

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/11/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP (CAUNESP)

São Paulo State University - Aquaculture Center



TESE DE DOUTORADO

TÉCNICAS DE MANIPULAÇÃO CROMOSSÔMICA NO LAMBARI (*Astyanax altiparanae*)

Nivaldo Ferreira do Nascimento
Biólogo

Jaboticabal
São Paulo, Brasil
2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP (CAUNESP)

São Paulo State University - Aquaculture Center



TESE DE DOUTORADO

TÉCNICAS DE MANIPULAÇÃO CROMOSSÔMICA NO LAMBARI (*Astyanax altiparanae*)

Nivaldo Ferreira do Nascimento

Orientadora: Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi
Coorientador: Dr. George Shigueki Yasui

Tese de Doutorado apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP, campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biologia de Organismos Aquáticos e Aquicultura.

Jaboticabal
São Paulo, Brasil
2018

N244t Nascimento, Nivaldo Ferreira do
Técnicas de manipulação cromossômica no lambari *Astyanax altiparanae* / Nivaldo Ferreira do Nascimento. – – Jaboticabal, 2018
viii, 86 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2018
Orientadora: Laura Satiko Okada Nakaghi
Coorientador: George Shigueki Yasui
Banca examinadora: José Augusto Senhorini, Paulo Sérgio Monzani, Renata Guimarães Moreira Whitton, Renato Massaki Honji

Bibliografia

1. Aquicultura. 2. Biotecnologia. 3. Poliploidia. 4. Tetraploidia. 5. Ginogênese. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3:636.082



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Técnicas de manipulação cromossômica no lambari (*Astyanax altiparanae*)

AUTOR: NIVALDO FERREIRA DO NASCIMENTO

ORIENTADORA: LAURA SATIKO OKADA NAKAGHI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela
Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LAURA SATIKO OKADA NAKAGHI
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. RENATA GUIMARÃES MOREIRA WHITTON
Instituto de Biociências / USP, São Paulo - SP

Prof. Dr. JOSÉ AUGUSTO SENHORINI
Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais / CEPTA/ ICMBIO

Prof. Dr. PAULO SERGIO MONZANI
Departamento de Medicina Veterinária / Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP

Pós-Doutorado RENATO MASSAKI HONJI
Departamento de Fisiologia Geral / UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Jaboticabal, 01 de novembro de 2018

“Ninguém pode ser sábio de estômago vazio”

George Eliot

“Aquele que ousa perder uma hora de seu tempo não sabe o valor da vida.”

Charles Darwin

“Olho por olho, e o mundo acabará cego”

Mahatma Gandhi

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes. ”

Issac Newton

“A paz é a única forma de nos sentirmos realmente humanos. ”

Albert Einsten

“Façamos da interrupção um caminho novo. Da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro! ”

Fernando Sabino

“Quem estará nas trincheiras ao teu lado?

- E isso importa?

- Mais do que a própria guerra.”

Ernest Hemingway

Agradecimentos

Agradeço a minha família, em especial meus pais, pelo esforço e dedicação dispensados para minha formação, e aos meus irmãos por sempre me apoiarem e acreditarem no meu sonho!! Muito obrigado!!

Ao meu grande amor, Cleonice Cristina Hilbig, por todos os momentos que passamos juntos, companheirismo, amizade e por juntos, consumirmos o nosso amor através do recente nascimento de nossa filha Helena. Amo muito vocês!

A minha orientadora, “segunda mãe” e amiga, Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi pela oportunidade, amizade, ensinamentos compreensão e confiança a mim dispensadas desde a graduação. Serei sempre grato.

Ao meu coorientador e amigo Dr. George Shigueki Yasui, pela amizade e principalmente, humildade ao transmitir seus ensinamentos, sendo minha inspiração na carreira científica.

Ao Dr. Paulo Sérgio Monzani pela amizade e valiosa ajuda nas análises de biologia molecular.

Ao amigo Dr. José Augusto Senhorini, grande mestre da reprodução de peixes e a quem devo grande parte dos meus conhecimentos nesta área.

Ao Prof. Dr. Takafumi Fujimoto da Universidade de Hokkaido/Japão pela parceria e valiosas contribuições no desenvolvimento e correção dos capítulos desta Tese.

