

## PRODUÇÃO DE LOTES MONOSSEXOS FEMININOS TRIPLÓIDES DE TRUTA ARCO-ÍRIS, *Oncorhynchus mykiss*. I - SOBREVIVÊNCIA DOS EMBRIÕES\*

[Production of all female triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. I - Embryo survival]

Yara Aiko TABATA<sup>1,3,4</sup>  
Marcos Guilherme RIGOLINO<sup>1</sup>  
Maurício Keniti NAGATA<sup>2</sup>

### RESUMO

Durante o período de desenvolvimento embrionário, foram comparadas as taxas de sobrevivência de lotes monossexos femininos e de lotes de sexos mistos de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, diplóides e triplóides. Os lotes monossexos femininos foram obtidos usando-se sêmen de fêmeas genotípicas masculinizadas com  $17\alpha$ -metiltestosterona e a triploidia foi induzida por choque térmico a 28° C, aplicado durante 20 minutos, com início 10 minutos após a ativação dos ovos. As taxas de triploidização, estimadas pela medida do eixo maior dos eritrócitos, foram de 94 e 100%, respectivamente, para os grupos monossexos femininos e de sexos mistos. Os grupos de indivíduos triplóides, resultantes de tratamento com choque térmico, apresentaram maior mortalidade do que os seus respectivos controles diplóides, sobretudo na fase eleuteroembrionária e as parcelas que foram fertilizadas com sêmen de fêmeas masculinizadas apresentaram mortalidade superior àquelas que foram fertilizadas com sêmen de machos normais.

**PALAVRAS-CHAVE:** truta arco-íris, triploidia, sobrevivência de embriões, grupos 100% fêmeas

### ABSTRACT

The survival rate among all-female and mixed-sex groups of diploid and triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during the embryonic development period was compared. All-female groups were obtained using sperm from masculinized genotypic female with  $17\alpha$ -methyltestosterone. Triploidy was induced by heat shocking the eggs at 28° C for 20 minutes, starting 10 minutes post-activation. Triploidization rate was estimated from erythrocyte major axis measurement as 94 and 100% respectively to all-female and mixed-sex groups. Compared with the diploid control, heat-shocked eggs showed higher mortality primarily after hatching period; groups fertilized with semen from masculinized female showed higher mortality rates than groups fertilized with semen from normal males.

**KEY WORDS:** rainbow trout, triploidy, embryo survival, all female groups

## 1. INTRODUÇÃO

Os peixes, particularmente a truta arco-íris, são relativamente tolerantes à manipulação artificial de seus conjuntos cromossômicos durante os estágios iniciais do desenvolvimento. Trutas com três ou quatro conjuntos cromossômicos (triplóides ou tetraplóides) podem sobreviver e apresentam características interessantes para a produção e pesquisa básica em genética (THORGAARD, 1992).

Na manipulação da ploidia, a triploidização tem merecido uma maior atenção por parte dos pesquisadores, pelos efeitos fisiológicos que esta técnica pode proporcionar com reflexos no manejo, tanto de estoques naturais quanto na aquicultura (THORGAARD, 1986).

Dentre as técnicas de triploidização, o choque térmico quente é considerado o método mais adequado

\* Artigo Científico - aprovado para publicação em 15/08/97

(1) Pesquisador Científico - Estação Experimental de Salmonicultura "Dr. Ascânio de Faria" - Instituto de Pesca - CPA/SAA

(2) Pesquisador Científico - Seção de Aquicultura - Divisão de Pesca Interior - Instituto de Pesca - CPA/SAA

(3) Bolsista CNPq

(4) Endereço/Address: Caixa Postal 361 - CEP 12460-000 - Campos do Jordão - SP - Brasil - fone/fax: 012-262 1021

para os salmonídeos, pois, além de não requerer aparelhos especializados, pode tratar grande quantidade de ovos com elevado índice de sucesso. (THORGAARD; JAZWIN; STIER, 1981; CHOURROUT & QUILLET, 1982; LINCOLN & SCOTT, 1983; SOLAR; DONALDSON; HUNTER, 1984).

Os benefícios decorrentes da triploidização em peixes baseiam-se, principalmente, na esterilidade reprodutiva e, portanto, na prevenção das características associadas à maturação sexual. Esta esterilidade é atribuída à presença do 3º conjunto cromossômico que provoca distúrbios na divisão meiótica I na gametogênese, resultando em diferentes níveis de supressão do desenvolvimento gonadal (LINCOLN & SCOTT, 1984).

