

CAPÍTULO 3

ASPECTOS DA POLIPLOIDIA COMO FERRAMENTA PARA A PISCICULTURA

Data de submissão: 08/10/2024

Data de aceite: 01/11/2024

Gilmar Amaro Pereira

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/0224665947793484>

Rafael Silva Marchão

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina - PE
<http://lattes.cnpq.br/2846114784139547>

Aline da Silva Rocha

Universidade Federal da Bahia
(UFBA)
Salvador - BA
<https://lattes.cnpq.br/5893766149453264>

Guilherme Araújo Santana

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina - PE
<https://orcid.org/0009-0004-9034-1833>

João Paulo Honorato da Silva

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/7643920205125040>

Mateus Goncalves de Freitas

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/4263180928144040>

Rafael Carvalho da Silva

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/7430442264837095>

Vanessa Ferreira Batista

Universidade Federal da Bahia
(UFBA)
Salvador – BA
<https://lattes.cnpq.br/9422418524242720>

Maylanne Sousa de Lima

Universidade Federal do Maranhão
Chapadinha – MA
(UFMA)
<https://lattes.cnpq.br/6517309368351180>

José Aldemy de Oliveira Silva

Universidade Federal do Vale do São
Francisco
(UNIVASF)
Petrolina - PE
<http://lattes.cnpq.br/2558599422467752>

David Ramos da Rocha

Universidade Federal do Vale do São Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/5911366166093310>

José Fernando Bibiano Melo

Universidade Federal do Vale do São Francisco
(UNIVASF)
Petrolina – PE
<http://lattes.cnpq.br/3763200072246495>

RESUMO: A aquicultura no Brasil tem potencial devido às boas condições naturais e pelo clima favorável. A demanda global por proteínas derivadas de pescado tem aumentado constantemente ao longo das últimas décadas, e deverá continuar aumentando devido ao crescimento da população, urbanização e demanda por alimentos saudáveis. Portanto, é notável a necessidade de implantar programas de melhoramento genético para estas espécies, tanto por meio da seleção clássica quanto da aplicação da manipulação cromossômica. A poliploidia começou a ser estudada por geneticistas no período de 1910 a 1930. Indivíduos poliploides são organismos com a adição de um ou mais conjuntos de cromossomos, o objetivo é inibir os mecanismos que levariam à expulsão do segundo corpúsculo polar na metáfase II da meiose, retendo, no ovo dois conjuntos cromossômicos maternos, resultando em um zigoto triploide. Várias técnicas de indução à poliploidia de organismos aquáticos vêm sendo aplicadas, tais como: a técnica de indução que usa choque térmico, pressão hidrostática, tratamentos químicos, choques elétricos, ou a criação de diploides com reprodutores tetraploides. Várias técnicas de identificação podem avaliar a poliploidia de um indivíduo como a estimativa do tamanho de hemácias medir o volume nuclear ou o diâmetro dos eritrócitos analisando marcadores genéticos como alozymes e microssatélites e análise citogenética. Assim, são necessários estudos que viabilizem e ajustem os protocolos, como por exemplo, o uso de choque elétrico ou químico para que possam obter mais eficiência na técnica de poliploidia nos peixes.

PALAVRAS-CHAVE: Reprodução; gametas; divisão celular; cromossomo

ASPECTS OF POLYPLOIDY AS A TOOL FOR FISH FARMING

ABSTRACT: Aquaculture in Brazil has potential due to good natural conditions and a favorable climate. Global demand for fish-derived proteins has steadily increased over the past few decades, and is expected to continue to increase due to population growth, urbanization and demand for healthy foods. Therefore, the need to implement genetic improvement programs for these species is notable, both through classical selection and the application of chromosomal manipulation. Polyploidy began to be studied by geneticists in the period from 1910 to 1930. Polyploid individuals are organisms with the addition of one or more sets of chromosomes, the objective is to inhibit the mechanisms that would lead to the expulsion of the second polar body in metaphase II of meiosis, retaining two maternal chromosome sets in the egg, resulting

in a triploid zygote. Various techniques for inducing polyploidy in aquatic organisms have been applied, such as: the induction technique that uses thermal shock, hydrostatic pressure, chemical treatments, electric shocks, or the creation of diploids with tetraploid reproductives. Various identification techniques can assess an individual's polyploidy such as estimating the size of red blood cells, measuring nuclear volume or erythrocyte diameter by analyzing genetic markers such as allozymes and microsatellites and cytogenetic analysis. Therefore, studies are needed to enable and adjust protocols, such as the use of electric or chemical shock, so that they can obtain more efficiency in the polyploidy technique in fish.

