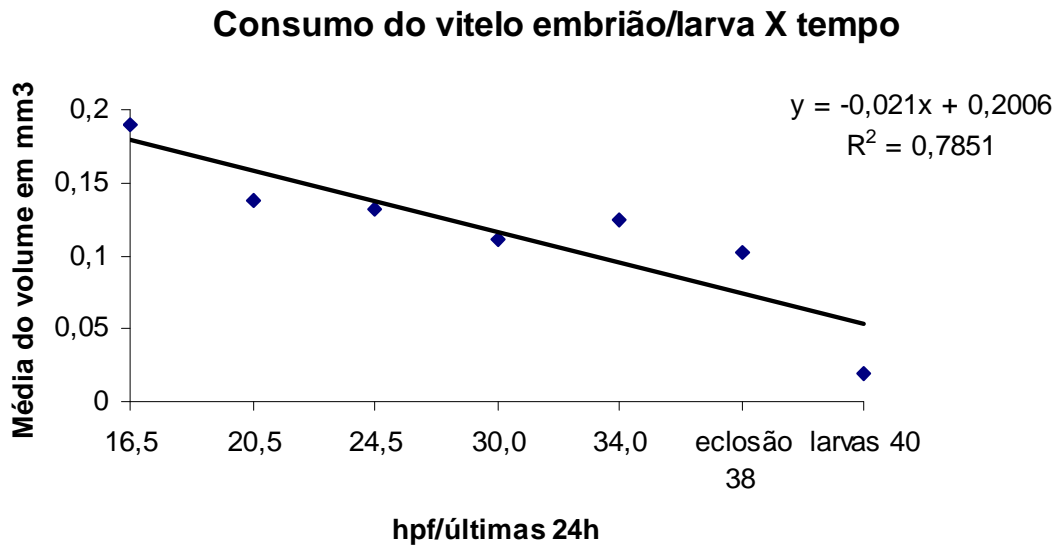


Figura 13. Consumo de vitelo nas últimas 24 horas de desenvolvimento embrionário e de larvas recém eclodidas de *B. splendens*.

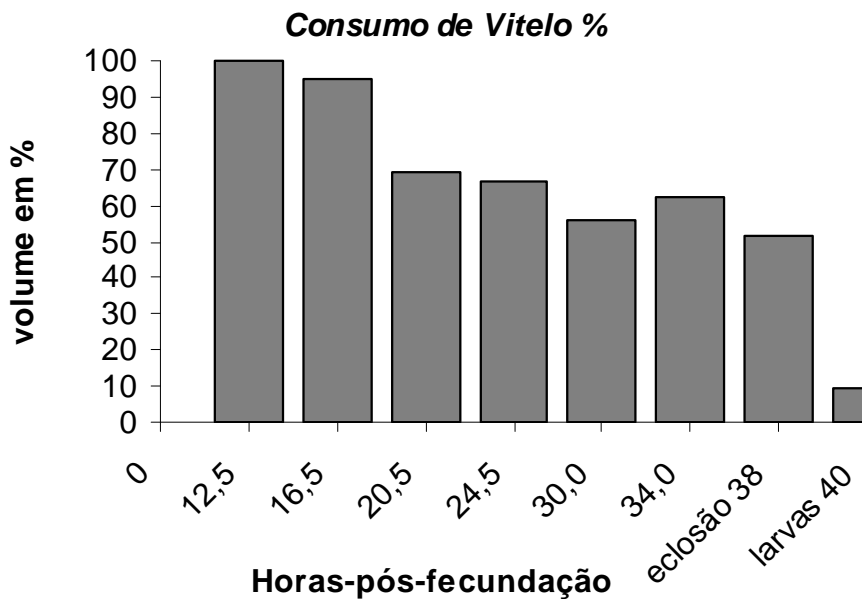
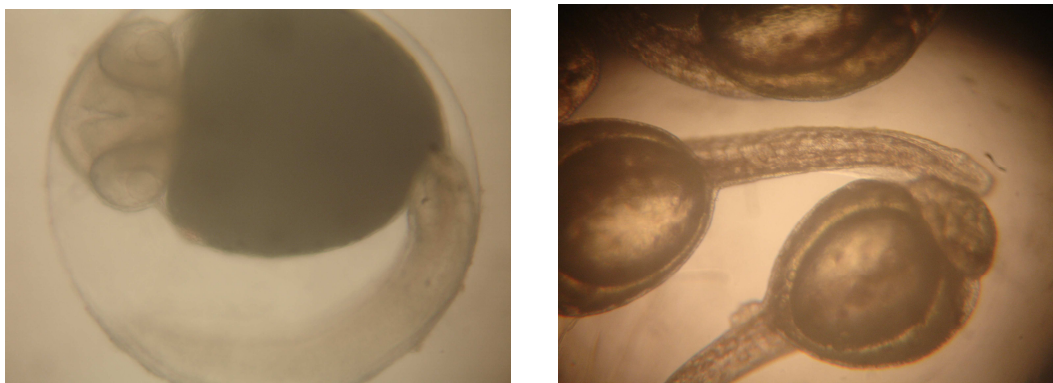


