

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),  
o texto completo desta dissertação será disponibilizado  
somente a partir de 26/02/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU**  
Departamento de Zoologia

Dissertação de Mestrado

**CRESCIMENTO E ASPECTOS REPRODUTIVOS**  
**DO *Pimelodus maculatus* TRIPLOIDES**

Rafaela Manchin Bertolini

Bióloga

Botucatu-SP  
2018

CRESCIMENTO E ASPECTOS REPRODUTIVOS DO  
*Pimelodus maculatus* TRIPLOIDES

RAFAELA MANCHIN BERTOLINI

Orientador: Prof. Dr. George Shigueki Yasui

Coorientador: Prof. Dr. José Augusto Senhorini

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – Unesp – *Campus* de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Zoologia.

Botucatu-SP  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Bertolini, Rafaela Manchin.

Crescimento e aspectos reprodutivos do *Pimelodus maculatus*  
Triploides / Rafaela Manchin Bertolini. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: George Shigueki Yasui  
Coorientador: José Augusto Senhorini  
Capes: 20400004

1. Esterilização. 2. Manejo de peixe. 3. *Pimelodus maculatus*.  
4. Cromossomos. 5. Animais - População.

Palavras-chave: Esterilização; Mandi amarelo; Manipulação  
cromossômica; Triploidização.

## *Agradecimentos*

*Agradeço primeiramente a Deus, por todas as oportunidades colocadas em meu caminho, e a força para me dedicar a cada uma delas.*

*A toda minha família, em especial meus pais Rozi e Nilson e minha irmã Gabriela por sempre acreditarem em mim, pelo incentivo, carinho, amor, e dedicação. Vocês são essenciais em minha vida.*

*Ao meu orientador, George Shigueki Yasui e coorientador José Augusto Senhorini, pelos anos de aprendizado, pela oportunidade, companheirismo, amizade e pela confiança no desenvolvimento do trabalho. É uma honra ter vocês como meus professores!*

*Aos amigos e colegas do Laboratório de Biotecnologia de Peixes: Dilberto Riberto Arashiro, Paulo Sérgio Monzani, Matheus Pereira dos Santos, Lucas Henrique Piva, Mariana Machado Evangelista, Leonardo Luiz Calado, Natália Greice Matheus, Gustavo Sheguimoto Fonseca, Hatus Siqueira, Geovanna Coelho, Nathalia Alcântara, Bruna Machado, Talita Lázaro, Lauriene Munhoz, Leonardo Bortoletto, Daniela Oliveira.*

*Em especial, Nivaldo Ferreira do Nascimento, Diógenes Henrique de Siqueira Silva, Nycolas Levy Pereira, Lucia Suarez, Lopez por todo conhecimento, paciência e amizade. Sou muito grata a vocês!*

*Ao CEPTA/ICMBio, pela infraestrutura e fornecimento de matéria biológico. Agradeço também aos funcionários Ricardo Torres, Lino, Tim, Dalton, Gordo, pela disponibilidade e ajuda no desenvolvimento do trabalho.*

*À AES TIETÊ/ANEEL 4600000174 pelo apoio financeiro, fornecimento de equipamentos, material utilizado nesse estudo.*

*Ao Programa de Pós Graduação em Zoologia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - UNESP/ Botucatu.*

*Ao Guilherme Pedroso, por todo carinho, amor e compreensão. Obrigada por sempre estar do meu lado apoiando, se preocupando e incentivando.*

*Por fim, a todos que estiveram ao meu lado apoiando e sendo amigos, em especial, Larissa Pardin, Larissa Sartilho, Mariana Braglin, Matheus Tonetti, Paulo André.*

