

Produção de tetraplóides de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) através da aplicação de choque térmico - Production of tetraploid Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the application of thermal shock.

Paula Capozza Tebaldi: Oceanógrafa, UNIVALI, Itajaí, paulinhatebaldi@yahoo.com.br | **Hilton Amaral Junior:** Médico Veterinário, Pesquisador da EPAGRI e UNIVALI; Rua 1950 nº 590, Balneário Camboriú SC, hilton@epagri.rct-sc.br

Resumen

Uno de los problemas encontrados en la cultura de la tilapia es el hecho de la reproducción en el ambiente de cultivo, resultando en la pérdida innecesaria de la productividad, ya que parte de la energía que invierte en el crecimiento termina siendo utilizado por las hembras para producir huevos. Una de las técnicas utilizadas para evitar esto es el cultivo de organismos triploides, porque son incapaces de reproducir, pueden mostrar tasas de crecimiento y conversión alimenticia superior al diploide. Entre las diversas técnicas existentes para la obtención de triploides en tilapia es la formación de las parejas que consiste en machos diploides y hembras tetraploides. Por lo tanto, todas las larvas serán necesariamente triploides y, por tanto, estéril. En vista de estos hechos, en el presente documento se propone poner a prueba la eficacia de la producción de tilapia tetraploides, a través de la utilización de choque térmico durante la primera división celular del embrión, para su posterior uso en la producción de lotes triploides de tilapia. El proyecto fue desarrollado en el Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú – CEPC/EPAGRI Itajaí, entre los meses de octubre de 2007 a noviembre de 2008. Después de la fecundación, el número total de huevos se dividió en seis porciones similares, lo que equivale a seis tratamientos: 55, 60 y 65 minutos después de la fertilización y la aplicación de choque térmico (con agua a 40 ° C) con una duración de 1 a 2 minutos de cada tiempo post-fertilización. La propuesta del choque térmico fue evitar la primera división celular, permitiendo la proliferación de células con 4 pares de cromosomas. Al final del cultivo, los peces fueron sacrificados para la retirada de la región cefálica del riñón. Hicimos el análisis de cariotipo, contando el número de cromosomas para un pronunciamiento

de la poliploidía. El tratamiento de choque térmico con 65 minutos después de la fertilización y 2 minutos de duración, fue el 100% eficaz para producción del tetraploide.

Palabras clave: *Oreochromis niloticus*, tetraploide, choque térmico.

Abstract

One of the problems encountered in the culture of tilapia is the fact these are reproducing in the environment of cultivation, resulting in unnecessary loss of productivity, since part of the energy that would be reversed in growth ends up being used by females to produce eggs. One of the problems encountered in the culture of tilapia is one of the techniques used to avoid these unwanted egg is the cultivation of triploid organisms that, because they are unable to reproduce, may show growth rates and feed conversion efficiency of higher than diploid. Among the several existing techniques for obtaining triploid individuals, which is best suited is tilapia to the formation of couples consisting of male diploid and tetraploid females. Thus, all children will necessarily be triploid and therefore sterile. In view of these facts, this paper proposes to test the effectiveness of the production of tilapia tetraploids, through the use of thermal shock during the first cell division of the embryo, these bodies for later use in the production of triploid lots of tilapia. The project was developed on the premises of the Experimental of Fisheries of Camboriú - CEPC / EPAGRI and EEI / EPAGRI in Itajai, between the months of October 2007 to November 2008. After fertilization, the total number of eggs was divided into six portions similar, equivalent to six treatments: 55, 60 and 65 minutes after fertilization and application of thermal shock (with water at 40 ° C) for a duration of 1 to 2 minutes for each time post-fertilization. The proposal to prevent thermal shock was the first cell division, allowing the proliferation of cells with 4 pairs of chromosomes. At the end of the crop, the juveniles were sacrificed for the withdrawal of the cephalic region of the kidney. We made the analysis of karyotype and counting the number of chromosomes to a finding of polyploidy. The treatment of thermal shock with 65 minutes after fertilization and 2 minutes in duration, was 100% effective in the tetraploid.

Key words: *Oreochromis niloticus*, tetraploid, thermal shock.