Figura 14. Consumo de vitelo e, porcentagem nas últimas 24 horas de desenvolvimento embrionário e de larvas recém eclodidas de *B. splendens*.

As larvas recém eclodidas observadas no presente estudo não utilizaram alimentos de fonte exógena, o que também foi descrito por Ferreira (2007). O início da ingestão de alimentos de fonte exógena, chamado de período mixotrófico, para larvas de *M. s. splendida* Humphey et al. (2003) e *M. fluviatilis* por Reid & Holdway (1995) foi verificado poucas horas após a eclosão. Foi observada, após a eclosão, uma formação normal de todas as estruturas funcionais aptas ao crescimento larval, o que também foi descrito por Blaxter

(1963) para *Clupea harengus*; por Luz & Zaniboni Filho (2002) para *Pimelodus maculatus* Lacépède; por Ferreira (2006) para *Astyanax* aff. *A. bimaculatus* e por Ferreira (2007) para *G. incisus* Figuras 15 e 16.



Figuras 15 e 16. Larvas recém eclodidas de *B. splendens*.

A larvicultura de espécies com larvas precociais tais como a espécie *B.splendens*, é de grande importância, pois este aspecto é benéfico no tocante à criação desses peixes em cativeiro. O tamanho e forma das larvas recém eclodidas são importantes, pois estas medidas poderão determinar quais indivíduos irão se desenvolver e sobreviver (Apêndice A).

A maioria das larvas neotropicais recém eclodidas de interesse para a aquicultura de corte e ornamental apresentam características altriciais, com pouco desenvolvimento morfológico ao eclodir, com pouca motilidade natatória e pouca reserva vitelínica, além de trato digestório morfo-fisiologicamente incompleto no momento do início da alimentação exógena, o que pode ser um problema à piscicultura (PORTELLA, 2004; FERREIRA, 2007).

A média das larvas recém eclodidas avaliadas no presente estudo foi de 0,1302mm para a altura do vitelo e de 0,1937mm para o comprimento (Apêndice B).

A análise da variação do consumo de vitelo em função do tempo permitiu a obtenção da equação: $y = bx + a$ onde:

y= consumo de vitelo;

x= tempo (HPF)

a=coeficiente linear da reta de regressão do consumo de vitelo sobre o tempo; e

b=coeficiente angular da reta de regressão do consumo de vitelo sobre o tempo.

Observou-se um decréscimo constante desse volume em relação ao tempo. O aparente aumento observado às 12,5 HPF e às 16,5 HPF foi devido, provavelmente ao fato de haver diferença significativa no desenvolvimento dos embriões. As médias (\pm desvio padrão), o coeficiente de variação e o erro padrão da média estimados para o consumo de vitelo, em cada um dos momentos de observação estão apresentados na Tabela 05.

Tabela 05. Valores de médias (\pm desvio padrão), CV e erro padrão do volume do vitelo (em mm^3), durante o período embrionário de *Betta splendens*.

HPF	HGPF	Média (\pm desvio padrão)	Coeficiente de variação	Erro padrão da média %
4,0	112,0	0,13518 \pm 0,031	0,2305	1,03
8,5	238,0	0,12520 \pm 0,016	0,1339	0,53
12,5	350,0	0,19912 \pm 0,035	0,1777	1,11
16,5	462,0	0,18913 \pm 0,021	0,1132	0,67
20,5	574,0	0,13772 \pm 0,017	0,1262	0,54
24,5	686,0	0,13214 \pm 0,016	0,1218	0,50
30,0	840,0	0,11150 \pm 0,047	0,4278	1,50
34,0	931,6	0,12442 \pm 0,021	0,1742	0,68
38,0	1064	0,10262 \pm 0,020	0,2019	0,65

O desenvolvimento embrionário relativamente rápido apresentado por essa espécie parece ser comum a outras espécies com a mesma estratégia reprodutiva. Isto também foi relatado Blaxter (1998); Souza et al. (2004); Ferreira et al. (2006); Fujimoto et al.(2006); Ferreira (2007).