A constatação de que os machos triplóides desenvolvem testículos, ainda que inférteis (BENFEY et alii, 1986) e manifestam as características associadas à maturação sexual de maneira semelhante aos diplóides (LINCOLN & SCOTT, 1984), desaconselha o emprego destes nos cultivos intensivos. Contudo, as

fêmeas triplóides, por apresentarem um desenvolvimento gonadal praticamente nulo, representam um grande potencial na aquicultura (BYE & LINCOLN, 1986).

Portanto, a triploidização deve ser praticada em lotes monossexos femininos, que podem ser produzidos, indiretamente, pela reversão sexual. Esta técnica consiste na masculinização de fêmeas genotípicas com andrógenos e posterior fertilização de óvulos normais com o sêmen dessas fêmeas masculinizadas. A progênie resultante é 100% feminina, pois as fêmeas revertidas, embora sejam funcionalmente machos, são, genotipicamente femininas (HUNTER et alii, 1983; PIFERRER & DONALDSON, 1989).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar as taxas de sobrevivência, durante o período de desenvolvimento embrionário, em lotes monossexos femininos e de sexos mistos de truta arco-íris, submetidos ao tratamento de indução à triploidia por choque térmico quente.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi conduzido na Estação Experimental de Salmonicultura "Dr. Ascânio de Faria", do Instituto de Pesca, localizada no Parque Estadual de Campos do Jordão-SP (22°45'S e 45°30'W e altitude média de 1600 metros), durante a temporada reprodutiva de 1991.

Foram coletados os óvulos de 12 fêmeas de 2 anos de idade (primeira maturação) e constituído um "pool". Esses óvulos foram distribuídos em 12 copos plásticos (12 parcelas) e agrupados em dois grupos, A e B, sendo o grupo A fertilizado com um "pool" de sêmen de 4 machos normais de dois anos de idade (primeira maturação) e o grupo B fertilizado com um "pool" de sêmen de 4 fêmeas masculinizadas de 3 anos de idade (segunda maturação). As fêmeas genotípicas foram masculinizadas pela administração oral de 17 $\alpha$ -metiltestosterona durante 60 dias, a partir do início da alimentação (TABATA & RIGOLINO, 1990).

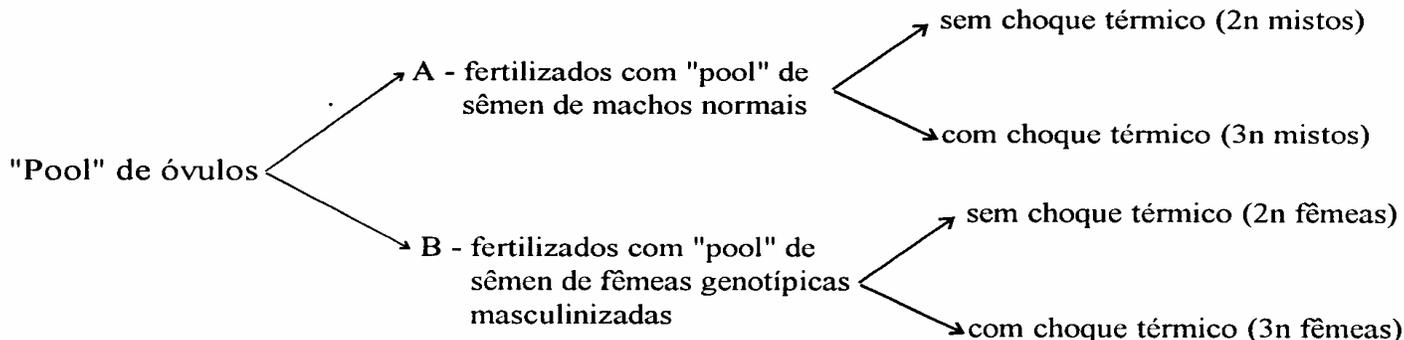
Três parcelas do grupo A e 3 do grupo B eram constituídas por aproximadamente 1000 óvulos cada, enquanto que as demais, destinadas ao tratamento de choque de calor para a indução da triploidia,

continham aproximadamente 2000 óvulos cada, com o intuito de compensar a mortalidade esperada, provocada pelo tratamento térmico.