Ao Dr. Diogo Teruo Hashimoto pela participação na minha banca de qualificação e valiosas sugestões

A Dra. Francine Faustino pela participação na minha banca de qualificação e valiosas sugestões.

Aos membros da minha banca de Doutorado: Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira Whitton, Dr. Renato Massaki Honji, Dr. Paulo Sérgio Monzani e Dr. José Augusto Senhorini. Muito obrigado pelas valiosas sugestões!

Aos companheiros atuais e os que já passaram pelo Laboratório de Biotecnologia de peixes do CEPTA: Talita Maria Lázaro, Matheus Pereira dos Santos, Lúcia Soarez Lopez, Lucas Henrique Piva, Mariana Machado Evangelista, Natália Alcantara Rocha, Nycolas Levy Pereira, Dilberto Ribeiro Arashiro, Rafaela Bertolini, Geovanna Coelho, Gustavo Shiguemoto, Natália Greice Matheus, Diógenes Siqueira-Silva, Bruna Machado, Lauriene Munhoz, Paulo Sérgio Monzani, Daiane Niedizieslki, Gabriel Marra, Bárbara Cristina do Nascimento, Milena Chaguri, Hatos Siqueira, Paulo Andrade André dos Santos, Matheus Tonetti, Letícia Dragone, Leonardo Luiz Calado e Regiane Cristina da Silva.

Aos companheiros do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal: Fernanda Nogueira Valentin, Francine Faustino, Lilian Cristina Makino, Sr. Orandi Matheus, Edmar, Maria do Carmo Faria Paes, Breno Manzini, Nariane Fernandes, Marcelo Henrique Correa Assunção, Erico Luis Hoshiba Takahashi, Matheus Pereira dos Santos, Sheryll Corchuelo Chavarro.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) pela oportunidade de ingresso na pós-graduação.

Aos amigos atuais e antigos de república, Matheus Rovere de Moraes (Hector Bonilha), Samuel Carvalho e Mandela.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro através da bolsa de doutorado (PROC. 2016/12383-0).

Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CEPTA/ICMBio), Pirassununga-SP, especialmente na pessoa do Dr. José Augusto Senhorini e funcionários, por ter fornecido o material biológico, infraestrutura e até mesmo moradia para a realização deste trabalho.

A Universidade de São Paulo (USP), câmpus de Pirassununga e Ribeirão Preto pela disponibilização de equipamentos que foram de extrema importância para a conclusão deste trabalho.

As pessoas que de alguma forma me ajudaram na realização deste trabalho, que por ventura não foram citadas.

Sumário

Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	11
Apoio Financeiro	12
Resumo geral	13
General Abstract	14
1. Introdução geral	15
2. Poliploidia e produção de peixes triploides	16
3. Produção de peixes tetraploides	17
4. Produção de peixes ginogenéticos	18
5. Espécie de estudo	20
6. Objetivos	21
7. Estruturação da tese	22
8. Referências	23
Capítulo I: High percentages of tetraploids in the yellowtail Tetra <i>Astyanax altiparanae</i> induced by heat-shock: the first case of tetraploids in Neotropical characins.....	31
Abstract	31
1. Introduction.....	32
2. Material and Methods	34
3. Results.....	37
4. Discussion	42
5. References.....	45
Capítulo II: The first case of induced gynogenesis in Neotropical fishes using the yellowtail tetra (<i>Astyanax altiparanae</i>) as a model organism.....	55
Abstract	55
1. Introduction.....	56
2. Materials and methods	58
3. Results.....	64
4. Discussion	75
5. References.....	79
Considerações finais	86

Lista de Figuras

Capítulo I

Figure 1: Blood smears and metaphase chromosomes of diploid (left) and tetraploid (right) individuals of yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. Erythrocytes nuclei from diploids (A) presented decreased size in comparison with tetraploids (B). The chromosome numbers are 50 (C) and 100 (D) in diploid and tetraploid, respectively. Scale: 10 μ m. 40

Capítulo II

Figure 1: External morphology of *Astyanax altiparanae* larvae. Normal diploid larva from the diploid control group (a); haploid abnormal larva resulted from oocyte fertilized with irradiated spermatozoa (b). Scale: 500 μ m..... 68

Figure 2: Flow cytometry histogram showing relative DNA content of the haploid group (a), diploid control group (b), presumptive diploid gynogenetic (c) and triploid control individuals (d). 1: haploid group; 2: spermatozoa (haploid); 3: diploid control; 4: gynogenetic diploid and 5: triploid control. 71