Os valores do coeficiente de variação foram inferiores a 20% em quase todas as medidas, exceto a observação realizada às 30,0 HPF cujo valor foi de 0,4278, sugerindo que houve um consumo diferenciado do vitelo pelos embriões neste período, que é o período de desenvolvimento dos somitos, coração, circulação crescimento dos melanóforos, cristalino, sistema óptico e ótico e de todas as estruturas pré-eclosão do *B.splendens*. Um maior consumo do vitelo também foi relatado por Ferreira et al. (2006); Fujimoto et al.(2006); Ferreira (2007).

O erro padrão da média, em todos os períodos de observação, esteve sempre abaixo dos 2%, sugerindo que o tamanho amostral foi suficiente para o estudo.

Outro aspecto relevante para as larvas recém eclodidas de *B. splendens* é o fato de que, segundo Marteinsdottir & Ablet (1992), vesículas maiores causam maior atrito durante o deslocamento, exigindo maior gasto energético, além de dificultar a fuga, quando atacado por predadores.

Larvas ativas com absorção mais precoce da vesícula, e conseqüentemente com menores vesículas vitelínicas, teriam um menor custo energético para a natação, como no caso do *G. incisus*, permitindo sua atividade natatória e assim maior eficiência de fuga e predação Fujimoto et al. (2004); Ferreira (2007).

6 CONCLUSÃO

Pelo estudo dos embriões de *B.splendens* pode-se concluir que o embrião tem fases de desenvolvimento embrionário comparáveis ao observado em outras espécies de teleósteos.

A descrição do desenvolvimento embrionário pode auxiliar nas técnicas de reprodução em laboratório, direcionando técnicos e produtores melhores resultados nas desovas de peixes ornamentais

O consumo de vitelo é mais acentuado no terço final do desenvolvimento embrionário, após as 15,0 horas-pós-fecundação, no período próximo à eclosão e no período logo pós-eclosão.

Determinar o quanto e até quando o vitelo pode nutrir a larva poderá otimizar o uso de alimentação endógena, melhorando as taxas de sobrevivência pós-eclosão em peixes ornamentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRE, A. Fact sheet for *Betta splendens*. In: **Non native aquatic species in the Gulf of México and south Atlantic regions**. Disponível em: http://nis.gsmfc.org/nis_factsheet.php. Acesso em: 20 set 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Referências: Informação e documentação - Trabalhos acadêmicos - Rio de Janeiro, 2002.

_____. NBR-10520: apresentação de citações em documentos. Rio de Janeiro, 2002. p.7

_____. NBR-6023: referências bibliográficas. Rio de Janeiro, 2002. p.24

_____. NBR-6024: Numeração progressiva das seções de um documento escrito. Rio de Janeiro, 2002. p.3

_____. NBR-6027: Sumário. Rio de Janeiro, 2002. p.2

_____. NBR-6028: Resumo. Rio de Janeiro, 2002. p.3

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2002. 212p.

BLAXTER, J.H.S.; HEMPEL, G. **The influence of egg size on herring larvae** (*Clupea harengus* L.). J. Cons. Intern. Mer., v.28, n. 2. p. 211-240. 1963.

BLAXTER, J. H. S. **Pattern and variety in development**. In: HOAR, W. S., RANDALL, D. J. Fish physiology. San Diego: Academic Press. v.11 cap.1, p.1-58. 1998.

CAMARGO, P. R. **Sigeiti Takase: pioneiro da aquariofilia brasileira**. In: O aquarista, n.72, 1971.

CHAPMAN, F. A.; FITZ-COY, S. A.; THUNBERG, E. M. **United States of America trade in ornamental fish**. Journal of the World Aquaculture Society, v.28, n.1, p.1-10, 1997.

CRAFT B. B.; VELKEY J.; PETREE A. S. **Instrumental conditioning of choice behavior in male Siamese fighting fish** (*Betta splendens*). Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, v.63, p.171-175, 2003.