KEYWORDS: Reproduction; gametes; cell division; chromosome

1 | CENÁRIO DA AQUICULTURA

A demanda global por proteínas derivadas de pescado tem aumentado constantemente ao longo das últimas décadas, e deverá continuar aumentando devido ao crescimento da população, urbanização e demanda por alimentos saudáveis. Neste contexto, a aquicultura é a alternativa mais viável para aumentar a oferta de pescado (FAO, 2016; FAO, 2018).

Essa crescente demanda fez com que em 2016 houvesse aumento expressivo na produção de peixes com 54,1 milhões de toneladas, seguido de algas, com 30,1 milhões de toneladas, moluscos, com 17,1 milhões de toneladas e crustáceos, com 7,9 milhões de toneladas produzidas. A previsão é de que o consumo mundial “per capita” de pescado alcance 21,5 kg em 2030, valor superior aos 20,3 kg registrados em 2016 (FAO, 2018).

A aquicultura no Brasil tem potencial devido às boas condições naturais e pelo clima favorável. Este potencial está relacionado ao espaço físico em abundância com a sua extensão costeira de mais de oito mil quilômetros, zona econômica exclusiva de 3,5 milhões de km² e a dimensão territorial, que dispõe de, aproximadamente, 13% da água doce renovável do planeta, abrigando 2.300 espécies de peixes dulcícolas e 1.298 marinhas (KUBITZA, 2015).

A piscicultura brasileira produziu no total 485,2 mil toneladas em 2017 (redução de 2,6% em relação ao ano anterior), com aumento na produção, nas regiões Nordeste, Sul, Centro-Oeste e com grande queda na Região Norte, anteriormente líder do ranking. O Paraná assumiu a liderança entre os estados produtores, após um aumento considerável na despesca, seguido por São Paulo, Rondônia e Mato Grosso (IBGE, 2018).

Cultivo de peixes redondos acompanha a tendência mundial de produção de pescados, apresentando crescimento expressivo no Brasil nos últimos anos, igualando-se à produção de tilápias em 2013/2014 (IBGE, 2018). A segunda espécie mais criada no Brasil foi o tambaqui (*Colossoma macropomum*), com 27% do total de peixes em 2016, atrás apenas da espécie exótica tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2 | MANIPULAÇÃO GÊNICA

Na manipulação cromossômica, conjuntos de cromossomos podem ser adicionados ou subtraídos durante os processos de divisão celular (meiose e mitose) (ARAI, 2001). Como resultado, podem-se produzir três organismos: poliploide, ginogênese e androgênese (KOMEN et al., 2007). Esta tecnologia pode ser realizada pela interferência física ou funcional nos cromossomos, durante o ciclo celular, através de agentes físicos (choques térmicos, pressão hidrostática, raios UV) ou agentes químicos (PIFERRER et al., 2009). São dois os objetivos que têm impulsionado as pesquisas nesta área. O primeiro se dá pelo interesse em manipular grupos completos de cromossomos de dada espécie, conhecido como poliploidização. O segundo é adquirir o genoma de indivíduos que contenham apenas um dos parentais, técnica conhecida como ginogênese ou androgênese (MOLINA; JACOBINA, 2013).

O uso dessa biotecnologia é basicamente empregado para a obtenção de indivíduos sexualmente invertidos. Estes animais geneticamente manipulados poderão estabelecer os cultivos para peixes monosexo, estéreis ou endogâmicos, para fins de produção de pescado ou constituindo materiais genéticos a serem trabalhados pelos geneticistas (BRABO et al., 2016).