Figure 3: Methaphase chromosomes of diploid control (a) and gynogenetic diploid (b) individuals of yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* showing the presence of 50 chromosomes. Scale: 10 μ m 73

Figure 4: Representative microsatellite electrophotogram of gynogenetic *Astyanax altiparanae* induced by UV-irradiated sperm and heat shock. M: DNA marker; ♀: maternal; ♂: paternal. 1-9: progenies of gynogenesis. Samples prevenient from repetition 4 (section 2.4) using the primer Asty 16 (ZAGANINI et al., 2012)..... 74

Lista de Tabelas

Capítulo I

Table 1: Development of yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*, after heat shock treatment for induction of tetraploid fish..... 39

Table 2: Nuclear measurements of erythrocytes from diploid and tetraploid *Astyanax altiparanae*.
..... 41

Capítulo II

Table 1: Development of yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* after sperm uv-irradiation with 0 (control), 40, 80 and 120 mJ/cm⁻²..... 67

Table 2: Effects of UV-irradiation on sperm parameters in *Astyanax altiparanae* 69

Table 3: Development of yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* after heat- shock treatment for gynogenesis induction..... 70

Table 4: Sex ratios of diploid control and gynogenetic diploid of *Astyanax altiparanae* 72

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo: nº 2016/12383-0.

Resumo geral

O objetivo deste estudo foi aplicar técnicas de manipulação cromossômica para obtenção de indivíduos tetraploides e ginogenéticos de lambari (*Astyanax altiparanae*). Para tetraploidização, foram aplicados diferentes choques de temperatura (40°C por 2 minutos) com 16, 18, 20, 22, 24 e 26 minutos pós-fertilização (mpf) para inibição da clivagem. A análise em citometria de fluxo mostrou que o choque aplicado com 26 mpf garantiu a maior porcentagem de tetraploides (94,55%), sendo os resultados também confirmados por esfregaço sanguíneo e contagem dos cromossomos. Para indução de ginogenéticos foi primeiramente avaliada diferentes doses de irradiação UV (40, 80 e 120 mj/cm²) para inativação dos espermatozoides, sendo verificado que a dose de 80 mj/cm² foi suficiente para assegurar a ativação dos oócitos e obtenção de larvas 100% haploides. Posteriormente, para restaurar a diploidia foi aplicado choque de temperatura (40°C por 2 minutos) para evitar a liberação do segundo corpúsculo polar. A análise molecular confirmou que os peixes ginogenéticos apresentam herança exclusivamente materna e apresentam número de cromossomos idêntico ao grupo controle. Em relação a razão sexual, a grande quantidade de fêmeas obtidas sugere que o sistema genético de determinação sexual seja homogamético para fêmeas (XX; XY). Este foi o primeiro protocolo de ginogênese em uma espécie da região Neotropical e primeiro de tetraploidização em uma espécie da família Characidae. Portanto, os resultados são inovadores e poderão ser aplicados em futuros estudos de manipulação cromossômica em espécies nativas.

Palavras-chave: Aquicultura, biotecnologia, poliploidia, tetraploidia, ginogênese.

General Abstract

The aim of this study was to apply techniques of chromosome set manipulation to obtain gynogenetic and tetraploid individuals in lambari (*Astyanax altiparanae*). For tetraploidization, it was applied different temperature shocks (40°C for 2 min) at 16, 18, 20, 22, 24 and 26 minutes post-fertilization (mpf) to inhibit the cleavage. The flow cytometric analysis showed that heat shock applied at 26 mpf enabled the highest percentage of tetraploids (94.55%), which were also confirmed by nuclear diameter of erythrocytes and chromosome counting. For gynogenetic induction, first it was evaluated the best UV-dosage for inactivation of sperm DNA (40, 80 and 120 mj/cm²) and it was verified that the dosage of 80 mj/cm² ensure oocyte activation and 100% haploid larvae. Afterwards, to restore the diploidy it was applied a temperature shock (40° for 2 min) to avoid the extrusion of the 2nd polar body. The molecular biology confirmed that that gynogenetic fish present exclusive maternal inheritance e also showed the same number of chromosomes of the control group. Sex ratio showed increased amount of females, which suggest that the genetic system of sexual determination are homogametic for females (XX; XY). This is the first protocol of gynogenesis in a species of the Neotropical region and the first tetraploidization in a species of the family Characidae. Therefore, the results are innovative and could be applied in future studies of chromosome set manipulation in native species.