CROWLEY, L. E. L. M.; IVANTSOFF, W. **reproduction and early life stages in two species of australian rainbowfishes, *melanotaenia nigrans* and *melanotaenia splendida inornata*** (Castelnau). Australian Zoologist. v. 21, p. 85-95. 1982.

CROWLEY, L. E. L. M.; IVANTSOFF, W. **Taxonomic position of two crimson-spotted rainbowfish, *Melanotaenia duboulayi* and *Melanotaenia fluviatilis* (Pisces: Melanotaeniidae), from eastern Australia, with special reference to their early life-history stages.** Australian Journal of Marine and Freshwater Research. v.37, p. 385-98. 1986.

DAMAZIO, A. **Criando o Betta.** 2 ed. Rio de Janeiro: Inter-Revistas, 1992. 80p.

EL ACUARISTA. Sitio Web Latinoamericano de Acuariofilia y Disciplinas afines. Disponível em: <http://www.elacuaria.com/secciones/anabantidos1.htm>. Acesso em: 18 out 2008.

FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; SOUZA, A. B.; CARVALHO, D. C.; MELO, D. C.; SALIBA, E. O. S. **Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens*.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.30, p. 134-149, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. State of world aquaculture: 2006. FAO Fisheries Technical Paper. No. 500. Rome, FAO. 2006. 134p. Disponível em: [http://www.ibama.gov.br/RecursosPesqueiros/DocumentosTécnicos/Estatística 2004](http://www.ibama.gov.br/RecursosPesqueiros/DocumentosTécnicos/Estatística%202004). Acesso em: 23 set 2008.

FERREIRA, A.V.; VIDAL JR M.V.; ANDRADE D. R. SOUZA; G. MENDONÇA; P. P.; YASUI, G. S. **Eventos morfo-fisiológicos da ontogenia em ovos de lambarido-rabo-amarelo *Astyanax aff. A. bimaculatus*.** In: II AQUACIÊNCIA. Bento Gonçalves-RS. CD. 2006.

FERREIRA, A. V. **Ontogenia inicial e consumo de vitelo em malanotênia maçã (*Glossolepis incisus*, Weber, 1907).** Dissertação Produção Animal, UENF. Campos dos Goytacazes, RJ. 2007.

FUJIMOTO, T.; KATAOKA, T.; OTANI, S.; SAITO, T.; AITA, T.; YAMAHA, E.; ARAI, K. **Embryonic states from cleavage to gastrula in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*.** Zoological Society of Japan, v.21. p. 747 – 755. 2004.

FUJIMOTO, T.; KATAOKA, T.; SAKAKO, S.; SAITO, T.; YAMAHA, E.; ARAI, K. **Developmental stages and germ cell lineage of de loach (*Misgurnus anguillicaudatus*).** Zoological Society of Japan, v.23. p. 977-989. 2006.

GIAMPIETRO M. **Betta**. Disponível em: <http://www.marcosbetta.com/site/index.asp>. Acesso em: 20 out 2008.

GOUVEIA JR, A.; ROMÃO, C. F.; BRITO, T. M.; VENTURA, D. F. **Effects of Trophic Poisoning with Methylmercury on the Appetitive Elements of the Agonistic Sequence in Fighting-Fish (*Betta Splendens*)**. Spanish Journal of Psychology. v.10, p. 436-448. 2007.

HEMING T.; BUDDINGTON, R. **Yolk absorption in embryonic and larval fishes**. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D. J. (Eds). Fish Physiol., Vol. XIA, New York: Kluwer Academic Publishers. p.110-115. 1988.

HUMPHREY, C.; KLUMPP, D. W.; PEARSON, R. **Early development and growth of the east rainbowfish, *Melanotaenia splendida splendida***. Morphogenesis and ontogeny. Marine and Freshwater Research, v.53, 2003. p.17-25.

IBAMA. **Estatística da Pesca**. Grandes Regiões e Unidades da Federação, Brasília-DF, Dezembro de 2005.

IVANTSOFF, W.; CROWLEY, L. E. L. M.; HOWE, E.; SEMPLE, G. **Biology and early development of eight fish species from the Alligator rivers region**. Supervising Scientist for the Alligator Rivers Region. Technical Memorandum. No.22. 1988.

JAMES R.; SAMPATH K. **Effect of different feeds on growth and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens***. Indian Journal Fish, v.49, p.279-285, 2002.