Portanto, é notável a necessidade de implantar programas de melhoramento genético para estas espécies, tanto por meio da seleção clássica quanto da aplicação da manipulação cromossômica.

Considerando que o tambaqui é bem adaptado ao manuseio e manutenção em laboratório, diversos aspectos da sua fisiologia, nutrição, bioquímica e ecologia já foram estudados (VILLACORTA-CORREA; SAINT-PAUL, 1999).

3 | POLIPLOIDIA APLICADA A PEIXES TRIPLOIDES

A poliploidia começou a ser estudada por geneticistas no período de 1910 a 1930, por meio da elucidação da duplicação do genoma, com efeitos na melhor adaptação e resultados em culturas. Estudos citogenéticos realizados nos anos seguintes (1930 a 1950) sugeriram que os poliploides são maiores (folhagem e hastes mais resistentes e altura superior) do que os diploides. O estudo foi generalizado nas plantas e ocorre também nos vertebrados inferiores: peixes, anfíbios e répteis (RAMSEY et al., 2014).

Essa ferramenta passou a ser utilizada na produção de peixes em escala industrial mundial somente durante as décadas de 1980 e 1990. As principais espécies triploides que são produzidas em larga escala são as trutas, salmões e carpas (DUNHAM et al., 2001). Entretanto, no Brasil, estas biotecnologias genéticas ainda não alcançaram a indústria da aquicultura para as espécies nativas, pois só foram realizados testes experimentais.

Indivíduos poliploides são organismos com a adição de um ou mais conjuntos de

cromossomos, o objetivo é inibir os mecanismos que levariam à expulsão do segundo corpúsculo polar na metáfase II da meiose, retendo, no ovo dois conjuntos cromossômicos maternos, resultando em um zigoto triploide (Figura 1). As pesquisas de indução à poliploidia são geralmente voltadas para obtenção de indivíduos triploides (3N). É considerada uma das técnicas mais importantes para alcançar a melhoria dos animais aquáticos (KIR et al., 2016). Comumente, reconhecida como o método mais prático para a produção de indivíduos estéreis, a indução a poliploidia pode ser feita, diretamente, pelo tratamento aplicado nos ovos, logo após o processo de fecundação, através de tratamentos físicos ou químicos; ou indiretamente, pela produção de reprodutores tetraploides e posteriormente, cruzamento destes com os indivíduos diploides (TABATA, 2008; ALCÁNTAR-VÁZQUEZ, 2016).

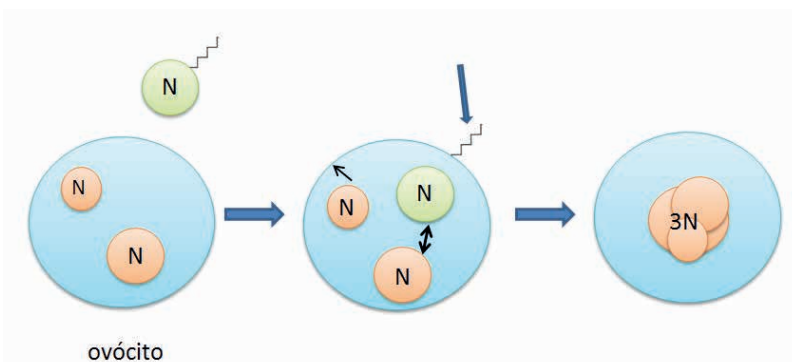


Figura 1 - Processo de triploidização. Logo após a fertilização um choque é aplicado para evitar a liberação do segundo corpúsculo polar, originando um zigoto triploide (3n).

Fonte: Adaptado por Lutz (2003).

A poliploidia é relativamente comum em peixes, quando comparados com outros vertebrados. Muitos peixes comerciais como *Salmonídeos*, *Cobitídeos* e *Silurídeos* são mais induzidos a poliploidia. Além disso, foram relatados casos espontâneos de peixes 3N, como por exemplo, *Misgurnus anguillicaudatus*, *Carassius carassius gibelio* e *Oncorhynchus mykiss* (NA-NAKORN et al., 2015). Alguns crustáceos ou moluscos utilizados na aquicultura, como *Procambarus clarkii* e *Panulirus japonicus* são naturalmente poliploides ou evoluíram de ancestrais poliploides (ZHOU et al., 2017).