O sêmen foi empregado na proporção de 1 ml para cada 1000 óvulos e a ativação dos gametas foi feita pela adição de água à temperatura de 10°C.

Para inibir a expulsão do 2º corpúsculo polar, decorridos 10 minutos da ativação, os ovos das 3 parcelas do grupo A e das 3 parcelas do grupo B, que continham maior número de ovos, foram escorridos para 6 sacos de tela de nylon e mergulhados em água a 28°C durante 20 minutos. Em seguida, os ovos de todas as parcelas foram transferidos para a incubadora (do tipo horizontal), onde foram mantidos separadamente nas bandejas e submetidos às mesmas condições de incubação.

Deste modo, foram constituídas 4 progênies correspondentes aos tratamentos: lote diplóide de sexos mistos (**2n mistos**), lote triplóide de sexos mistos (**3n mistos**), lote diplóide 100% feminino (**2n fêmeas**) e lote triplóide 100% feminino (**3n fêmeas**), conforme o seguinte esquema:



Cada tratamento foi realizado com 3 repetições.

No período compreendido entre a fecundação e a pigmentação dos olhos do embrião, realizou-se a coleta dos ovos gorados em intervalos de 2 dias procedendo-se a somatória dos mesmos ao final do processo.

Para controlar a proliferação de fungos patogênicos afins à *Saprolegnia*, durante a fase de incubação os ovos sofreram banhos periódicos de verde de malaquita (5mg/l).

A taxa de embriogênese, determinada aos 18 dias de incubação (fase de ovos olhados), foi calculada pelo valor percentual dos ovos olhados em relação ao número total inicial da parcela. O número de ovos olhados foi estimado através da razão entre o peso total dos ovos olhados e o peso médio unitário obtido em uma amostra, enquanto que o número total inicial foi resultante da soma dos olhados e dos gorados.

Para evitar a mistura entre indivíduos das diferentes parcelas (passível de ocorrer logo após a eclosão no tipo de incubadora utilizada), os ovos embrionados, após quantificados, foram transferidos para 12 caixas plásticas (0,60 m de comprimento x 0,40 m de largura x 0,18 m de altura), dotadas de sistema de abastecimento e escoamento de água independentes, onde ocorreu a eclosão. Os embriões recém eclodidos aí permaneceram até completarem a absorção da vesícula vitelínica.

Quando os animais iniciaram a natação e a alimentação, determinou-se a taxa de alevinagem, calculada pela relação percentual entre o número de alevinos e o número de ovos olhados.

A taxa de sobrevivência global foi calculada pela relação percentual entre o número de alevinos e o número inicial de ovos.

Para a quantificação dos alevinos utilizou-se o

mesmo procedimento adotado para estimar o número de ovos olhados, sendo que para a pesagem dos alevinos foi usado um recipiente com água.

As taxas de sobrevivência relativas, tanto para ovos olhados quanto para alevinos, dos grupos tratados com choque térmico em relação aos grupos não tratados, foram calculadas pela razão entre os seus respectivos percentuais.

As taxas de sobrevivência durante o período embrionário foram determinadas nas fases de ovos olhados (taxa de embriogênese) e ao início da alimentação (taxa de alevinagem), que correspondem às fases em que esses animais são comercializados e, portanto, são normalmente quantificados nos sistemas de produção.

Diariamente registrou-se a temperatura da água de abastecimento, através de termômetro de máxima e mínima, sendo utilizada a média diária para o cálculo da duração das fases iniciais do desenvolvimento, em unidades térmicas acumuladas em graus centígrados dias (°Cd), somadas a partir do momento da fertilização.

A identificação dos triplóides foi realizada pela medida do comprimento do eixo maior dos eritrócitos (BENFEY; SUTTERLIN; THOMPSON, 1984), após os animais terem completado um ano de idade. De aproximadamente 180 animais de cada tratamento, foram coletadas amostras de sangue, pela punção dos vasos do pedúnculo caudal, usando-se seringas e agulhas descartáveis heparinizadas e confeccionadas as extensões em lâmina.

Para a análise estatística das taxas de sobrevivência dos embriões empregou-se o teste do  $\chi^2$ . (PIMENTEL GOMES, 1966).