KIM, C. Y.; BACCARIN, A. E.; CAMARGO, A. F. M.; PREHL, R. C. Sobrevivência de larvas de *Betta splendens* alimentadas com diferentes tipos de alimento. In: AQUACIÊNCIA 2006, Bento Gonçalves, RS. **Resumos...** Serra Gaúcha: AQUABIO. 1 CD-ROM. 2006.

KIM, C. Y. **Efeito de dietas e altura da coluna d'água na sobrevivência de larvas de *Betta splendens* e o aporte de nitrogênio e fósforo**. 2007. Dissertação em Mestrado em Aqüicultura - Centro de Aqüicultura da UNESP.

KOVAC, V.; COOP, G. H. **Prelude: looking at early development of fishes**. Environmental Biology of Fishes, 1999.

LUZ, R. K.; ZANIBONI FILHO, E. **Larvicultura do Mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, em Diferentes Densidades de Estocagem nos Primeiros Dias de Vida**. Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science, v. 31, n. 2, p. 560-565, 2002.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de Larvas De Piracanjuba, *Brycon Orbignyanus Valenciennes***. Viçosa. 2006. Tese do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de “Doctor Scientiae. 2006.

MARTEINSDOTTIR, G.; ABLET, K.W. **Influence of egg size on embryos and larvae of *fundulus heteroclitus***. Journal of Fish Biology. v. 41. p. 883-896. 1992.

MILLS, D. **Peixes de aquário**. Tradução Bazán Tecnologia e Lingüística, Michele Casquillo, Ediouro, Rio de Janeiro. 304 p. 1998.

NAKATANI, H. K.; AGOSTINHO, A. A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; MAKRAKIS, M. C.; PAVANELLI, C. S. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá. EDUEM, 2001. p. 378.

OLIVIERA, A. E. G. de; LIMA, L. F. A; BATISTUZZO S. R. **Subclonagem do cDNA do gene B1 da vitelogenina de *X. laevis* visando o sequenciamento nucleotídico e análise evolutiva**. In: XVII Encontro de Genética do Nordeste, 2006, Recife. Anais do XVII Encontro de Genética do Nordeste, 2006.

ORBOLATO, T. S. **Desenvolvimento Embrionário da Piabanha, (*Brycon insignis*)**. X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. 2006.

PAMPLONA G. C.; LIMA J. W. O.; CUNHA J. C. L. **Evaluation of the impact on *Aedes aegypti* infestation in cement tanks of the municipal district of Canindé, Ceará, Brazil after using the *Betta splendens* fish as an alternative biological control**. Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical. v.37, p.400-404. 2004

PEREIRA, G. J. M.; BOTTA, P.; SCIARA, A.; ARRANZ, S.; MURGAS, L. D. S.; PAULINO, M. S. **Estudo do desenvolvimento embrionário de curimba (*Prochilodus lineatus*)**. In: 45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008, Lavras. Anais da 45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008.

PEZZATO, L. E. **O Estabelecimento das Exigências Nutricionais das Espécies Cultivadas**. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, Piracicaba, 1997. Anais... Piracicaba -SP, p.45-60. 1997.

PEZZATO, L. E.; SCORVO FILHO, J. D. **Situação atual da aqüicultura na Região Sudeste**. In: VALENTI W. C. (Ed.) Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia. p.303-322. 2000.

PORTELLA, M. C. **Técnicas de criação intensiva de larvas de peixes neotropicais: situação atual e perspectivas.** In: I AquaCiência, Vitória – ES, 2004. 460p.

PROENÇA, Carlos Eduardo Martins de; BITTENCOURT, Paulo Roberto. **Manual de piscicultura tropical.** Brasília: IBAMA, 1994. 195p.

REID, H. P.; HOLDWAY, D. A. **Early development of the Australian crimsonspotted rainbowfish, *Melanotaenia fluviatilis* (Pisces: Melanotaeniidae).** Marine and Freshwater Research., v. 46. p. 475-480. 1995.

REYNALTE-TATAJE, D. R.; ZANIBONI-FILHO, E.; MUELBERT, B. **Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus*.** Acta Scientiarum, v.23, p. 823-827. 2001.

REYNALTE-TATAJE D. A. ; ZANIBONI FILHO, E. ; ESQUIVEL, J. R. **Embryonic and larval development of piracanjuba *Brycon orbignyanus* (pisces, bryconidae).** Acta Scientiarum (UEM), Maringá, v. 26, p. 67-71, 2004.