4 | TÉCNICA DE INDUÇÃO À TRIPLOIDIA

Várias técnicas de indução à poliploidia de organismos aquáticos vêm sendo aplicadas, tais como: a técnica de indução que usa choque térmico (KARAMI et al., 2016), pressão hidrostática (XU et al., 2008; GIL et al., 2016), tratamentos químicos, ou a criação de diploides com reprodutores tetraploides. Mais recentemente trabalhos vêm sendo feitos com choques elétricos, como relatado por Hassan et al. (2018). O choque térmico é o mais facilmente aplicado devido ao baixo custo, maior massa de ovos a ser submetida e maior

nível de segurança.

A Tabela 1 apresenta de forma comparativa, as pesquisas feitas em peixes para a indução de organismos poliploides, relacionando o método utilizado juntamente com o tempo. O choque frio é um método útil para a indução em algumas espécies como *Clarias gariepinus* com 5°C por 40 minutos (KARAMI et., 2016); em um estudo com híbridos de bagre (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*) foram testados diferentes tempos e temperaturas pós-fertilização (PARVEN; GALLARDO, 2014); trabalhando com *Rhamdia quelen*, foram utilizados choques duplos: frio (1 °C) e quente (37, 39, 41° C) (GARCÍA et al., 2017).

Espécie	Temperatura¹	Tempo²	Citação
<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	42° C	2,5 min	HARTAMI et al., 2018
<i>Rhamdia quelen</i>	37° C - 1° C	2 min /20 min	GARCÍA et al., 2017
	39° C - 1° C		
	41° C- 1° C		
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	28° C	10 min	BABAHEYDARI et al., 2016.
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	26,5° C	3 min	BEKCAN et al.,2016
	30,5°		
<i>Clarias gariepinus</i>	5° C	20 min	KARAMI et al.,2016
Híbridos de bagre (<i>Clarias macrocephalus</i> × <i>Clarias gariepinus</i>)	2° C	10 min	PARVEN;GALLARDO, 2014
	4° C	15 min	
	6° C	20 min	
	38° C	1 min	
	40° C	2,5 min	
	42° C	4 min	
<i>Oreochromis mossambicus</i>	41° C	5 min	JAYAPRASAD et al., 2011
<i>Oreochromis mossambicus</i>	41° C	3,5 min	PRADEEP et al., 2012
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	7° C	30 min	SABER et al., 2012
	38° C	1min	
	40° C		
	42° C		
<i>Clarias batrachus</i>	1° C	15 min	VENKATACHALAM et al., 2012
	3° C	30 min	
	4° C		
	38° C	1 min	
	39° C	3 min	
	40° C		

Híbrido: <i>Labeo rohita</i> x <i>Cirrhinus cirrhosus</i>	38° C	1 min	RAHI et al., 2012
		1,5 min	
		2 min	
		3 min	
	39° C	1 min	
		1,5 min	
		2 min	
		3min	
	40° C	1 min	
		1,5 min	
		2 min	
		3 min	
41° C	1 min		
	1,5 min		
	2 min		
	3min		
<i>Clarias gariepinus</i>	0° C	15 min	MARX et al., 2007
		30 min	
		45 min	
		60 min	
	5° C	15 min	
		30 min	
		45 min	
		60 min	
	40° C	1 min	
		2 min	
		3 min	
	41° C	1 min	
2 min			
3 min			
<i>Cyprinus carpio</i> linn	40° C	1,5 min	MUKTI, 2012

¹Temperatura do coque térmico em graus Celsius; ²Duração do coque térmico em minutos.

Tabela 1 - Parâmetros relatados para indução de triploidia em várias espécies de peixes utilizando técnicas por meio de temperaturas.