*Obrigada a todos!*

## Sumário

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	1
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	4
<b>Resumo Geral</b> .....	5
<b>General Abstract</b> .....	6
<b>1-INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	7
1.1 Mandi ( <i>Pimelodus maculatus</i> ) como espécie modelo .....	8
1.2 Produção de peixes triploides .....	9
<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<b>CAPÍTULO I: PROTOCOLO DE TRIPLOIDIZAÇÃO DO <i>Pimelodus maculatus</i></b> .	12
<b>1-MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
1.1 Origem dos peixes parentais, indução hormonal e fertilização <i>in vitro</i> .....	12
1.2 Indução a triploidia através de choque térmico .....	13
1.3 Desenvolvimento e sobrevivência dos embriões submetidos aos choques de temperatura .....	13
1.4 Confirmação da ploidia.....	14
1.5 Análise estatística .....	16
<b>2-RESULTADOS</b> .....	16
2.1 Sobrevivência e determinação da ploidia .....	16
<b>CAPÍTULO II: CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO GONADAL DE <i>Pimelodus maculatus</i> DIPLOIDES E TRIPLOIDES</b> .....	22
<b>1-MATERIAL E METODOS</b> .....	22
1.2 Sistema de aquários e distribuição .....	24
1.3 Biometrias, coletas e análise histológica .....	27
1.4 Análise estatística .....	28
<b>2-RESULTADOS</b> .....	29
2.1 Crescimento e Peso.....	29

2.2 Índice Gonadosomático (IGS).....	32
2.3 Rendimento de Carcaça .....	33
2.4 Análise Histológica.....	36
<i>DISCUSSÃO GERAL</i> .....	40
<i>CONCLUSÕES</i> .....	44
<i>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</i> .....	45

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

**Figura 1.** Larvas de mandi, *Pimelodus maculatus*, com morfologia normal (A) e anormal (B).....19

**Figura 2.** Histograma de citometria de fluxo de uma larva recém-eclodida diploide (A) e triploide (B) de mandi (*Pimelodus maculatus*).....20

**Figura 3.** Esfregaço sanguíneo e citogenética de indivíduos diploides (esquerda) e triploides (direita) do Mandi amarelo, *Pimelodus maculatus*.....21

### Capítulo II

**Figura 1.** Coleta de amostra (nadadeira) para confirmação da ploidia através de citometria de fluxo e identificação individual dos exemplares de *Pimelodus maculatus*. A. Anestesia. B. Coleta de nadadeira para análise de citometria de fluxo. C. Incisão com auxílio de bisturi. D. Inserção do microtransponder.....23

**Figura 2.** Ilustração do sistema de aquários utilizado no experimento de crescimento de *Pimelodus maculatus* diploides e triploides. Setas indicando a instalação de lâmpadas para fotoperíodo, encanamento para circulação de água, termostato e bomba de circulação presente em todos os aquários. Fonte: Hur Siqueira Filho, Programa: SketchUp Pro.....25

**Figura 3.** Ilustração do sistema de aquários utilizado no experimento de crescimento de *Pimelodus maculatus* diploides e triploides, vista lateral. Setas indicando filtro UV e aeração. Fonte: Hur Siqueira Filho, Programa: SketchUp Pro.....26



<b>Figura 4.</b> Biometria de <i>Pimelodus maculatus</i> . A. Comprimento padrão (mm) com auxílio de paquímetro digital. B. Peso total (g) utilizando balança semi analítica.....	27
<b>Figura 5.</b> Comprimento padrão (mm) de fêmeas 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença estatística entre diploides e triploides ( $t > 0,05$ ).....	29
<b>Figura 6.</b> Peso (g) de fêmeas 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença estatística entre diploides e triploides ( $t > 0,05$ ).....	30
<b>Figura 7.</b> Comprimento padrão (mm) de machos 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença estatística entre diploides e triploides ( $t > 0,05$ ).....	31
<b>Figura 8.</b> Peso (g) de fêmeas 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença estatística entre diploides e triploides ( $t > 0,05$ ).....	31
<b>Figura 9.</b> Índice gonadossomático (IGS, %) de fêmeas 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Asteriscos indicam diferença estatística entre diploides e triploides ( $t < 0,05$ ).....	32
<b>Figura 10.</b> Índice gonadossomático (IGS, %) de machos 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença estatística entre diploides e triploides ( $t > 0,05$ ).....	33
<b>Figura 11.</b> Rendimento de carcaça (%) de fêmeas 2n e 3n de <i>Pimelodus maculatus</i> durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença significativa entre as ploidias ( $t > 0,05$ ).....	34

**Figura 12.** Rendimento de carcaça (%) de fêmeas 2n e 3n de *Pimelodus maculatus* durante 18 meses de coleta. Não foi observada diferença significativa entre as ploidias ( $t > 0,05$ ).....34

**Figura 13.** Morfologia externa de peixes e gônadas de *Pimelodus maculatus*. Fêmeas 2n (A) e 3n (B) e machos 2n (C) e 3n (D). Amostras do Mês 18. Escala: 5 cm.....35