Keywords: Aquaculture, biotechnology, polyploidy, tetraploidy, gynogenesis.

1. Introdução geral

Nas últimas décadas, a aquicultura mundial vem apresentando um crescimento constante. No Brasil, este fato foi observado pelo recente relatório do IBGE (2016). Em 2015, o valor de produção foi de R\$ 4,39 bilhões, com a maior parte oriunda da criação peixes (69,9%), seguida pela criação de camarões (20,6%). No que se refere aos peixes, a produção alcançou 483,24 mil toneladas, um aumento de 1,5% em relação ao ano anterior.

No entanto, com a queda da pesca extrativista e a crescente demanda por alimentos, a produção de organismos aquáticos provenientes da aquicultura deverá aumentar ainda mais. Assim, a aquicultura terá que dobrar sua produção nas próximas décadas, o que deverá ser feito utilizando menos espaço e água, principalmente devido às pressões referentes à urbanização, aumento populacional e mudanças climáticas. Neste aspecto, o emprego da Biotecnologia aplicada é um passo imprescindível para alcançar esses objetivos e suprir a crescente demanda (GUI, 2015). Neste cenário, a biotecnologia também contribui para uma aquicultura mais sustentável (GUI, 2015). Primeiramente, pode-se aumentar a produtividade e gerar produtos de melhor qualidade, diminuindo assim a necessidade por mais espaço e o consumo de água (FLETCHER et al., 2005; RATHER et al., 2011). Também é possível produzir organismos mais resistentes a doenças, permitindo um menor uso de medicamentos e produtos químicos que são nocivos à saúde humana e ao ambiente (ELASWAD e DUNHAM, 2017). Além disso, é possível a criação de peixes estéreis (NASCIMENTO et al., 2017), os quais, caso escapem para o meio ambiente, gerarão menos impacto ambiental (PIFERRER et al., 2009).

Estes são apenas alguns exemplos de como a biotecnologia pode ajudar no desenvolvimento da aquicultura de forma consistente e sustentável. Ao longo das últimas décadas, diversas tecnologias foram desenvolvidas e dentre estas, tem ganhado destaque a manipulação

cromossômica, principalmente a poliploidia através da produção de peixes triploides (ARAI, 2001).

8. Referências

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.; YASUI, G. S. Triploid Induction in the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*, Using Temperature Shock: Tools for Conservation and Aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, p. n/a-n/a, 2016. ISSN 1749-7345. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/jwas.12390> >.

ARAI, K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. **Aquaculture**, v. 197, n. 1-4, p. 205-228, Jun 1 2001. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000168775000010 >.

BERTOLINI, R. M.; SENHORINI, J. A.; NASCIMENTO, N. F. D.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L. S. O.; PERES, W. A. M.; SILVA, R. C. D.; YASUI, G. S. First feeding of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*: An initial stage for application in laboratory studies. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 1, p. 68-74, 2018. ISSN 1365-2109.

BORIN, L. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. e OLIVEIRA, C. A natural triploid in *Trichomycterus davisi* (Siluriformes, Trichomycteridae): mitotic and meiotic characterization by chromosome banding and synaptonemal complex analyses. **Genetica**, v. 115, n. 3, p. 253-258, Aug 2002. ISSN 0016-6707. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000178541200002 >.

DEVLIN, R. H. e NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, v. 208, n. 3-4, p. 191-364, Jun 21 2002. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000176374700001 >.

DOS SANTOS, M. P.; YASUI, G. S.; XAVIER, P. L. P.; DE MACEDO ADAMOV, N. S.; DO NASCIMENTO, N. F.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J. A.; 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**, v. FirstView, p. 1-13, 2016. ISSN 1469-8730. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1017/S0967199416000101 >. Acesso em: 2016.

DUNHAM, R. A. **Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approaches**. Oxford: GABI Publishing, 2004.

ELASWAD, A. e DUNHAM, R. Disease reduction in aquaculture with genetic and genomic technology: current and future approaches. **Reviews in Aquaculture**, 2017. ISSN 1753-5123.