5 I IDENTIFICAÇÃO DE ORGANISMOS TRIPLOIDES

Várias técnicas de identificação podem avaliar a poliploidia de um indivíduo. A estimativa do tamanho de hemácias pelo uso de um contador Coulter é mais comumente usada na produção comercial de carpa capim nos Estados Unidos. Outros métodos incluem medir o volume nuclear ou o diâmetro dos eritrócitos por microscopia, analisando marcadores

genéticos como alozymes e microssatélites e análise citogenética (DOLEZEL et al., 2007). Embora a correlação entre os métodos seja alta, algumas classificações erradas podem ocorrer. As características de cada técnica variam com relação à confiabilidade, precisão, tempo requerido, riscos químicos, conhecimento necessário, invasão de amostragem e gasto (MUKTI et al., 2016).

A medição por citometria de fluxo do DNA nuclear é menos suscetível a erros do que os outros métodos, fornecendo uma confiabilidade indiscutível da poliploidia e oferece a vantagem de usar células de outros tecidos além do sangue, como partes da nadadeira dorsal, globos oculares, embriões, ovos e larvas (JENKINS et al., 2017).

Desta forma, a citometria de fluxo se torna um dos métodos mais eficientes e seguros para a comprovação de organismos poliploides, permitindo, assim, analisar várias características de uma célula de forma rápida e por vários parâmetros. As células da amostra em suspensão são marcadas com monoclonais específicos ligados a fluorocromos, que permitem a identificação e a quantificação de células pelo tamanho, granulosidade e intensidade de fluorescência (NAKAGE et al., 2005).

Contudo, esse método é mais comum e ele se baseia na mensuração do DNA nuclear das células. Nesta técnica, os núcleos são retirados de uma amostra e corados com um corante fluorescente. Posteriormente, essa amostra é levada ao aparelho, o qual irá classificar e quantificar as células de acordo com a intensidade da fluorescência. Como um peixe triploide contém núcleos com mais DNA, estes irão liberar fluorescência de maior intensidade, sendo desta forma gerado gráficos com intensidade facilmente identificados (NASCIMENTO, 2015; DOLEZEL et al., 2007).

6 | PEIXE TRIPLOIDE

A fisiologia dos peixes triploides não é muito conhecida, mas alguns aspectos já foram relatados, tais como a citologia e reprodução (MAXIME, 2008). A condição reprodutiva dos triploides os confere uma característica desejada no mercado à esterilidade. Eles podem oferecer outras vantagens, como melhor eficiência alimentar e crescimento, devido ao menor gasto de energia em processos reprodutivos (JENKINS et al., 2017). Poliploides, geralmente possuem tamanho celular aumentado, em comparação com os diploides (ZHOU et al., 2017), como citado por Jenkins et al. (2017), o volume celular médio da *Ctenopharyngodon idella* triploide é 1,4 vezes maior do que o dos diploides.

O fato de os triploides possuírem um terço a mais de conteúdo celular, confere um tamanho maior às suas células. A relação núcleo-citoplasma indica que, nos triploides, as células da maioria dos órgãos (cérebro, rim, fígado) e tecidos (sangue, músculos, cartilagens) são maiores do que nos diploides, além da energia, que não é transferida para a produção de gametas. De forma geral, a poliploidia cria um grande número de vantagens e oportunidades de inovação (ALCÁNTAR-VÁZQUEZ, 2016; ZHOU et al., 2017).

7 | INFLUÊNCIA DA POLIPLÓIDIA DE PEIXES NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

O maior desempenho de indivíduos triploides estéreis está ligado ao desenvolvimento diferencial das gônadas (em alguns casos), pois não ocorre deslocamento de energia para a produção de gametas e comportamentos reprodutivos. Alguns trabalhos com peixes poliploides mostram melhores resultados nos parâmetros zootécnicos como mostra da tabela 2.