**Figura 14.** Histologia ovariana de fêmeas diploides e triploides de *Pimelodus maculatus*. Amostras do Mês 2 (A, C) e 18 (B, D). Fêmeas 2n em fase de maturação, oócitos em crescimento primário (A, B). Ovários imaturos de fêmeas 3n (C, D). Setas indicando oogônias (Og) e oócitos (Oc). Barra de escala, A e D: 50  $\mu\text{m}$ ; B e C: 100  $\mu\text{m}$ .....39

**Figura 15.** Histologia testicular de machos diploides e triploides de *Pimelodus maculatus*. Amostras do Mês 2 (A, D), 6 (B, E) e 18 (C, F). Gônadas em maturação inicial (A, D, E, F). Gônadas maduras (B, C). Setas indicando: SG, espermatogônias; SC, espermatócitos; ST, espermátides; SZ, espermatozoide; RS, espermatozoide residual; I, interstício. Linha tracejada indicando o ducto testicular principal. Barra de escala, A, B, D e E: 50  $\mu\text{m}$ ; C e F: 100  $\mu\text{m}$ .....39

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

**Tabela 1** - Desenvolvimento e ploidia do Mandi, *Pimelodus maculatus*, após tratamentos com choque térmico para indução a triploidia<sup>1</sup>.....18

### Capítulo II

**Tabela 1.** Fases de ovogênese identificadas em indivíduos diploides e triploides de *Pimelodus maculatus* durante os meses de coleta.....37

**Tabela 2.** Fases da espermatogênese identificadas em indivíduos diploides e triploides de *Pimelodus maculatus* durante os meses de coleta.....38

## RESUMO GERAL

A triploidização é uma ferramenta interessante para produzir peixes estéreis. No Mandi amarelo, *Pimelodus maculatus* isso pode ser aplicada como uma ferramenta de reconstituição de espécies ameaçadas através de transplante de células germinativas-tronco. No capítulo I, objetivou-se estabelecer um protocolo eficiente para a triploidização da espécie *P. maculatus* empregando choques de térmicos. As temperaturas testadas foram de 37°C, 38°C e 39°C, 2 minutos pós-fertilização durante 2 minutos. Os embriões intactos serviram como grupo controle diplóide. A ploidia foi confirmada por citometria de fluxo, diâmetro nuclear dos eritrócitos e citogenética. Taxas de fertilização e sobrevivência foram verificadas nos principais estágios de desenvolvimento embrionário (clivagem, blástula, gástrula, segmentação e eclosão), assim como a porcentagem de larvas normais e anormais, e eficiência da triploidização. O choque térmico reduziu significativamente a sobrevivência no estágio de gástrula ( $P = 0,0178$ ), somito ( $P = 0,0469$ ) e incrementou o percentual de larvas anormais ( $P = 0,0261$ ). A menor sobrevivência foi observada para o tratamento a 39°C. Todos os tratamentos apresentaram altas porcentagens de indivíduos triploides, sendo o maior valor observado para o choque a 38°C (96,7%). Com base nos resultados acima, foi obtido um eficiente protocolo de triploidização em *P. maculatus* utilizado choque quente (38°C, 2 mpf e duração de 2 minutos). No capítulo II, foram avaliados aspectos relacionados ao desempenho reprodutivo e crescimento de indivíduos diploides (2n) e triploides (3n) da espécie *P. maculatus*. O objetivo foi avaliar crescimento entre as duas diferentes ploidias através do peso, comprimento, rendimento de carcaça, índice gonodassomatico e a possível esterilidade em peixes triploides por meio de análise histológica. Fêmeas 2n apresentaram valores de IGS significativamente maiores ( $P = 0,0157$ ). A análise histológica mostrou fêmeas 2n em fase de maturação. Por outro lado, gônadas de fêmeas 3n apresentaram somente oogônias, células apoptóticas e poucos oócitos primários isolados. Machos 2n apresentaram gametogênese normal, ao passo que em machos 3n não foram observados espermatozoides formados. Portanto, não foram observados gametas em fêmeas e machos 3n de *P. maculatus*, sendo considerados estéreis. Essas características são aplicáveis tanto nas ciências básicas, como modelo experimental, bem como nas ciências aplicadas, para a produção em larga escala.