### 3. RESULTADOS

O período de desenvolvimento embrionário (da fertilização até a primeira alimentação), durou 45 dias a uma temperatura média de 12,5 °C (562,5 °C dias). A duração do intervalo de eclosão foi similar (5 dias) para todos os tratamentos. Entretanto, os grupos tratados com choque térmico iniciaram e terminaram a eclosão um dia antes dos grupos não tratados.

A duração do período de incubação, compreendido entre a fertilização e a eclosão de 50% dos embriões foi de 23 dias para os triplóides e de 24 dias para os

diplóides, a uma temperatura média da água de 12,7 °C, correspondendo, em unidades térmicas acumuladas, a 292,5 °C dias e 305 °C dias, respectivamente.

Os valores médios da taxa de embriogênese e os das taxas de alevinagem e de sobrevivência global, bem como, os dos números de ovos e de alevinos utilizados no presente experimento estão dispostos, respectivamente, nas TABELAS 1 e 2.

TABELA 1

Taxa de embriogênese (ovos olhados) dos grupos 100% fêmeas e dos grupos de sexos mistos de truta arco-íris submetidos ao tratamento de indução à triploidia por choque térmico e dos seus respectivos controles

tratamentos	amostra de ovos olhados			ovos olhados		gorados N	óvulos N	taxa de embriogênese
	N	peso total (g)	peso médio (mg)	peso total (g)	N			
2n fêmeas	107	8,04	75,42	53,90	715	274	989	72,30%
3n fêmeas	109	8,21	75,58	97,64	1292	906	2198	58,78%
2n mistos	90	6,88	76,67	62,18	811	247	1058	76,65%
3n mistos	102	7,67	75,45	107,81	1429	764	2193	65,16%

N = média das 3 repetições

TABELA 2

Taxas de alevinagem e de sobrevivência global dos grupos 100% fêmeas e dos grupos de sexos mistos de truta arco-íris submetidos ao tratamento de indução à triploidia por choque térmico e de seus respectivos controles

tratamentos	amostra de alevinos			alevinos		taxa de alevinagem	taxa de sobrevivência global
	N	peso total (g)	peso médio (mg)	peso total (g)	N		
2n fêmeas	60	5,30	88,33	38,67	438	61,26%	44,29%
3n fêmeas	87	7,60	87,36	58,33	668	51,70%	30,39%
2n mistos	65	6,00	92,31	47,67	516	63,63%	48,77%
3n mistos	67	5,70	85,07	71,33	838	58,64%	38,21%

N = média das 3 repetições

Na TABELA 3, estão apresentadas as taxas de sobrevivência relativas de embriogênese, de alevinagem e de sobrevivência global, dos grupos tratados com choque térmico em relação aos seus respectivos controles diplóides.

TABELA 3

Taxas de sobrevivência relativas dos grupos tratados com choque térmico em relação aos respectivos controles durante as fases do desenvolvimento embrionário

3n / 2n	embriogênese	alevinagem	sobrevivência global
fêmeas	81,30%	84,39%	68,62%
mistos	85,01%	92,16%	78,35%

Os resultados do teste de  $\chi^2$  para a comparação das frequências de sobreviventes entre os diferentes tratamentos e combinações estão relacionados na TABELA 4.

TABELA 4

Testes do  $\chi^2$  para a comparação da sobrevivência, durante as fases do desenvolvimento embrionário, entre grupos monossexos femininos e grupos de sexos mistos de truta arco-íris submetidos ao tratamento de indução à triploidia e seus respectivos controles

genótipo	embriogênese		alevinagem		global	
2n x 3n	98,12	***	20,98	***	90,04	***
fêmeas x mistos	25,13	***	12,60	***	33,13	***
2n fêmeas x 2n mistos	5,01	*	0,94	NS	4,13	*
2n fêmeas x 3n fêmeas	53,48	***	17,23	***	58,52	***
2n fêmeas x 3n mistos	15,78	***	1,37	NS	10,52	**
2n mistos x 3n fêmeas	99,33	***	29,30	***	104,86	***
2n mistos x 3n mistos	43,63	***	5,50	*	32,84	***
3n fêmeas x 3n mistos	19,02	***	13,41	***	30,07	***

\*\*\* - Significativo ao nível de 0,1% (P<0,001)