Espécie	Variável de desempenho	Ganho	Autor
<i>Acipenser ruthenus</i>	Sobrevivência	96,11 %	Hubálek et al., 2023
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Rendimento de file	67,0 %	Everson et al., 2021
<i>Colossoma macropomum</i>	Taxa de crescimento específico	2,60 %/dia	Júnior et al., 2022
<i>Colossoma macropomum</i>	Sobrevivência	81,67%	Pereira et al., 2022
<i>Euthynnus affinis</i>	Sobrevivência	64,3%	Yazawa et al., 2019
<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>	Sobrevivência	96,87	Hassan et al., 2018
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Conversão alimentar	1,86	Karayucel et al., 2018
<i>Salmo salar</i>	Ganho de peso diário	92,0 g	Ignatz et al., 2022
	Rendimento de filé	52,3%	
<i>Salmo salar</i>	<i>Salmo salar</i>	254,0 g	Ganga et al., 2015
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Ganho de peso	2248,49%	Salimian et al., 2016

Tabela 2 - Índices zootécnicos de peixes poliploides

8 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existe a perspectiva do uso da técnica de poliploidia aplicada na piscicultura para obtenção de indivíduos estéreis, o que pode substituir o uso de hormônios na obtenção de monossexo em peixes. O crescimento ou desempenho é outro aspecto importante sendo considerado como valor econômico na produção, portanto a técnica de poliploidia possibilita esta vantagem. No entanto, dois pontos serão importantes que ainda merecem estudos e ajustes nestas técnicas. Primeiro, um protocolo que garanta eficiência para obtenção de poliploides (diploides, triploides ou tetraploides) desejados. O segundo fator é a sobrevivência das larvas, pois esta técnica com choque de temperatura há redução das taxas de sobrevivência. Assim, são necessários estudos que viabilizem e ajustem os protocolos, como por exemplo, o uso de choque elétrico ou químico para que possam obter mais eficiência na técnica de poliploidia nos peixes.

REFERÊNCIAS

ALCÁNTAR-VÁZQUEZ, J. P. Fisiología de los peces triploides. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 1, p. 1-15, 2016.

ARAI, K. Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. **Aquaculture**. 197. 205-228, 2001.

BABAHEYDARI, S. B.; KEYVANSHOKOOH, S.; DORAFSHAN, S.; JOHARI, S. A. Proteome changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fertilized eggs as an effect of triploidization heat-shock treatment. **Animal reproduction science**, v. 166, p. 116-121, 2016.

BEKCAN, S.; ATAR, H. H.; YAVUZCAN, H. The Survival Rate of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) at the Stages of Eyed Eggs, Larvae and Fry in Tetraploid Applications. **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 10, n. 3, p. 20-23, 2016.

BRABO, F.M.; PEREIRA, L.F.S.; SANTANA, J.V.M.; CAMPELO, D.A.V.; VERAS, G.C. Current scenario of fish production in the world, Brazil and Pará State: emphasis on aquaculture. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, v. 2, n. 9, p. 2233, 2007.

DUNHAM, R. A.; MAJUMDAR, K.; HALLERMAN, E.; BARTLEY, D.; MAIR, G.; HULATA, G.; LIU, Z.; PONGTHANA, N.; BAKOS, J.; PENMAN, D.; GUPTA, M.; ROTHLSBERG, P.; SCHARK, G. Review of the status of aquaculture genetics. In: SUBASINGHE, R. P.; BUENO, P.; PHILLIPS, M. J.; HOUGH, C.; MCGLADDERY, S. E.; ARTHUR, J. R. **Aquaculture in the Third Millennium**. V. 20, p. 137-166, 2001.

Everson, J. L., Weber, G. M., Manor, M. L., Tou, J. C.; Kenney, P. B. Polyploidy affects fillet yield, composition, and fatty acid profile in two-year old, female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 531, p. 735873, 2021.

FAO. **Fishery and aquaculture Statistics**. Global production by production source 1950– 2016 (FishstatJ).2018.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**. Contributing to food security and nutrition for all, Rome, 14 p. 2016.

GANGA, R.; TIBBETTS, S. M.; WALL, C. L.; PLOUFFE, D. A.; BRYENTON, M. D.; PETERS, A. R.; LALL, S. P. Influence of feeding a high plant protein diet on growth and nutrient utilization to combined 'all-fish' growth-hormone transgenic diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v. 446, p. 272-282, 2015.