Resumo

Um dos problemas encontrados no cultivo da tilápia é o fato destas se reproduzirem dentro do ambiente de cultivo, resultando em perdas desnecessárias de produtividade, uma vez que parte da energia que seria revertida em crescimento acaba por ser utilizada pelas fêmeas na produção de óvulos. Uma das técnicas utilizadas para evitar estas desovas indesejadas é o cultivo de organismos triploides que, por serem incapazes de se reproduzir, podem apresentar taxas de crescimento e eficiência de conversão alimentar superiores aos diplóides. Dentre as diversas técnicas existentes para obtenção de indivíduos triploides, a que mais se adapta à tilápia é a formação de casais constituídos de machos diplóides e fêmeas tetraploides. Desta forma, todos os descendentes serão necessariamente triploides e, conseqüentemente, estéreis. Tendo em vista estes fatos, o presente trabalho propõe testar a efetividade da produção de tilápias tetraploides, através do emprego de choque térmico, durante a fase de primeira divisão celular do embrião, para posterior utilização destes organismos na produção de lotes triploides de tilápia. O projeto foi desenvolvido nas instalações do Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú – CEPC/EPAGRI e EEI/EPAGRI em Itajaí, entre os meses de outubro de 2007 a novembro de 2008. Após a fecundação, o total de ovos foi subdividido em seis porções semelhantes, equivalentes a seis tratamentos: 55, 60 e 65 minutos após a fecundação e aplicação de choque térmico (com água a 40°C) com duração de 1 e 2 minutos para cada tempo pós-fecundação. A proposta do choque térmico foi impedir a primeira divisão celular, possibilitando a multiplicação de células com 4 pares de cromossomos. No final do cultivo, os juvenis foram sacrificados para a retirada da região cefálica do rim. Foram efetuadas as análises de cariótipo e contagem do número de cromossomos para a constatação da poliploidia. O tratamento de choque térmico com 65 minutos após a fecundação e 2 minutos de duração, foi 100% efetivo para a tetraploidia.

Palavras-chaves: *Oreochromis niloticus*, tetraploidia, choque térmico.

Introdução

Segundo VINATEA (2004), a aquicultura é o cultivo de organismos aquáticos com valor econômico, a fim de aumentar a segurança alimentar do planeta por meio da distribuição democrática do alimento gerado em todas as camadas sócio econômicas da população mundial.

Para a FAO (2003), o pescado é considerado um alimento nobre e de grande preferência por consumidores em muitas culturas, superando os suínos e as aves. Estes fatos, aliados à tendência de declínio dos estoques pesqueiros mundiais e a conseqüente estagnação da oferta de pescados capturados, fazem da aquicultura uma atividade fundamental para a manutenção da oferta destes produtos.

Segundo a EMBRAPA (2002), embora a indústria da aquicultura no Brasil venha crescendo a uma taxa superior a 15% ao ano, o potencial para expansão dessa atividade ainda é pouco aproveitado. Isso se deve, entre outras questões, à falta de uma política efetiva para organizar e promover o desenvolvimento da aquicultura como produtora de alimentos.

A atividade de aquicultura em Santa Catarina começou com a piscicultura de água doce (morna) na década de 70, com o apoio do serviço de extensão pesqueira, aproveitando algumas iniciativas particulares já existentes, principalmente nas regiões de cultura européia. Inicialmente as tilápias (*Tilápia rendalli* e *Oreochromis sp.*) e carpas (*Cyprinus carpio*) foram os peixes cultivados, aproveitando principalmente áreas subutilizadas e subprodutos das propriedades rurais (ROZANSKI *et al.*, 2000).

Atualmente existem dois tipos básicos de piscicultura no Estado de Santa Catarina: a piscicultura de subsistência (colonial) e a piscicultura profissional (comercial). Pelo último censo realizado pela EPAGRI em 2008 (comunicação pessoal), a piscicultura colonial tem atingido uma produtividade baixa (aproximadamente, 1.000kg/ha/ano), mas que não pode ser menosprezada em termos estatísticos, pois a soma de todos os viveiros "de fundo de quintal" do Estado catarinense resulta uma grande produção anual de peixes. Já a piscicultura profissional (cerca de 4.500 piscicultores), alcança números significativos. Usando como exemplo o Alto Vale do Itajaí, hoje uma das principais regiões produtoras do Estado, a produtividade média é de 7.500kg/ha/ano, com algumas propriedades chegando a alcançar 12.000kg/ha/ano.