\*\* - Significativo ao nível de 1% (P<0,05)

\* - Significativo ao nível de 5% (P<0,05)

NS - Não significativo ao nível de 5% (P<0,05)

Pelas tabelas anteriormente expostas, pode-se notar que a taxa de mortalidade foi maior (P<0,001) nos grupos tratados com choque térmico (triplóides) do que nos seus respectivos controles (diplóides) e que as parcelas que foram fertilizadas com sêmen de fêmeas masculinizadas (grupos 100% femininos), quando agrupadas, apresentaram mortalidade superior (P<0,001) àquelas que foram inseminadas com sêmen de machos normais (grupos de sexos mistos), para ambos os intervalos estudados.

Todos os valores do  $\chi^2$  dispostos na TABELA 4 superaram o limite de significância de 5% de probabilidade (P<0,05) para todas as combinações testadas, não havendo diferenças significativas ao nível de 5% (P<0,05) apenas para as taxas de alevinagem

entre os grupos 2n fêmeas x 2n mistos e os grupos 2n fêmeas x 3n mistos.

Não houve diferença significativa entre os grupos diplóides 100% femininos e mistos quanto a taxa de alevinagem, porém, o mesmo não se observou quando esses mesmos grupos foram submetidos ao tratamento de choque térmico. Ou seja, quando submetidos ao choque térmico, os grupos 100% femininos e os grupos mistos diferiram significativamente entre si, em todos os períodos analisados.

O número de animais amostrados por tratamento para a determinação da ploidia e as taxas de triploidização estimadas em função do tamanho do eixo principal dos eritrócitos estão apresentados na TABELA 5.

TABELA 5

Taxa de triploidização determinada pela análise morfométrica do eixo principal de eritrócitos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)

tratamento	N	N diplóides	N triploides	taxas de triploidização
2n fêmeas	182	182	-	-
2n mistos	180	180	-	-
3n fêmeas	190	10	180	94,3%
3n mistos	180	-	180	100,0%

#### 4. DISCUSSÃO

A duração média do período de incubação, do intervalo de eclosão e do período de absorção da vesícula vitelínica observados no presente experimento, estão de acordo com os citados na literatura, para a truta arco-íris, os quais, segundo HUET (1973), são de 290 a 330 °Cd, de 50 °Cd e de 180 °Cd, respectivamente. A redução do período de incubação verificada nos grupos tratados com choque térmico foi relatada anteriormente por outros autores.

QUILLET; CHEVASSUS; DEVAUX (1988) constataram que a duração média do desenvolvimento embrionário diminuiu com o aumento da ploidia, porém, a duração do período de incubação foi semelhante entre os triploides obtidos por tratamento de choque térmico quente e aqueles obtidos por cruzamento entre tetraploides e diplóides, assim como, entre os ginogenéticos diploidizados por choque térmico e seus controles diplóides, sugerindo, nestes casos, que o aumento do calor proporcionado pelo choque térmico não interferiu na duração do desenvolvimento ontogenético.

Para HAPPE; QUILLET; CHEVASSUS (1988) a redução na duração do desenvolvimento embrionário poderia ser explicada, considerando-se que os triploides apresentam um menor número de células e o tamanho do corpo similar aos dos diplóides, associado ao fato de que a taxa de divisão mitótica seria pouco afetada pela poliploidia.

Os resultados observados na literatura mostram que as taxas de triploidização e de sobrevivência dos ovos tratados por choque térmico quente, em salmonídeos, variam consideravelmente, em função dos diferentes protocolos empregados na indução (THORGAARD;

JAZWIN; STIER, 1981; CHOURROUT & QUILLET, 1982; LINCOLN & SCOTT, 1983; SOLAR; DONALDSON; HUNTER, 1984)

No presente trabalho, o choque térmico de 28 °C (diferencial térmico de 18 °C), aplicado durante 20 minutos, decorridos 10 minutos da ativação dos ovos, mostrou-se bastante eficiente para a indução de triploidia em truta arco-íris. Este mesmo protocolo foi empregado por ALONSO (1993), que obteve 84% de triploidização com taxas de sobrevivência de 60% e 62%, respectivamente, para diplóides e triploides, determinadas na fase de ovos olhados.