**Palavras chave:** Mandi amarelo; triploidização; manipulação cromossômica; esterilização.

## GENERAL ABSTRACT

Triploidization is an interesting tool to produce sterile fish. In the spotted catfish *Pimelodus maculatus*, this may be used as a tool for reconstitution of endangered species based on stem germ cell transplantation. In Chapter I, the study aimed to establish an efficient protocol for triploidization in the spotted catfish *P. maculatus* using temperature shock. The temperatures tested were 37°C, 38°C e 39°C, 2 min postfertilization during 2 minutes. Intact embryos served as diploid control. Ploidy status was confirmed by flow cytometry, nuclear diameter of erythrocytes and karyotyping. Fertilization and hatching rates were verified at the main embryo stages (cleavage, blastula, gastrula, somite stage and hatching), the percentage of normal and abnormal larvae and also the efficacy of triploidization. Heat shock decrease the survival at blastula stage ( $P= 0,0178$ ), somite ( $P = 0,0469$ ) and increased the percentage of abnormal larvae ( $P = 0,0261$ ). The lowest survival was observed at 39 °C. All treatments presented high percentages of triploid individuals, and the highest values were observed for heat shock at 38°C (96,7%). Based on results above, it was obtained an efficient protocol for triploidization in *P. maculatus* using heat shock (38°C, 2 min postfertilization during 2 minutes). In Chapter II, aspects related to the growth and reproductive performance of diploid (2n) and triploid (3n) of *P. maculatus* were evaluated. The objective was to evaluate growth according with the ploidy status, through length, weight, carcass yield, gonadassometric index and possible sterility in triploid fish by means of histological analysis. Diploid females presented significantly higher IGS values ( $P = 0.0157$ ). Histological analysis showed 2n females in maturation stage. On the other hand, gonads of 3n-females presented only oogonia, apoptotic cells and few isolated primary oocytes. Diploid males presented normal gametogenesis, although in 3n-males spermatozoa were not observed. However, gametes were not observed in females and males 3n of *P. maculatus*, considered then as sterile sterile.

**Keywords:** spotted catfish; triploidization; chromosome manipulation; sterilization.

## 1- INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente a ictiofauna Neotropical é composta por aproximadamente 4.900 espécies de água doce (REIS et al., 2016). Ações antrópicas como pesca extrativista, introdução de espécies exóticas, contaminação do meio aquático e alterações nos cursos naturais dos rios causam impactos significativos e colocam diversas espécies nativas em risco de extinção. De acordo com o “Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção”, existem 312 espécies em algum nível de ameaça (ICMBIO, 2016). Diante desse panorama, estratégias de preservação, empregando biotecnologias avançadas têm sido desenvolvidas para a recuperação de espécies ameaçadas (YASUI et al., 2011).

A técnica do quimerismo é uma biotécnica promissora para reconstituição de espécies através de transplante de células germinativas-tronco (PGCs, espermatogônias ou oogônias) de um indivíduo doador para um receptor estéril, onde as células poderão colonizar e diferenciar-se em gametas com características genéticas do doador, produzindo assim uma quimera germinativa (OKUTSU et al., 2007; NÓBREGA et al., 2010; YOSHIKAWA, GORO et al., 2010; YOSHIKAWA et al., 2017). Empregando-se essa tecnologia, uma espécie ameaçada de extinção poderá ser propagada através de uma espécie em que o manejo reprodutivo esteja bem consolidado. Para que essa técnica seja efetiva, devem ser utilizados receptores estéreis, que assim vão garantir que haja produção de gametas apenas do doador. Como receptor de células germinativas, podem-se utilizar peixes triploides (OKUTSU et al., 2007), os quais geralmente são estéreis ou inférteis (TAKEUCHI et al., 2016). Ao receber células germinativas exógenas produzirão gametas apenas do doador. Portanto, a produção de receptores estéreis é um ponto chave para o sucesso do quimerismo.

---

Embora existam potencialidades da aplicação dessas biotecnologias para a recuperação de espécies ameaçadas de extinção, estrategicamente, é importante adotar grupos de peixes com grande número de espécies, já que uma vez consolidada uma estratégia de preservação, as tecnologias podem ser facilmente empregadas em espécies filogeneticamente próximas. Nesse contexto, para o desenvolvimento deste trabalho foi escolhida a espécie *Pimelodus maculatus* (Pimelodidae, Siluriformes) como modelo experimental, pois peixes triploides desta espécie, caso sejam estéreis, poderão ser futuramente empregados como receptores de células germinativas de espécies ameaçadas de extinção da ordem Siluriformes. Vale ainda citar como exemplo de aplicação dessa tecnologia a espécie *Pseudopimelodus mangurus* (Pseudopimelodidae, Siluriforme) recentemente incluída na lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção no estado de São Paulo (BRESSAN; KIERULFF e SUGIEDA, 2009), portanto o mandi poderia ser uma ferramenta para melhorar o estado de conservação de um siluriforme ameaçado de extinção.