A tilápia é a segunda espécie de peixe de água doce mais cultivada no estado de Santa Catarina, perdendo apenas para a carpa comum. Sendo também, a segunda em escala mundial.

As tilápias chegam à maturação sexual muito cedo. Normalmente com 60 gramas de peso e idade entre os 4 e os 6 meses, a tilápia já está em condições de realizar sua primeira desova. As desovas de cativeiros são extremamente comuns e, dependendo da região, podem

ocorrer durante praticamente o ano todo (AMARAL, 2006). Estas desovas resultam em perdas desnecessárias de produtividade, uma vez que parte da energia que seria revertida em crescimento acaba por ser utilizada pelas fêmeas na produção de óvulos. Além disso, há o consumo de ração pelos alevinos provenientes das desovas durante todo o cultivo, que encarece a produção e resulta em lotes sem padrões de tamanho. Para evitar tais problemas, utiliza-se normalmente a reversão sexual de alevinos através de hormônios, visando à produção de lotes monosexos masculinos. Porém, esta metodologia, além de dispendiosa, dificilmente chega a índices de 100% de eficiência (AMARAL *et al.*, 2002). Atualmente, no Estado, somente se utiliza alevinos de tilápia provenientes de reversão sexual, que são obtidos através de alimentação com ração comercial incorporada com hormônio masculinizante durante os primeiros 30 dias de vida da larva (AMARAL, 1995). A alternativa ao uso de indivíduos monosexos é o cultivo de organismos triplóides, que são estéreis, e assim não se reproduzem no tanque.

Existem várias técnicas que são utilizadas na produção de peixes triplóides, como: choque frio de longa duração, choque quente de curta duração, choque de pressão hidrostática de curta duração em ovos recém fertilizados, entre outros. Porém, estas técnicas não são adequadas para a produção de triploidia em tilápias, pelo baixo número de óvulos expulsos em cada desova, bem como a grande taxa de mortalidade resultante destes tratamentos (ÁVILA, 2004).

Dentre as diversas técnicas existentes para obtenção de indivíduos triplóides, a que mais se ajusta para o caso da tilápia é a formação de casais constituídos de machos diplóides e fêmeas tetraplóides. Desta forma, todos os descendentes serão necessariamente triplóides, e conseqüentemente estéreis (FANJUL, 1990).

O presente trabalho propôs avaliar a efetividade do emprego de choque térmico durante a fase de primeira divisão celular do embrião na produção de tilápias tetraplóides, avaliar o tempo mais adequado de eficiência na aplicação do choque térmico e quantificar o surgimento de deformidades nos exemplares submetidos ao choque térmico. Assim posteriormente produzir lotes triplóides de tilápia, já que teoricamente os animais triplóides são estéreis, não necessitando de reversão sexual por hormônio.

Materiais e Métodos

O projeto foi desenvolvido nas instalações do Campo Experimental de Piscicultura de Camboriú – CEPC/EPAGRI, entre os meses de outubro de 2007 a novembro de 2008. Neste local foram criados os peixes até a hora do sacrifício. A cariotipagem foi realizada nos meses de outubro e novembro de 2008, no laboratório da estação experimental da EPAGRI de Itajaí – SC e no Laboratório de Ciências Ambientais na UNIVALI de Itajaí - SC.

Os reprodutores de *Oreochromis niloticus* foram capturados em tanques do CEPC, onde se encontravam em período de amadurecimento gonadal, durante o período de um ano. Tanto os reprodutores quanto os alevinos foram alimentados durante o experimento com ração contendo 45% de proteína bruta. Conforme os reprodutores atingiam o estágio ideal, a reprodução era realizada massageando o abdômen das fêmeas.

Os óvulos de diversas fêmeas eram misturados a seco e posteriormente fecundados por ativação dos espermatozóides através de água, e a seguir colocados em incubadoras do tipo funil (Zoug).