SANCHES, P. V.; NAKATANI, K., BALETZKI, A. **Morphological description of the developmental stages of *Parauchenipterus Galeatus* on the floodplain of the upper Paraná river.** Revista Brasileira de Biologia, v. 59, n.3, p. 429-438. 1999.

SANTILLÁN, R. D. B. **Reprodução do *Betta splendens*.** Monografia de conclusão de Graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Brasil. 2007.

SANTIN, M.; BIALETZKI, A.; NAKATANI, K. **Mudanças ontogênicas no trato digestório e dieta de *Apareiodon affinis*.** Acta Scientiarum. Biological Sciences. Maringá, v. 26, n. 3, p. 291-298, 2004.

SEAP. **Estatística da pesca 2004:** grandes regiões e unidades da federação. Brasília-DF, Dezembro de 2005.

SENHORINI, J. A. **Procedimento para criação de larvas de peixes.** IBAMA-CEPTA. Pirassununga- São Paulo. Apostila . 21p. 1993.

SMITH, T. S. **Primary Sex Reversal in Female *Betta splendens* Following Treatments with Temperature and Trenbolone Acetate.** Faculty of the Department of Biology East Tennessee State University. 2005. 64p.

SOUZA, G.; ANDRADE, D. R.; VIDAL JÚNIOR, M. V.; YASUI, G. S. **Desenvolvimento embrionário da piabanha *Brycon insignis***. In: I CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE AQUICULTURA E BIOLOGIA AQUÁTICA, 2004, VITÓRIA - ES. ANAIS DO AQUACIÊNCIA 2004. VITÓRIA-ES: AQUABIO. v. 1. p. 208-208. 2004.

SUGAI W. ***Betta splendens*: o nosso galo de briga**. 1993. Disponível em: <http://www.ecoanimal.com.br/ecochannel/artigos/artigobetta.asp>. Acesso em: 15 mar 2008.

WOLFSHEIMER, G. **The guide to owning Bettas**. Neptune City: T.H.F. Publications, 2003. 63p.

VIANNA, Wilson. **O *Betta splendens***. Disponível em: <http://www.enab.com.br/>. Acesso em: 08 out 2008a.

VIANNA, Wilson. **Tudo sobre bettas 1**. disponível em: <http://www.peixesornamentais.info> Acesso em: 08 out 2008b.

VERBEEK, P.; IWAMOTO T.; MURAKAMI, N. **Differences in aggression between wild-type and domesticated fighting fish are context dependent**. *Animal Behaviour*, London, v.73, n.73, p.75-83, 2007.

ZIMMERMANN, Sergio; MOREIRA, Heden Luiz Marques; VARGAS, Lauro; RIBEIRO, Ricardo Pereira. **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Ed. Ulbra, Canoas. 2001. 200p.

APÊNDICE A

Valores de altura e comprimento da vesícula vitelínica e volume do vitelo 1 hora após a eclosão de 11 larvas.

Nº Larva	HPF	HGPF	Altura mm	Comprimento mm	Volume do vitelo mm ³
1	40,0	1120,0	0,1575	0,1827	0,02637
2	40,0	1120,0	0,1359	0,3078	0,03307
3	40,0	1120,0	0,1422	0,1827	0,02149
4	40,0	1120,0	0,1179	0,1818	0,01470
5	40,0	1120,0	0,1197	0,1782	0,01485
6	40,0	1120,0	0,1305	0,1746	0,01730
7	40,0	1120,0	0,1359	0,1890	0,02031
8	40,0	1120,0	0,1197	0,1800	0,01500
9	40,0	1120,0	0,1287	0,1890	0,01821
10	40,0	1120,0	0,1251	0,1845	0,01680
11	40,0	1120,0	0,1188	0,1800	0,01478

APÊNDICE B

Valores de altura e comprimento das larvas recém eclodidas de *Betta*.

Nº Larva	HPF	HGPF	Altura mm	Comprimento mm
1	38,0	1064,0	0,1872	0,7029
2	38,0	1064,0	0,1692	0,6390
3	38,0	1064,0	0,1908	0,6201
4	38,0	1064,0	0,1575	0,6372
5	38,0	1064,0	0,1845	0,6489
6	38,0	1064,0	0,1566	0,6363
7	38,0	1064,0	0,1539	0,6390
8	38,0	1064,0	0,1575	0,6264
9	38,0	1064,0	0,1557	0,6237
10	38,0	1064,0	0,1458	0,6417
11	38,0	1064,0	0,1638	0,6300