### 1.1 Mandi (*Pimelodus maculatus*) como espécie modelo

Entre as maiores ordens de peixes e o segundo grupo mais ameaçado, com 96 espécies listadas no Brasil (ICMBIO, 2016), temos os Siluriformes, constituída basicamente por bagres e cascudos e que conta com mais de 2.400 espécies, distribuídas em 34 famílias e 412 gêneros (NELSON, 2006; HELFMAN et al., 2009). A espécie *P. maculatus*, descrita pela primeira vez em 1803 por Lacépède (REIS; KULLANDER e FERRARIS, 2003), pertence à ordem dos Siluriformes, à família Pimelodidae, que inclui cerca de 50-60 gêneros e 300 espécies (MEES, 1974) e ao gênero *Pimelodus*, o

---

mais rico da família, que apresenta 26 espécies (RIBEIRO; LUCENA e LUCINDA, 2008). Esta espécie tem ampla distribuição geográfica na América do Sul, sendo encontrada nas bacias do rio Paraná e São Francisco (REIS; KULLANDER e FERRARIS, 2003). Espécie caracterizada onívora, porém generalista, com hábitos alimentares diversos, incluindo matéria vegetal, invertebrados e peixes (BAIZ; CABRERA e CANDIA, 1968; BASILE et al., 1975; DE RESENDE, 2000; LOBON-CERVIA e BENNEMANN, 2000; SILVA; FUGI e SEGATTI HAHN, 2007; HAHN e FUGI, 2009), capaz de explorar mais de um nível trófico (LOBON-CERVIA e BENNEMANN, 2000; CALLISTO et al., 2002; SILVA; FUGI e SEGATTI HAHN, 2007). Esse hábito alimentar oportunista é bastante valorizado na aquicultura pela habilidade em ingerir dietas artificiais inclusive em tanques redes (RAMOS, 2009), o que facilita a criação em cativeiro. Também possui características vantajosas como fácil reprodução em cativeiro e sob condições laboratoriais, o que possibilita o controle da fertilização artificial, vital para estudos de manipulação cromossômica, como é o caso da indução de peixes triploides. Diante dessas características e potencialidades, pode-se considerar o mandi *Pimelodus maculatus* como uma espécie de dupla aptidão, ou seja, uma espécie de laboratório e de aquicultura, servindo portanto para as ciências básicas e aplicadas. Porém, os estudos prévios supracitados concentram-se no campo das ciências aplicadas (aquicultura), embora haja potencial para estudos avançados como a manipulação cromossômica e quimerismo, alvo do presente estudo.

## 1.2 Produção de peixes triploides

Peixes triploides ( $3n$ ) são indivíduos cujas células possuem três conjuntos de cromossomos, contendo dois de origem materna e um de origem paterna (ADAMOV et



---

cromossomos logo na fase inicial da meiose, motivo pelo qual os ovários não se desenvolvem, sendo sempre observados em desenvolvimento inicial.

Portanto, os resultados deste estudo mostram que fêmeas e machos  $3n$  exibem gônadas em estágio imaturo. Deste modo, peixes  $3n$  de *P. maculatus* podem ser considerados estéreis, pois foram incapazes de gerar gametas viáveis durante o período estudado.

## CONCLUSÕES

- Foi obtido um eficiente protocolo de triploidização em *P. maculatus* utilizado choque quente ( $38^{\circ}\text{C}$ , 2 mpf e duração de 2 minutos), o qual poderá ser aplicado em futuros estudos básicos e aplicados.
  
- Este trabalho mostrou que a triploidização pode ser utilizada para esterilização em larga escala da espécie *P. maculatus*, podendo ser utilizada como receptora de células germinativas-troco na técnica do quimerismo, ferramenta promissora para conservação espécies ameaçadas.