GARCÍA, S.; YASUI, G. S.; BERNARDES-JÚNIOR, J. J.; CORRÊA DA SILVA, B.; AMARAL-JÚNIOR, H.; ZANIBONI-FILHO, E. Induction of triploidy in *Rhamdia quelen* (*Siluriformes*, *Heptapteridae*) by double-temperature shock. **Latin american journal of aquatic research**, v. 45, n. 1, p. 209-212, 2017.

HARTAMI, P.; CARMAN, O.; ZAIRIN, M.; ALIMUDDIN, A. Heat Shock and Its Consequences on Early Life Performance of Stripped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Omni-Akuatika**, v. 14, n. 2, p. 52-58, 2018.

HASSAN, A.; OKOMODA, V. T.; PRADEEP, P. J. Triploidy induction by electric shock in Red hybrid Tilapia. **Aquaculture**, v. 495, p. 823-830, 2018.

Hubálek, M.; Kašpar, V.; Tichopád, T.; Rodina, M.; & Flajšhans, M. How do suboptimal temperatures affect polyploid sterlet *Acipenser ruthenus* during early development?. **Journal of Fish Biology**, v. 101, n. 1, p. 77-91, 2023.

IBGE, 2018. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Coordenação de Agropecuária. Produção da Pecuária Municipal, 43: 1-49.

IGNATZ, E. H.; SANDRELLI, R. M.; TIBBETTS, S. M.; COLOMBO, S. M.; ZANUZZO, F. S.; LOVELESS, A. M.; ... GAMPERL, AK. Influence of supplemental dietary cholesterol on growth performance, indices of stress, fillet pigmentation, and upper thermal tolerance of female triploid Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture Nutrition**, v. 2022, 2022.

JAYAPRASAD, P. P.; SRIJAYA, T. C.; JOSE, D.; PAPINI, A.; HASSAN, A.; CHATTERJI, A. K. Identification of diploid and triploid red tilapia by using erythrocyte indices. **Caryologia**, v. 64, n. 4, p. 485-492, 2011.

JENKINS, J. A.; DRAUGELIS-DALE, R. O.; GLENNON, R. P.; KELLY, A. M.; BROWN, B. L.; MORRISON, J. R. An Accurate Method for Measuring Triploidy of Larval Fish Spawns. **North American Journal of Aquaculture**, v. 79, n. 3, p. 224-237, 2017.

JÚNIOR G. S.; SILVA JÚNIOR, G., COPATTI, C. E., COSTA, L., SOUZA, G., BONFÁ, H. C., MELO, J. F. Triploidy induction in tambaqui (*Colossoma macropomum*) using thermal shock: fertilization, survival and growth performance from early larval to the juvenile stage. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 34, n. 4, p. 989-1004, 2022.

KARAMI, A.; OMAR, D.; LAZORCHAK, J. M.; YAP, C. K.; HASHIM, Z.; COURTENAY, S. C. A comparison of biomarker responses in juvenile diploid and triploid African catfish, *Clarias gariepinus*, exposed to the pesticide butachlor. **Environmental research**, v. 151, p. 313-320, 2016.

KARAYUCEL, İ.; PARLAK AKYÜZ, A.; DERNEKBAŞI, S. Comparison of growth performance, biochemical and fatty acid compositions between all-female diploid and triploid rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). **Journal of applied ichthyology**, v. 34, n. 1, p. 142-148, 2018.

KOMEN, H.; THORGAARD, G. H. Androgenesis, gynogenesis and the production of clones in fishes: a review. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 150-173, 2007.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L. Aquicultura no Brasil. **Panorama da Aquicultura**, v. 25, n. 150, p. 11-13, 2015.

MARX, K. K.; SUKUMARAN, N. Production of triploid African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), using chromosome manipulation techniques. **Bangladesh Journal of Fisheries Research**, v. 11, n. 2, p. 121-130, 2007.

MAXIME, V. The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. **Fish and Fisheries**, v. 9, n. 1, p. 67-78, 2008.

MOLINA, F. W.; JACOBINA, U. P. Protocolos Citogenéticos e Perspectivas Biotecnológicas Voltadas à Piscicultura Marinha e Conservação. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 2, p. 155-168, 2013.

MUKTI, A. T. Perbedaan keberhasilan tingkat poliploidisasi ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) melalui kejutan panas. **Journal of Biological Researches**, v. 10, n. 2, p. 133-138, 2012.