Após a fecundação, o total de ovos foi subdividido em seis porções semelhantes, utilizados em seis tratamentos distintos: após 55, 60 e 65 minutos do início da fecundação sofreram choque térmico, sendo retirados da água com temperatura ambiente e imersos em água a 40°C, durante 1 e 2 minutos, de maneira a tentar impedir a primeira divisão celular, e possibilitando a multiplicação das células com 4 dotações cromossômicas.

Os ovos foram colocados em incubadoras logo após o choque térmico, onde permaneceram em média cinco dias até a eclosão dos ovos. As larvas foram transportadas para caixas plásticas de cem litros com circulação constante de água e aeração. Após vinte dias em média, as pós-larvas passaram para tanques revestidos de cimento com capacidade para três mil litros de água. Estes tanques possuíam entrada e saída de água independente aquecida por aquecedor de cinco mil watts. As larvas resultantes de cada tratamento foram colocadas em tanques separados.

Passado o período de crescimento (outubro/2007 a novembro/2008), os peixes oriundos dos choques em todos os tratamentos foram sacrificados para a retirada da porção cefálica do rim, que serviu de material para análise do cariótipo.

Para a obtenção de cromossomos mitóticos foi utilizada a técnica descrita por EGOZCUE (1971) e por CESTARI (1973), e posteriormente utilizada em peixes por FORESTI *et al.* (1981, 1993), por PAULS (1995) e por PAIVA (2007).

Após a cariotipagem, com a ajuda de um microscópio, foi realizada a leitura das lâminas através do tamanho do aglomerado de cromossomos, estimando o número de cromossomos para a constatação da poliploidia.

Seguindo os critérios de bem estar dos peixes, proposto por PEDRAZZANI (2007), os peixes utilizados neste trabalho foram anestesiados em solução aquosa de benzocaina, e posteriormente foi feita a secção da medula, tornando um processo mais humanitário, de acordo com padrões internacionais.

Resultados e Discussões

Os resultados obtidos com os choques térmicos aplicados para os diferentes tempos de pós-fertilização (55, 60 e 65 minutos) e com a duração de 1 e 2 minutos estão representados na tabela abaixo (Tabela 1), juntamente com o número total de ovos que foram submetidos aos tratamentos (Total ovos), os valores de indivíduos que sobreviveram até a transferência para os tanques 3.000 L com aproximadamente 20 dias de vida (Nº Peixes Terminação) e o número de sobrevivência até a hora do sacrifício (Nº Peixes Final).

Tabela 1. Resultados dos choques realizados.

Tempo Pós-fertilização	Duração Choque	Total ovos	Nº Peixes Terminação	Nº Peixes Final	Sobrevivência (%)	Deformidade (%)	Tetraploide (%)
55	1	100	3	3	3,00	0,00	66,66
55	2	200	17	5	2,50	0,00	0,00
60	1	200	25	8	4,00	12,50	62,50
60	2	100	10	7	7,00	0,00	71,43
65	1	100	6	6	6,00	0,00	66,66
65	2	100	29	18	18,00	11,11	100,00

Pôde-se observar uma grande mortalidade dos embriões no tempo transcorrido entre o momento da fertilização e a primeira semana de vida. Este fato foi verificado também por HUSSAIN *et al.*, (1993) e ÁVILA, (2004).

O sistema de incubação utilizado neste estudo pode ter contribuído para o baixo índice de eclosão e sobrevivência, como sugerido por SHELTON (2002), que concluiu que a baixa taxa de sobrevivência observada pode ser atribuída ao fato de que o mecanismo de manipulação da reprodução e incubação artificial das tilápias (exclusão dos gametas, fertilização *in vitro* e incubação artificial), pode afetar os índices de mortalidade quando comparados à reprodução e incubação natural. ARAI (2001), descreveu que as técnicas para inibir a 1ª clivagem nos embriões geralmente resultam em baixas taxas de sobrevivência.

O tratamento de 65 minutos pós-fertilização e 2 minutos de duração do choque foi o que apresentou maior sobrevivência e os tratamentos de 55 minutos pós-fertilização com 1 e 2 minutos de duração de choque foram os que apresentaram maior mortalidade. O aumento da sobrevivência nos tratamentos com maior período pós-fertilização também foi observado por ÁVILA (2004). No entanto, MYERS (1986) menciona que as variações dos resultados dos diferentes tratamentos podem ser devidas às características das fêmeas e aos efeitos no sistema de incubação (MAIR, 1993; SHELTON, 2002), os quais provavelmente confundem a interpretação dos dados obtidos nestes ensaios.