---

**REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

ADAMOV, N. S. D. M.; NASCIMENTO, N. F. D.; MACIEL, E. C. S.; PEREIRA-SANTOS, M.; SENHORINI, J. A.; CALADO, L. L.; EVANGELISTA, M. M.; NAKAGHI, L. S. O.; GUERRERO, A. H. M.; FUJIMOTO, T. Triploid Induction in the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, Using Temperature Shock: Tools for Conservation and Aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, 2016. ISSN 1749-7345.

ARAI, K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. **Aquaculture**, v. 197, n. 1, p. 205-228, 2001. ISSN 0044-8486.

BAIZ, M.; CABRERA, E. e CANDIA, C. Alimentación natural del bagre amarillo (*Pimelodus clarias*) de la zona de Punta Lara (Río de La Plata). **FAO CARPAS, Rio Janeiro**, p. 7, 1968.

BASILE, M.; GODINHO, H.; FENERICH, N.; BRANLEY, J. Influencia de factores abióticos sobre a maturacao dos ovarios de *Pimelodus maculatus* Lac. 1803. **Bol. Inst. Pesca (Sao Paulo)**, v. 4, n. 1, p. 1-28, 1975.

BRESSAN, P. M.; KIERULFF, M. C. M. e SUGIEDA, A. M. Fauna ameaçada de extinção no Estado de São Paulo. **São Paulo: Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente**, 2009.

BROWN-PETERSON, N. J., WYANSKI, D. M., SABORIDO-REY, F., MACEWICZ, B. J., & LOWERRE-BARBIERI, S. K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries**, 3(1), 52-70. 2011

CAL, R.; VIDAL, S.; GÓMEZ, C.; ÁLVAREZ-BLÁZQUEZ, B.; MARTÍNEZ, P.; PIFERRER, F. Growth and gonadal development in diploid and triploid turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 251, n. 1, p. 99-108, 2006. ISSN 0044-8486.

CALLISTO, M.; VONO, V.; BARBOSA, F. A.; SANTEIRO, S. M. Chironomidae as a food resource for *Leporinus amblyrhynchus* (Teleostei: Characiformes) and *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Siluriformes) in a Brazilian reservoir. **Lundiana**, v. 3, n. 1, p. 67-73, 2002.

DE RESENDE, E. Trophic structure of fish assemblages in the lower Miranda river, Pantanal, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista brasileira de Biologia**, v. 60, n. 3, p. 389-403, 2000. ISSN 0034-7108.

DE SIQUEIRA-SILVA, D. H.; DOS SANTOS SILVA, A. P.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The effects of temperature and busulfan (Myleran) on the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) spermatogenesis. **Theriogenology**, v. 84, n. 6, p. 1033-1042, 2015. ISSN 0093-691X.

DO NASCIMENTO, N. F.; DE SIQUEIRA-SILVA, D. H.; PEREIRA-SANTOS, M.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J. A.; NAKAGHI, L. S. O.; YASUI, G. S. Stereological analysis of gonads from diploid and triploid fish yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski) in laboratory conditions. **Zygote**, v. 25, n. 4, p. 537-544, 2017. ISSN 0967-1994.

DOS SANTOS, M. P., YASUI, G. S., XAVIER, P. L. P., DE MACEDO ADAMOV, N. S., DO NASCIMENTO, N. F., FUJIMOTO, T., ... & NAKAGHI, L. S. O. Morphology of gametes, post-fertilization events and the effect of temperature on the embryonic development of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). **Zygote**, 24(6), 795-807. 2016.

DUNHAM, R. **Aquaculture and Fisheries Biotechnology: genetic approaches**. CABI. ISBN 0-85199-596-9. 2004

FEINDEL, N. J.; BENFEY, T. J. e TRIPPEL, E. A. Competitive spawning success and fertility of triploid male Atlantic cod *Gadus morhua*. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 1, n. 1, p. 47-55, 2010. ISSN 1869-215X.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. e CARVALHO, E. Ploidy evaluation in the pacu fish, *Piaractus mesopotamicus* (Pisces, Characiformes): techniques and comments. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 54, p. 31-37, 1994.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. e DE ALMEIDA-TOLEDO, L. F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. **Experientia**, v. 49, n. 9, p. 810-813, 1993. ISSN 0014-4754.

