

EFEITO DO CHOQUE TÉRMICO QUENTE EM OVOS DE TILÁPIA NILÓTICA (*Oreochromis niloticus*): TEMPO PÓS-FERTILIZAÇÃO E DURAÇÃO DO PROCESSO NA SOBREVIVÊNCIA DAS LARVAS

Mauricio CARRILLO Ávila¹ e Elizabeth ROMAGOSA^{2,3}

RESUMO

A aplicação de choques térmicos quentes em ovos de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, recém-fertilizados é empregada para bloquear a 2ª divisão meiótica ou inibir a 1ª clivagem, técnica essa aplicada para produzir populações monosssexo, estéreis ou poliplóides. Neste estudo foram realizados dois ensaios: 1º, utilizando tempos pós-fertilização (Tpf) de 50, 55 e 60 min e duração do choque térmico de 2 e 5 min.; e 2º, com tempos pós-fertilização de 24, 27 e 30 min e duração do choque de 5 e 8 min, em abril e dezembro de 2003, nos laboratórios do CAUNESP/UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. Somente as fêmeas foram induzidas à reprodução com HCG, resultando ser esse método eficiente na produção de gametas. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos (diferentes momentos de aplicação do choque térmico e tempos de duração do choque), nos dois ensaios, foram constatadas em relação à estimativa das taxas de sobrevivência das larvas. Porcentagens elevadas de animais deformados foram registradas. As baixas taxas de sobrevivência observadas, tanto nos grupos controle quanto nos tratamentos, indicam que a indução hormonal e a incubação (fertilização até eclosão) artificial afetam o desenvolvimento embrionário das larvas.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*; tetraploidia; choque térmico quente; macho monosssexo; larvas

EFFECT OF HOT THERMAL SHOCK IN EGGS OF TILAPIA NILÓTICA (*Oreochromis niloticus*): AFTER-FERTILIZATION TIME AND DURATION OF THE PROCESS IN THE SURVIVAL OF LARVAE

ABSTRACT

The application of hot thermal shock in the eggs of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, after the fertilization is employed to block the 2nd meiotic division or to inhibit the 1st cleavage. That technique is utilized to produce monosex population, sterile or polyploid. In this study, two assays were realized: 1st, utilizing after-fertilization times of 50, 55 and 60 min and duration of shock of 2 and 5 min; and the 2nd one, with after-fertilization times of 24, 27 and 30 min and duration of shock of 5 and 8 min, in April and December 2003, at the laboratories of CAUNESP/UNESP, Jaboticabal, SP, Brazil. Only the females were induced to spawn with GCH, showing the effectiveness of the process in the production of gametes. Significant differences ($P < 0.05$) among the treatments (moments of application and duration of the hot thermal shocks) in the two assays had been found, in relation to the estimative of the survival rates. Elevated percentual of deformed animals had been registered. The low survival rates observed in the control and in the treatment groups indicate that the artificial induction and incubation (fertilization to hatching) affect the embryonic development of larvae.

Key words: *Oreochromis niloticus*; tetraploidy; hot thermal shock; monosex male; larvae

Artigo Científico: Recebido em: 12/02/2005 – Aprovado em: 20/07/2005

¹ Mestre - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Centro de Aquicultura (CAUNESP), Câmpus de Jaboticabal, SP

² Pesquisador Científico - Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais - Instituto de Pesca - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) - Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA)

³ Endereço/Address: Av. Francisco Matarazzo, 455 - Água Branca, São Paulo, Brasil
CEP: 05001-900 - e-mail: eromagosa@pesca.sp.gov.br

INTRODUÇÃO

A tilápia *Oreochromis niloticus* é nativa da África, do Vale Jordão e da costa do Rio Palestina (Philippart e Ruwet, 1982, *apud* HERBST, 2002). Está distribuída em águas cálidas subtropicais, cujas temperaturas variam entre 25,0 e 30,0 °C (ESPEJO e TORRES, 2001). Esta espécie de peixe, quando criada em cativeiro, demonstra ser de fácil manejo, apresentando o valor de conversão alimentar aparente recomendado, alta produtividade e excelente desempenho reprodutivo (GUERRERO, 1982).

O maior desafio na criação de tilápias tem sido contornar o problema causado pelo grande número de desovas que as mesmas realizam durante um ciclo de produção, o que resulta em redução do crescimento e em baixos pesos comerciais. Em consequência, tal fato poderá gerar, em curto tempo, uma superpopulação nos viveiros, nos quais as larvas e alevinos competirão por espaço e alimento, afetando negativamente o rendimento do lote (TORRES, 1993; EL GAMAL *et al.*, 1999; BYAMUNGU *et al.*, 2001; SHELTON, 2002; MYERS, 2003). Logo, o criador tem optado por criar tilápias estéreis ou populações monossexo de machos, o que resulta em maior produção e melhores rendimentos (FELIP *et al.*, 1999).