O uso das peneiras para a aplicação do choque térmico foi eficiente, facilitando o manejo dos grupos permitindo uma rápida manipulação e transporte dos mesmos entre o sistema de pré-incubação e o banho-maria, concordando com os resultados obtidos por HERBST (2002) e ÁVILA (2004).

Cabe ressaltar que alguns juvenis de tilápia nilótica resultantes dos tratamentos aplicados, apresentaram algum tipo de anomalias ou deformidades, tendo-se verificado alterações bem visíveis. As alterações encontradas no trabalho foram: cegueira, falta da nadadeira dorsal, corpo arredondado, coluna vertebral com curvatura e exoftalmia. Os indivíduos que apresentaram estas anomalias ou deformidades foram necessariamente tetraplóides (Fotografia 1 e 2)

Apenas os tratamentos de 60 minutos pós-fertilização com a duração do choque 1 minuto e o de 65 minutos pós-fertilização com a duração do choque de 2 minutos que apresentaram peixes com anomalias ou deformidades, 12,5% e 11,11% respectivamente.



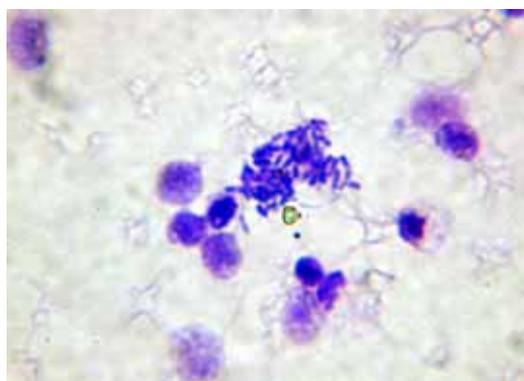
Fotografia 1 Tilápia com exoftalmia e corpo disforme.



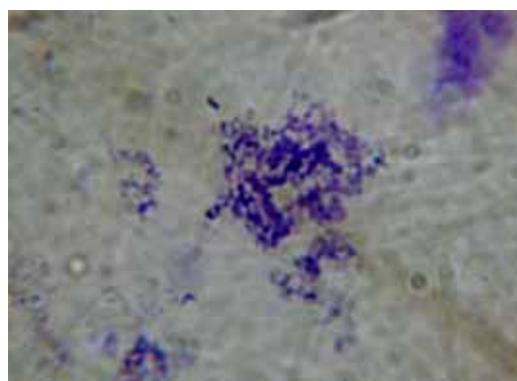
Fotografia 2. Tilápia com lesão na Coluna dorsal.

Os indivíduos submetidos às análises cromossômicas nos diferentes tratamentos evidenciaram o número modal diplóide normal da espécie, $2n=44$ cromossomos (Fotografia 3), concordando com os resultados obtidos por MYERS, (1986), EL GAMAL *et al.*, (1999), SHELTON, (2002), HERBST (2002) e ÁVILA, (2004).

Foram analisados um total de 47 peixes dentre todos os tratamentos, não obtendo indivíduos tetraplóides apenas no tratamento de 55 minutos pós-fertilização e de 2 minutos a duração do choque. Todos os outros tratamentos apresentaram tetraploidia (Fotografia 4), sendo que o tratamento de 65 minutos pós-fertilização e de 2 minutos de duração do choque obteve 100% dos indivíduos tetraplóides. Como no tratamento de 55 minutos pós-fertilização e de 2 minutos de duração do choque a mortalidade foi a maior ocorrida, acredita-se que possa haver ocorrido mortalidade total dos indivíduos tetraplóides, restando apenas os diplóides.



Fotografia 3. Lâmina de Tilápia diplóide $2n=44$



Fotografia 4. Lâmina de tilápia tetraploide $2n=88$

Os choques térmicos são considerados os tratamentos mais adequados para a indução de poliploidia, baseados nas porcentagens de indivíduos poliplóides viáveis produzidos e sua sobrevivência (HUSSAIN *et al.*, 1993).