FELIP, A.; CARRILLO, M. e ZANUY, S. Older triploid fish retain impaired reproductive endocrinology in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Journal of Fish Biology**, v. 75, n. 10, p. 2657-2669, Dec 2009. ISSN 0022-1112. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000273899600015 >.

FLETCHER, G.; SHEARS, M.; YASKOWIAK, E.; KING, M.; GODDARD, S. Gene transfer: potential to enhance the genome of Atlantic salmon for aquaculture. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 44, n. 11, p. 1095-1100, 2005. ISSN 1446-5574.

FOPP-BAYAT, D. Meiotic gynogenesis revealed not homogametic female sex determination system in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). **Aquaculture**, v. 305, n. 1, p. 174-177, 2010. ISSN 0044-8486.

FUJIMOTO, T.; YASUI, G. S.; HAYAKAWA, M.; SAKAO, S.; YAMAHARA, E.; ARAI, K. Reproductive capacity of neo-tetraploid loaches produced using diploid spermatozoa from a natural tetraploid male. **Aquaculture**, v. 308, p. S133-S139, 2010. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000283807700022 >.

GUI, J.-F. **Fish biology and biotechnology is the source for sustainable aquaculture**: Springer 2015.

KOMEN, H. e THORGAARD, G. H. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: A review. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 150-173, Sep 14 2007. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000249143600016 >.

LI, Y.-J.; YU, Z.; ZHANG, M.-Z.; QIAN, C.; ABE, S.; ARAI, K. Induction of viable gynogenetic progeny using eggs and UV-irradiated sperm from the Chinese tetraploid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. **Aquaculture International**, v. 21, n. 4, p. 759-768, 2013. ISSN 0967-6120.

LIMA, F. **Genera incertae sedis in Characidae. Check list of the freshwater fishes of South and Central America**, p. 106-169, 2003.

LUTZ, C. G. **Practical Genetics for Aquaculture**. London: Blackwell, 2003.

MALISON, J. A.; PROCARIONE, L. S.; HELD, J. A.; KAYES, T. B.; AMUNDSON, C. H. The influence of triploidy and heat and hydrostatic-pressure shocks on the growth and reproductive development of juvenile yellow perch (*Perca-flavescens*). **Aquaculture**, v. 116, n. 2-3, p. 121-133, Oct 1 1993. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993LZ59100003 >.

MENG, Z.; LIU, X.; LIU, B.; HU, P.; JIA, Y.; YANG, Z.; ZHANG, H.; LIU, X.; LEI, J. Induction of mitotic gynogenesis in turbot *Scophthalmus maximus*. **Aquaculture**, v. 451, p. 429-435, 2016. ISSN 0044-8486.

MIRANDE, J. M. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. **Neotropical Ichthyology**, v. 8, n. 3, p. 385-568, 2010. ISSN 1679-6225.

NAM, Y. K. e KIM, D. S. Ploidy status of progeny from the crosses between tetraploid males and diploid females in mud loach (*Misgurnus mizolepis*). **Aquaculture**, v. 236, n. 1-4, p. 575-582, 2004. ISSN 0044-8486.

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.

NASCIMENTO, N. F.; PEREIRA-SANTOS, M.; PIVA, L. H.; MANZINI, B.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J. A.; YASUI, G. S.; NAKAGHI, L. S. O. Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. **Aquaculture**, v. 471, p. 163-171, 2017. ISSN 0044-8486.

OPSTAD, I.; FJELLDAL, P. G.; KARLSEN, Ø.; THORSEN, A.; HANSEN, T. J.; TARANGER, G. L. The effect of triploidization of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on survival, growth and deformities during early life stages. **Aquaculture**, v. 388–391, n. 0, p. 54-59, 4/15/ 2013. ISSN 0044-8486. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848613000197> >.

OTTERÅ, H.; THORSEN, A.; PERUZZI, S.; DAHLE, G.; HANSEN, T.; KARLSEN, Ø. Induction of meiotic gynogenesis in Atlantic cod, *Gadus morhua* (L.). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 27, n. 6, p. 1298-1302, 2011. ISSN 1439-0426.

PAN, Z. J.; ZHU, C. K.; WANG, H.; CHANG, G. L.; DING, H. Y.; QIANG, X. G.; YU, X. S. Induction of meiotic gynogenesis in bagrid catfish (*Pseudobagrus ussuriensis*) with homologous sperm and its confirmation for female homogamety. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 11, p. 5659-5665, 2017. ISSN 1355-557X.