FRIARS, G. W.; MCMILLAN, I.; QUINTON, V. M.; O'FLYNN, F. M.; MCGEACHY, S. A.; BENFEY, T. J. Family differences in relative growth of diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v. 192, n. 1, p. 23-29, 2001. ISSN 0044-8486.

GOUDIE, C. A.; SIMCO, B. A.; DAVIS, K. B.; LIU, Q. Production of gynogenetic and polyploid catfish by pressure-induced chromosome set manipulation. **Aquaculture**, v. 133, n. 3-4, p. 185-198, 1995. ISSN 0044-8486.

HAHN, N. S. e FUGI, R. Alimentação de peixes em reservatórios brasileiros: alterações e conseqüências nos estágios iniciais do repesamento. **Oecologia Australis**, v. 11, n. 4, p. 469-480, 2009. ISSN 2177-6199.

HELFMAN, G.; COLLETTE, B. B.; FACEY, D. E.; BOWEN, B. W. **The diversity of fishes: biology, evolution, and ecology**. John Wiley & Sons, 2009. ISBN 1444311905.

HUERGO, G. M. e ZANIBONI-FILHO, E. Triploidy induction in Jundiá, *Rhamdia quelen*, through hydrostatic pressure shock. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 18, n. 4, p. 45-57, 2006. ISSN 1045-4438.

HULAK, M.; KASPAR, V.; PSENICKA, M.; GELA, D.; LI, P.; LINHART, O. Does triploidization produce functional sterility of triploid males of tench *Tinca tinca* (L.)? **Reviews in fish biology and fisheries**, v. 20, n. 3, p. 307-315, 2010. ISSN 0960-3166.

ICMBIO. **Sumário executivo do Livro Vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção.** "ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade Disponível em: [http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoesdiversas/dcom\\_sumario\\_executivo\\_livro\\_vermelho\\_da\\_fauna\\_brasileira\\_ameacada\\_de\\_extincao\\_2016.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoesdiversas/dcom_sumario_executivo_livro_vermelho_da_fauna_brasileira_ameacada_de_extincao_2016.pdf) p. 2016.

KIZAK, V.; GÜNER, Y.; TÜREL, M.; KAYIM, M. Comparison of growth performance, gonadal structure and erythrocyte size in triploid and diploid brown trout (*Salmo trutta fario* L, 1758). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 13, n. 4, 2013. ISSN 1303-2712.

KOEDPRANG, W. e NA-NAKORN, U. Preliminary study on performance of triploid Thai silver barb, *Puntius gonionotus*. **Aquaculture**, v. 190, n. 3-4, p. 211-221, 2000. ISSN 0044-8486.

KRISFALUSI, M., & CLOUD, J. G. Gonadal sex reversal in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, 284(4), 466-472. 1999.

---

LOBON-CERVIA, J. e BENNEMANN, S. Temporal trophic shifts and feeding diversity in two sympatric, neotropical, omnivorous fishes: *Astyanax bimaculatus* and *Pimelodus maculatus* in Rio Tibagi (Paraná, Southern Brazil). **Archiv für Hydrobiologie**, v. 149, n. 2, p. 285-306, 2000. ISSN 0003-9136.

MEES, G. F. **The Auchenipteridae and Pimelodidae of Suriname (Pisces, Nematognathi)**. Brill, 1974.

NELSON, J. *Fishes of the World*. 2006. **Hoboken: John Wiley & Sons**, 2006.

NÓBREGA, R. H.; GREEBE, C. D.; VAN DE KANT, H.; BOGERD, J.; DE FRANÇA, L. R.; SCHULZ, R. W. Spermatogonial stem cell niche and spermatogonial stem cell transplantation in zebrafish. **PloS one**, v. 5, n. 9, p. e12808, 2010. ISSN 1932-6203.

OKUTSU, T.; SHIKINA, S.; KANNO, M.; TAKEUCHI, Y.; YOSHIZAKI, G. Production of trout offspring from triploid salmon parents. **Science**, v. 317, n. 5844, p. 1517-1517, 2007. ISSN 0036-8075.

PERUZZI, S.; RUDOLFSSEN, G.; PRIMICERIO, R.; FRANTZEN, M.; KAURIĆ, G. Milt characteristics of diploid and triploid Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Aquaculture Research**, v. 40, n. 10, p. 1160-1169, 2009. ISSN 1365-2109.