É importante em ter em conta a dificuldade da indução a poliploidia em tilápia do Nilo, uma vez que esta espécie libera os ovócitos em diversas oportunidades no transcurso da desova. Por esta razão, os ovários destes peixes contêm ovócitos em todos os estágios de desenvolvimento, que vão maturando em parcelas, caracterizando-os como peixes assincrônicos ou de desova intermitente (CARRILLO & RODRIGUEZ, 2001).

DON & AVTALION, (1988), EL GAMAL *et al.*, (1999) e HERBST, (2002), sugerem que o assincrônismo do desenvolvimento do zigoto após a fertilização parece ser um dos fatores mais importantes para a indução a poliploidia. Este assincrônismo pode ser devido a um artefato da técnica de desova artificial ou os processos de choque térmico como, por exemplo, o choque não uniforme sobre os ovos ou sua inadvertida ativação na desova.

Na literatura não existem referências pertinentes sobre a sobrevivência de tilápia do Nilo tetraplóides até atingirem a fase adulta (HERBST, 2002). O único relato foi escrito por DON & AVTALION, (1988) para *Oreochromis aureus*, que sobreviveu a choques térmicos frios. Embora os resultados tenham sido positivos, pesquisas mais refinadas devem ser feitas (HERBST, 2002).

Evidências sugerem que a viabilidade dos peixes tetraplóides é muito baixa. Entretanto, poucos casais de tetraplóides maduros férteis são suficientes para iniciar um programa de melhoramento genético orientado a aumentar a população de uma forma planejada, reduzindo o risco de endogamia (ÁVILA, 2004).

Durante o período de incubação e eclosão ocorreu grande mortalidade de embriões em função de quedas bruscas de temperaturas brusca da água e diminuição do oxigênio por interrupção do aporte de água.

Conclusões

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho concluímos que:

1. Em todos os tratamentos aplicados, foi possível obter indivíduos até o estagio juvenil.
2. As diferenças obtidas nas eclosões e sobrevivência se devem provavelmente ao assincronismo da reprodução das fêmeas de tilápias utilizadas.
3. A aplicação do choque térmico resultou em um índice de mortalidade muito alto.
4. As aplicações dos choques térmicos quentes produziram pequena porcentagem de indivíduos deformados.
5. Apenas os tratamentos de 60 minutos pós-fertilização com 1 minuto de duração do choque térmico e o de 65 minutos pós-fertilização com 2 minutos de duração do choque térmico, tiveram animais com deformidades.
6. O tratamento que teve 100% de indivíduos tetraplóides, foi o de 65 minutos pós-fertilização e de 2 minutos de duração do choque térmico.

Recomendações

A partir dos resultados encontrados neste trabalho, observa-se a necessidade da realização de mais testes comprobatórios da indução a tetraploidia através de choque térmico. É importante também que os animais comprovadamente tetraplóides, sejam utilizados na reprodução com animais diplóides, de maneira a comprovar a possibilidade de produção de tilápias triplóides através desta metodologia.

Literatura citada

- AMARAL, H. J.; KUPSCH, B.; LARGURA, J.; SATO, G. Y.; APPEL, H. B. Producción de alevines de tilápia nilotica *Oreochromis niloticus* en otoño / invierno en la región Sur de Brasil. Anais do XI Congresso Latinoamericano de Acuicultura. CD - Coquimbo/Chile. 2002.
- AMARAL, H. J. Manual de reprodução de peixes de água doce, com cultivo comercial na região Sul do Brasil. Camboriú – SC. 2006.
- AMARAL, H, J. Poliploidia em piscicultura. Anais da I Semana Agropecuária do CAC. Camboriú. P.13-16. 1995.
- ARAI, K. Genetic improvement of Aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. Aquaculture, 197: 205-228. 2001.