Para SOLAR; DONALDSON; HUNTER (1984), as variações obtidas nas taxas de triploidização e de sobrevivência, usando-se o mesmo protocolo de indução para uma mesma espécie, sugerem que os resultados poderiam ser dependentes não somente da variedade da espécie empregada, mas também, do estágio de maturação do ovo no momento do tratamento. O grau de maturidade dos ovos, como possível causa de variação na retenção do segundo corpúsculo polar, também foi relatado por CASSANI & CATON (1986), em carpa capim, *Ctenopharyngodon idella*, por DON & AVTALION (1986), em tilápia, *Oreochromis aureus* e por DIAZ et alii (1993), em truta arco-íris. Desse modo, para se obter uma maximização na taxa de triploidização, a qualidade do ovo é uma condição fundamental e isto pode ser alcançado trabalhando em períodos em que a temperatura da água ambiente esteja dentro dos limites favoráveis para a maturação final dos ovócitos (DIAZ et alii, 1993).

O tempo em que o tratamento é iniciado também pode ser crítico para impedir a eliminação do 2º corpúsculo polar. Se o tratamento for aplicado durante ou posteriormente a anáfase II, a segunda divisão meiótica não pode ser interrompida e portanto não resultará na produção de triplóides. De acordo com IHSEN et alii (1990), o tratamento deve ser aplicado logo após a fertilização, até cerca de 20 minutos decorridos da ativação.

O efeito da temperatura ambiente (água de desova e incubação) e a sua relação com a produção de triplóides foi relatada por DIAZ et alii (1993). Para uma mesma temperatura de choque térmico (26,5 °C), verificou-se que temperaturas mais baixas (entre 6 e 8 °C) da água ambiente, proporcionaram maiores taxas de triploidia do que quando comparadas às temperaturas entre 12 e 14 °C, isto é, dentro das condições estudadas, tratamentos com maior diferencial térmico geraram melhores resultados na triploidização.

De modo geral, os resultados aqui obtidos, se enquadram dentro do perfil de mortalidade observado nos experimentos de indução à triploidia por choque térmico, em truta arco-íris, (LINCOLN & SCOTT, 1983; HAPPE; QUILLET; CHEVASSUS, 1988; GUO; HERSHBERGER; MYERS, 1990), que mostram a ocorrência de uma maior taxa de mortalidade nos triplóides do que nos controles diplóides, durante os primeiros meses de vida, sobretudo na fase embrionária, enquanto que nas fases posteriores do desenvolvimento ocorre uma inversão deste perfil.

HAPPE; QUILLET; CHEVASSUS (1988) reportam que a taxa de sobrevivência dos triplóides foi significativamente menor do que a dos diplóides, na fase de ovos olhados. Entretanto, esta diferença não foi observada nas fases posteriores à eclosão e primeira alimentação. No presente trabalho, a mortalidade associada à triploidização foi mais intensa no período de desenvolvimento embrionário, sobretudo na fase compreendida entre a eclosão e a transição para alevino. Contudo, deve-se ressaltar que esta mortalidade foi observada, também, nos grupos diplóides, quando da determinação da taxa de alevinagem, sugerindo que o manejo adotado neste experimento contribuiu para a redução da sobrevivência. A eclosão ocorreu nos fundos de caixas plásticas, onde os ovos foram depositados diretamente, não possibilitando, deste modo, o sistema de fluxo

ascendente de água, que promoveria uma oxigenação adequada dos embriões, como nas incubadoras convencionais.

As taxas de ovos olhados e de sobrevivência global obtidas neste trabalho, foram inferiores às citada por BROMAGE & CUMARANATUNGA (1988), segundo os quais, a expectativa de sobrevivência sob condições comerciais é de 80% na fase de ovos olhados e de 60% na fase de início de alimentação.

Como as condições de incubação e manejo variam de acordo com cada estabelecimento de produção, as taxas de sobrevivência relativa, isto é, as taxas de sobrevivência dos triplóides em relação aos seus controles diplóides, permitem uma melhor comparação da viabilidade entre diferentes experimentos.

Os valores obtidos no presente trabalho encontram-se bem próximos daqueles relatados por HAPPE; QUILLET; CHEVASSUS (1988), que obtiveram taxas de sobrevivência relativas de 84,7% no estágio de ovos olhados e de 97,9% na fase de alevinagem, sendo a redução global de sobrevivência, ao início da alimentação, de 21,3% em relação ao controle diplóide.