PIFERRER, F.; BEAUMONT, A.; FALGUIERE, J.-C.; FLAJSHANS, 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. 3-4, p. 125-156, Aug 16 2009. ISSN 0044-8486. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000268150000001 >.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEDIA, R. B. e FORESTI, F. **Biologia e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. In: BALDISSERTO, B. e GOMES, L. C. (Ed.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, 2005. p.105-120.

RATHER, M.; SHARMA, R.; AKLAKUR, M.; AHMAD, S.; KUMAR, N.; KHAN, M.; RAMYA, V. Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 16, n. 1-5, p. 3, 2011.

SAKAO, S.; FUJIMOTO, T.; KIMURA, S.; YAMAHA, E.; ARAI, K. Drastic mortality in tetraploid induction results from the elevation of ploidy in masu salmon *Oncorhynchus masou*. **Aquaculture**, v. 252, n. 2-4, p. 147-160, 2006. ISSN 0044-8486.

SAMONTE-PADILLA, I. E.; EIZAGUIRRE, C.; SCHARSACK, J. P.; LENZ, T. L.; MILINSKI, M. Induction of diploid gynogenesis in an evolutionary model organism, the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). **Bmc Developmental Biology**, v. 11, Sep 12 2011. ISSN 1471-213X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000295725500001 >.

SHELTON, W. L. e MIMS, S. D. Evidence for female heterogametic sex determination in paddlefish *Polyodon spathula* based on gynogenesis. **Aquaculture**, v. 356–357, p. 116-118, 8/1/2012. ISSN 0044-8486. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848612003419> >.

WEBER, G. M.; HOSTUTTLE, M. A.; SEMMENS, K. J.; BEERS, B. A. Induction and viability of tetraploids in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, v. 72, n. 10, p. 1443-1449, 2015. ISSN 0706-652X.

WHITEHEAD, J. A.; BENFEY, T. J. e MARTIN-ROBICHAUD, D. J. Ovarian development and sex ratio of gynogenetic Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture**, v. 324–325, n. 0, p. 174-181, 1/12/2012. ISSN 0044-8486. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848611008556> >.

YASUI, G. S.; FUJIMOTO, T. e ARAI, K. Restoration of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, from cryopreserved diploid sperm and induced androgenesis. **Aquaculture**, v. 308, Supplement 1, n. 0, p. S140-S144, 2010. ISSN 0044-8486. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848610004746> >.

YASUI, G. S.; SANTOS, M. P.; NAKAGHI, L. S. O.; SENHORINI, J. A.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; FUJIMOTO, T.; SHIMODA, E.; SILVA, L. A. Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal**, p. 1-10, 2015.

YASUI, G. S.; SENHORINI, J. A.; SHIMODA, E.; PEREIRA-SANTOS, M.; NAKAGHI, L. S. O.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; SILVA, L. A. Improvement of gamete quality and its short-term storage: an approach for biotechnology in laboratory fish. **Animal**, v. 9, n. 03, p. 464-470, 2015. ISSN 1751-732X.

YOSHIKAWA, H.; MORISHIMA, K.; FUJIMOTO, T.; ARIAS-RODRIGUEZ, L.; YAMAHA, E.; ARAI, K. Ploidy manipulation using diploid sperm in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus* : a review. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, n. 4, p. 410-414, 2008/08 2008. ISSN 0175-8659. Disponível em: < <http://ci.nii.ac.jp/naid/120001442845/en/> >.

ZHANG, X. e ONOZATO, H. Hydrostatic pressure treatment during first mitosis does not suppress the first cleavage but the second one. **Aquaculture**, v. 240, p. 101-103, 2004.

ZHAO, Y.; SAITO, T.; PŠENIČKA, M.; FUJIMOTO, T.; ARAI, K. Comparison of spermatozoa parameters, fine structures, and energy-related factors among tetraploid, hyper-tetraploid, and hyper-triploid loaches (*Misgurnus anguillicaudatus*). **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 321, n. 4, p. 198-206, 2014. ISSN 1932-5231. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/jez.1851> >.

ZOU, Y.; WEI, Q. e PAN, G. Induction of meiotic gynogenesis in paddlefish (*Polyodon spathula*) and its confirmation using microsatellite markers. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 27, n. 2, p. 496-500, 2011. ISSN 1439-0426.