- MUKTI, A. T.; CARMAN, O.; ALIMUDDIN.; ZAIRIN J. R. M. A rapid chromosome preparation technique without metaphase arrest for ploidy determination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Caryologia**, v. 69, n. 2, p. 175-180, 2016.
- NAKAGE, A. P. M.; SANTANA, A. E.; CÁPUA, M. L. B. D.; COELHO, P. S. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. **Ciência Rural**, v. 35, p. 966-973, 2005.
- NA-NAKORN, U.; CHATCHAIPHAND, S.; SRISAPOOME, P. Potential application of triploidy induction in important aquatic species in South East Asia. **Genomics and Genetics**, v. 8, n. 2, p. 95-105, 2015.
- NASCIMENTO, N. F. D. Desempenho zootécnico e caracterização da linhagem germinativa de peixes diploides e triploides de lambari (*Astyanax altiparanae*). **(Dissertação em Aquicultura)** Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – São Paulo, 2015.
- PARVEN, A.; GALLARDO, W. G. Triploidy induction and growth performance of hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, n. 1, p. 151-162, 2014.
- PEREIRA, G. A.; COPATTI, C. E.; FIGUEIREDO, R. A. C. R. D.; REIS, F. J. D. S.; COSTA, L.; SOUZA, G.; MELO, J. Cold, heat, or double thermal shock in tambaqui (*Colossoma macropomum*): triploid induction, fertilization rate, growth, and hematological variables. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 35, n. 4, p. 992-1002, 2023.
- PIFERRER, F.; BEAUMONT, A.; FALGUIERÉ, J. C. 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, 2009.
- PRADEEP, P. J.; SRIJAYA, T. C.; BAHULEYAN, A.; RENJITHKUMAR, C. R.; JOSE, D., PAPINI, A.; CHATTERJI, A. K. Triploidy induction by heat-shock treatment in red tilapia. **Caryologia**, v. 65, n. 2, p. 152-156, 2012.
- RAHI, M. L.; SHAH, M. S. Triploidization in rohu x mrigal hybrid and comparison of growth performance of triploid hybrid. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 12, p. 1867-1879, 2012.
- RAMSEY, J.; RAMSEY, T. S. Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1648, p. 20130352, 2014.
- RODRIGUES, A. P. O. NUTRITION AND FEEDING OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*). **BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA**, v. 40, n. 1, p. 135-145, 2016.
- SABER, M. H.; POURKAZEMI, M. Induction of triploidy in grass carp *Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844: of cold & heat shocks. **Caspian Journal of Environmental Sciences**, v. 10, n. 2, p. 195-204, 2012.
- SALIMIAN, S.; KEYVANSHOKOOH, S.; SALATI, A. P.; PASHA-ZANOOSI, H.; BABAHEYDARI, S. B. Effects of triploidy induction on physiological and immunological characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at early developmental stages (fertilized eggs, eyed eggs and fry). **Animal reproduction science**, v. 165, p. 31-37, 2016.
- TABATA, Y. A. Biotechnology applied to rising of trout. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, v. 21, p. 455-522, 2008.

VENKATACHALAM, U.; VENKATACHALAM, R.; GANESH, K.; AATHI, K. Induction of Triploidy Catfish through Cold Shock and Heat Shock in *Clarias batrachus* species. **International Journal of Fisheries and Aquaculture Sciences**, v. 2, n. 1, p. 63-72, 2012.

VILLACORTA-CORREA, M. A.; SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 4, p. 637-652, 1999.

YAZAWA, R.; TAKEUCHI, Y.; MACHIDA, Y.; AMEZAWA, K.; KABEYA, N.; TANI, R.; ... YOSHIZAKI, G. Production of triploid eastern little tuna, *Euthynnus affinis* (Cantor, 1849). **Aquaculture research**, v. 50, n. 5, p. 1422-1430, 2019.

ZHOU, L.; GUI, J. Natural and artificial polyploids in aquaculture. **Aquaculture and Fisheries**, v. 2, n. 3, p. 103-111, 2017.