A diminuição da taxa de sobrevivência nos grupos fertilizados com sêmen de fêmeas masculinizadas, tanto nas parcelas tratadas com choque térmico, quanto nas parcelas controle, provavelmente ocorreu devido à baixa qualidade do sêmen dessas fêmeas. Esse efeito estendeu-se até a fase de determinação da taxa de alevinagem, principalmente nas parcelas que receberam choque térmico, onde foram verificadas as menores taxas de sobrevivência, sugerindo que houve uma continuação do efeito deletério do sêmen das fêmeas após a fase de ovos olhados.

BYE & LINCOLN (1986) submetem ovos 100% femininos (resultantes da fertilização de ovos normais com sêmen de fêmeas masculinizadas) a choque térmico de 28 °C, por 10 minutos, decorridos 40 minutos da fertilização e obtiveram taxas de triploidização acima de 90%. Porém, a sobrevivência, ao início da alimentação foi baixa, variando entre 20 e 40%. Segundo estes autores, a ausência de ductos espermáticos nas fêmeas masculinizadas acarreta a diminuição da qualidade do sêmen. Melhorias subsequentes no método de reversão sexual, com o propósito de se obterem fêmeas com ductos funcionais, aumentaram a sobrevivência sem reduzir significativamente a taxa de triploidia.

Os testículos de fêmeas masculinizadas apresentam-se, geralmente, alterados morfológicamente, com aspecto globular e ductos espermáticos ausentes ou com constrictões que comprometem a liberação do sêmen pela compressão abdominal. Nestes casos, a utilização do sêmen é possível mediante o sacrifício dos animais e a maceração dos testículos. Este procedimento provoca uma perda da qualidade do sêmen, uma vez que formas ainda imaturas de espermatozoides estão presentes no fluido espermático em grande quantidade.

No presente experimento, o sêmen de fêmeas foi obtido pela compressão abdominal e nesses casos o volume disponível é geralmente bastante reduzido devido às alterações morfológicas acima descritas.

Não foram investigadas neste trabalho as causas da diminuição da qualidade do sêmen das fêmeas.

Entretanto, presume-se que uma avaliação da motilidade espermática, realizada em amostras individualizadas antes de se constituir o "pool", poderia promover uma melhora significativa na viabilidade dos lotes monosssexos femininos, uma vez que o sêmen de fêmeas masculinizadas com ductos mostrou-se qualitativamente semelhante ao dos machos normais (KAVAMOTO, dados não publicados)\*.

Apesar de os grupos triploides apresentarem mortalidade superior à dos grupos diplóides durante as primeiras fases do desenvolvimento, a maior sobrevivência obtida após completarem o primeiro ano de vida compensaria as perdas iniciais provocadas pelo tratamento de indução à triploidia (GUO; HERSHBERGER; MYERS, 1990).

## 5. CONCLUSÕES

1. O tratamento de choque térmico a 28 °C (diferencial térmico de 18 °C), aplicado durante 20 minutos, com início 10 minutos após a ativação dos ovos, foi eficaz na indução de triploidia em truta arco-íris, resultando em 94,3% e 100% de triploidização, respectivamente, nos lotes monosssexos femininos e de sexos mistos.

2. Durante o período de desenvolvimento

embrionário, as taxas de sobrevivência dos triploides foram inferiores às dos diplóides, sobretudo na fase cleuroembrionária. As taxas de sobrevivência relativa dos grupos tratados com choque térmico quente em relação aos respectivos controles diplóides, determinadas ao início da alimentação, foram de 68,62% e 78,35%, respectivamente, para os lotes monosssexos femininos e de sexos mistos.

## AGRADECIMENTOS

Aos Auxiliares de Pesquisa Científica e Tecnológica da Estação Experimental de Salmonicultura "Dr. Ascânio de Faria": Miguel dos

Santos, Luiz Roberto da Silva e Antonio Donizeti da Silva, pela manutenção dos animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, M. 1993 *Efeito da triploidia induzida na taxa de regeneração da nadadeira caudal em truta arco-íris, Oncorhynchus mykiss*. São Paulo. 106 p. (Dissertação de Mestrado. Departamento de Fisiologia Geral. Instituto de Biociências, USP).