PIFERRER, F.; BEAUMONT, A.; FALGUIÈRE, J.-C.; FLAJŠHANS, M.; HAFFRAY, P.; COLOMBO, L. Polyploid fish and shellfish: production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. **Aquaculture**, v. 293, n. 3, p. 125-156, 2009. ISSN 0044-8486.

PURDOM, C. Atypical modes of reproduction in fish. **Oxford reviews of reproductive biology**, v. 6, p. 303, 1984. ISSN 0260-0854.

RAMOS, I. P. Aspectos da biologia populacional de *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Siluformes), sob a influência de sistemas de piscicultura em tanques-rede. 2009.

REIS, R.; ALBERT, J.; DI DARIO, F.; MINCARONE, M.; PETRY, P.; ROCHA, L. Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12-47, 2016. ISSN 1095-8649.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O. e FERRARIS, C. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Edipucrs, 2003. ISBN 8574303615.

RIBEIRO, F. R.; LUCENA, C. A. e LUCINDA, P. H. Three new Pimelodus species (Siluriformes: Pimelodidae) from the rio Tocantins drainage, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 3, p. 455-464, 2008. ISSN 1679-6225.

SACOBIE, C. F.; GLEBE, B. D.; BARBEAU, M. A.; LALL, S. P.; BENFEY, T. J. Effect of strain and ploidy on growth performance of Atlantic salmon, *Salmo salar*, following seawater transfer. **Aquaculture**, v. 334, p. 58-64, 2012. ISSN 0044-8486.

SILVA, E. L. D.; FUGI, R. e SEGATTI HAHN, N. Variações temporais e ontogenéticas na dieta de um peixe onívoro em ambiente impactado (reservatório) e em ambiente natural (baía) da bacia do rio Cuiabá. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 4, 2007. ISSN 1679-9283.

TABATA, Y. A.; RIGOLINO, M. G. e TSUKAMOTO, R. Y. Produção de lotes monosexos femininos triplóides de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (PISCES, SALMONIDAE). III–Crescimento até idade de primeira maturação sexual. **Bol Inst Pesca**, v. 25, p. 67-76, 1999.

TAKEUCHI, Y.; YATABE, T.; YOSHIKAWA, H.; INO, Y.; KABEYA, N.; YAZAWA, R.; YOSHIZAKI, G. Production of functionally sterile triploid Nibe croaker *Nibea mitsukurii* induced by cold-shock treatment with special emphasis on triploid aptitude as surrogate broodstock. **Aquaculture**, 2016. ISSN 0044-8486.

THORGAARD, G. H. e GALL, G. A. Adult triploids in a rainbow trout family. **Genetics**, v. 93, n. 4, p. 961-973, 1979. ISSN 0016-6731.

XAVIER, P. L. P.; PEREIRA-SANTOS, M.; FUJIMOTO, T.; SHIMODA, E.; SILVA, L. A.; SENHORINI, J. A.; SANTOS, S. A.; YASUI, G. S. A flow cytometry protocol to estimate DNA content in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. **Frontiers in Genetics**, v. 8, p. 131, 2017. ISSN 1664-8021.

YASUI, G.; FUJIMOTO, T.; SAKAO, S.; YAMAHA, E.; ARAI, K. Production of loach (*Rhinichthys cataractae*) germ-line chimera using transplantation of primordial germ cells isolated from cryopreserved blastomeres. **Journal of animal science**, v. 89, n. 8, p. 2380-2388, 2011. ISSN 1525-3163.

YOSHIKAWA, H.; TAKEUCHI, Y.; INO, Y.; WANG, J.; IWATA, G.; KABEYA, N.; YAZAWA, R.; YOSHIZAKI, G. Efficient production of donor-derived gametes from triploid recipients following intra-peritoneal germ cell transplantation into a marine teleost, Nibe croaker (*Nibea mitsukurii*). **Aquaculture**, v. 478, p. 35-47, 2017. ISSN 0044-8486.

YOSHIZAKI, G.; ICHIKAWA, M.; HAYASHI, M.; IWASAKI, Y.; MIWA, M.; SHIKINA, S.; OKUTSU, T. Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. **Development**, v. 137, n. 8, p. 1227-1230, 2010. ISSN 0950-1991.

YOSHIZAKI, G.; OKUTSU, T.; ICHIKAWA, M.; HAYASHI, M.; TAKEUCHI, Y. Sexual plasticity of rainbow trout germ cells. **Anim Reprod**, v. 7, n. 3, p. 187-96, 2010.