- ÁVILA, M. C. Indução á tetraploidia em tilápia nilotica, *Oreochromis niloticus* utilizando-se choque térmico. Dissertação de mertrado Universidade Estadual Paulista. Centro de Acuicultura da UNESP. Jaboticabal. 2004.
- CARRILLO, M.; RODRÍGUEZ, J. A. Bases fisiológicas de la reproducción de peces tropicales. 189-217 p. En: RODRÍGUEZ, H.; VICTORIA, P.; CARRILLO, M. (eds). Fundamentos de Acuicultura Continental. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA. Bogotá, Colômbia. Segunda edición. 423p. 2001.
- CESTARI, A. N. Métodos de estudo dos cromossomos de vertebrados. IN: Azevedo, T.L. de e Costas, S.O.P. da org. Exercícios Práticos de Genética, 29-31. Compahia Editora Nacional – Editora da Universidade de São Paulo, SP. 1973.
- DON, J.; AVTALION, R. R. Production of monosex or sterile fishes in Aquaculture. Aquat. Sci., 2: 1-17. 1990.
- EGOZCUE, J. Técnicas em Citogenética. Editorial Espaxs, Barcelona, pp. 144. 1971.
- EL GAMAL, A. A.; DAVIS, K. B.; JENKINS, J. A.; TORRAS, E. L. Induction of triploid and tetraploid in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the World Aquaculture Society 30: 269-275. 1999.
- EMBRAPA. A EMBRAPA e a aqüicultura: demanda e prioridades de pesquisa. Brasília, 2002. Disponível em:
 - <http://www22.sede.embrapa.br/unidades/uc/sge/texto11.pdf>. Acesso em: 10/07/2008.
- FANJUL, C. L. Mejora genética de peces y moluscos. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 1990.
- FAO, FAO aquaculture newsletter, n.29, 2003. Disponível em:
 - http://www.fao.org/documents/advanced_s_result.asp?QueryString=aquaculture+2003&search=Search. Acessado em: 10/04/2008.
- FORESTI, F.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; TOLEDO, S. A. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. Cytogen. Cell Genet. 31: 137-144. 1981.
- FORESTI F.; OLIVEIRA C., ALMEIDA-TOLEDO L. F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicines. Experientia 49 (810-813), 1993.
- HERBST, E. C. Induction of tetraploidy in Zebrafish *Danio rerio* and Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Máster Thesis. B. A., University of North Carolina at Charlotte. 2002.
- HUSSAIN, M. G.; PENMAN, D. J.; MACANDREW, B. J.; JOHNSTONE, R. Supression of first cleavage in the Nile tilapia. *Oreochromis*

- niloticus L. – a comparison of the relative effectiveness of pressure and heat shock. *Aquaculture*. 111: 263-270. 1993
- MAIR, G. C. Chromosome-set manipulation in tilapia – techniques, problems and prospects. *Aquaculture*, 111: 227-244. 1993.
 - MYERS, J. Tetraploids induction in *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 57: 281-287. 1986.
 - PAIVA, L. R. S. Citogenética de populações de *Serrapinnus notomelas* (Characidae: Cheirodontidae) da Bacia do Rio Tietê. Botucatu – SP. 2007.
 - PAULS, E. Técnicas utilizadas na citogenética. Universidade Federal de São Carlos, Departamento de genética e evolução. São Carlos. 1995.
 - PEDRAZZANI, A. S. Bem-estar de peixe e o impacto causado pelo abate. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2007.
 - ROCZANSKI, M.; COSTA, S. W.; BOLL, M. G.; OLIVEIRA NETO, F. M. A evolução da aqüicultura no estado de Santa Catarina – Brasil. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. – EPAGRI. Florianópolis. 2000.
 - SHELTON, W. L. Monosex tilápia production through androgenesis. In:
 - MCELWEE, K.; LEWIS, K.; NIDFFER, M.; BUITRAGO, P. (eds). Nineteenth Annual Technical Report. Pond Dynamica/Aquaculture CRSP, Oregon State University, Corvallis, Oregon, pp1-9. 2002.
 - VINATEA, L. A. Princípios químicos de qualidade da água em aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. 2 ed. Ver. e amp. –Florianopolis: Ed. da UFSC, 2004.

REDVET: 2009 Vol. 10, Nº 10

Recibido 16.12.08 - Ref. prov. E0905 - Aceptado 22.06.09
Ref. def. 100908_RED VET - Publicado 15.10.09

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n100909.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100908.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización® Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://revista.veterinaria.org>