BENFEY, T.J.; SOLAR, I.I.; JONG, G.; DONALDSON, E.M. 1986 Flow-cytometric confirmation of aneuploidy in sperm from triploid rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, Galveston, 115:838-40.

BENFEY, T.J.; SUTTERLIN, A.M.; THOMPSON, R.J. 1984 Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, Ottawa 41:980-4.

BROMAGE, N. & CUMARANATUNGA, R. 1988 Egg production in the rainbow trout. In: MUIR, J.F.; ROBERT, R.J., (eds.) *Recent Advances in Aquaculture*, Portland, 3:64-138.

BYE, V.J. & LINCOLN, R.F. 1986 Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, Amsterdam, 57:299-309.

\* KAVAMOTO, E.T. - Instituto de Pesca - São Paulo - SP

TABATA, Y. A.; RIGOLINO, M. G.; NAGATA, M.K. 1997 Produção de lotes monossexos femininos triploides de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. I - Sobrevivência dos embriões. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 24 (único): 47 - 55.

---

CASSANI, J.R. & CATON, W.E. 1986 Growth comparison of diploid and triploid grass carp under varying conditions. *The Progressive Fish-Culturist*, Washington, 48:184-7.

CHOURROUT, D. & QUILLET, E. 1982 Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies production of all triploid populations. *Theor. Appl. Genet.*, 63:201-5.

DIAZ, N.F.; ITURRA, P.; VELOSO, A.; ESTAY, F.; COLIHUEQUE, N. 1993 Physiological factors affecting triploid production in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, Amsterdam, 114:33-40.

DON, J. & AVTALION, R.R. 1986 The induction of triploidy in *Oreochromis aureus* by heat shock. *Theor. Appl. Genet.*, 92:186-92.

GUO, X.; HERSHBERGER, W.K.; MYERS, J.M. 1990 Growth and survival of intrastrain and interstrain rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) triploids. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21:(4):250-6.

HAPPE, A.; QUILLET, E.; CHEVASSUS, B. 1988 Early life history of triploid rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, Amsterdam, 71:107-18.

HUET, M. 1973 Salmonicultura o piscicultura en aguas frias. In: *Tratado de Piscicultura*, Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, p.94-175.

HUNTER, G.A.; DONALDSON, E.M.; STOSS, J.; BAKER, I. 1983 Production of monosex female groups of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawitscha*) by the fertilization of normal ova with sperm from sex-reversed female. *Aquaculture*, Amsterdam, 33:355-64.

IHSSEN, P.E.; MCKAY, L.R.; McMILLAN, I.; PHILLIPS, R.B. 1990 Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes: cytogenetic and fisheries applications. *Transactions of the American Fisheries Society*, Galveston, 119:698-717.

LINCOLN, R.F. & SCOTT, A.P. 1983 Production of all-female triploid rainbow trout. *Aquaculture*, Amsterdam, 30:375-80.

LINCOLN, R.F. & SCOTT, A.P. 1984 Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, Oxford, 25:385-92.

PIFERRER, F. & DONALDSON, E.M. 1989 Gonadal differentiation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, after a single treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis. *Aquaculture*, Amsterdam, 77:251-63.

PIMENTEL GOMES, F. 1966 *Estatística Experimental* 2<sup>a</sup> ed., Piracicaba, NOBEL, 430p.

QUILLET, E.; CHEVASSUS, B.; DEVAUX, A. 1988 Timing and duration of hatching in gynogenetic, triploid, tetraploid and hybrid progenies in rainbow trout. *Genet. - Sel. -Evol.* Versailles, 20(2):199-210.

SOLAR, I.I.; DONALDSON, E.M.; HUNTER, G.A. 1984 Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigation of early growth. *Aquaculture*, Amsterdam, 42:57-67.

TABATA, Y.A. & RIGOLINO, M.G. 1990 Masculinização de fêmeas genotípicas de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, com 17 $\alpha$ -metiltestosterona. in: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 3., São Paulo, 1990. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 57:46.

THORGAARD, G.H. 1986 Ploidy manipulation and performance *Aquaculture*, Amsterdam, 57:57-64.

\_\_\_\_\_ 1992 Application of genetic technologies to rainbow trout *Aquaculture*, Amsterdam, 100:85-98.

\_\_\_\_\_ ; JAZWIN, M.E.; STIER, A.R. 1981 Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, Galveston, 110:546-50.