Dentre as técnicas existentes para gerar populações monossexo de machos, podem-se citar a de manipulação cromossômica, como as poliploidias (triploidias, tetraploidias), a androgênese e ginogênese, as quais precisam da fertilização artificial dos gametas, a inativação do DNA e a aplicação de métodos físicos, como os choques térmicos (quentes ou frios) ou de pressão hidrostática, para impedir a efetivação da 2ª divisão meiótica ou a expulsão do 2º corpúsculo polar ou inibir a 1ª clivagem, ou seja, a 1ª mitose (MULLER-BELECKE e HORSTGEN-SCHWARK, 1995).

Este trabalho optou por analisar o efeito de choques térmicos quentes de diferentes durações (intensidade), aplicados em diferentes tempos pós-fertilização, na sobrevivência de larvas de tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Reprodução de Peixes, do Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, nos meses de abril e dezembro de 2003.

Os peixes foram separados por sexo em cinco caixas de cimento-amianto com capacidade de 1000 L

cada uma, dispostas em um sistema de circulação aberta, com renovação contínua de água e aeração permanente, mantendo-se médias de temperatura de 28,0 °C. As tilápias foram alimentadas "*ad libitum*" com ração balanceada com 32,0% P.B., oferecida uma vez ao dia, durante seis dias por semana.

Os machos, coletados aleatoriamente no momento da fertilização, não foram induzidos, devido à facilidade de liberação do sêmen através de compressão abdominal.

As fêmeas foram selecionadas pelas características sexuais secundárias, como abaulamento do abdome e abertura e/ou coloração da papila genital (CARRILLO e CHACÓN, 1995). Amostras de ovócito foram retiradas por meio de compressão abdominal, para a determinação do grau de desenvolvimento (HARVEY e HOAR, 1980), sendo fixadas em solução de etanol-formol e ácido sulfúrico (60:39:1) (CELIS e MARTINEZ, 1993), a fim de permitir a visualização da posição do núcleo (BRUZKA, 1979; CONTRERAS e CONTRERAS, 1993). Somente fêmeas que apresentavam 70,0% dos ovócitos com núcleo em posição excêntrica foram induzidas à reprodução (CARRILLO e CHACÓN, 1995), o que foi realizado através de injeções intramusculares do hormônio Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG) - PREGNYL (ORGANON DO BRASIL - 5000 IU), utilizando-se uma dose total de 5,0 UI/g de peso, dividida em duas injeções: a 1ª, correspondendo a 10%, na hora zero, e a 2ª, de 90%, aplicada 18 horas após a aplicação da 1ª dose. Transcorridas 24 horas da aplicação da última dose, pôde-se notar que 100% dos ovócitos apresentavam núcleo periférico. A seguir, os ovócitos de uma única fêmea foram usados para cada réplica e colocados em bacias plásticas limpas e secas. No momento da fertilização, 2,0 mL de sêmen, previamente retirado, foram diluídos, sendo os espermatozoides ativados em solução de 2,0 mL de NaCl (0,9%) e água, na proporção de 1:1. Esta solução foi colocada sob os ovócitos, quando então se registrou o tempo zero ou inicial da fertilização.

Para a retirada do sêmen, os machos receberam leves massagens abdominais, tomando-se o cuidado para que não ocorresse liberação de urina junto ao sêmen. Dessa forma, sêmen de um ou mais machos foi coletado momentos antes da extrusão dos ovócitos, com a finalidade de reduzir o tempo entre a extrusão dos ovócitos e a fertilização (HERBST, 2002).

Os ovócitos e o sêmen foram misturados durante dois minutos, e logo após este tempo realizaram-se

várias lavagens com água corrente para eliminar resíduos do sêmen. A seguir, os ovos foram divididos ao acaso em sete porções iguais, para a formação de grupos (6 grupos de tratamento e 1 grupo controle), e transferidos para o sistema de pré-incubação. A temperatura da água foi mantida em 28,0 °C com aquecedor (AT-100W), sendo medida com termômetro de vidro de 76,0 mm e escala de 10 a 60 °C. Cada grupo de ovos foi colocado em uma peneira de plástico de 5,0 cm de diâmetro, assim permanecendo até o momento da aplicação do choque térmico estabelecido.

Neste estudo, os tempos pós-fertilização para aplicação do choque térmico coincidiram com o início (2º ensaio) e com o final da 1ª mitose (1º ensaio). Esses tempos foram baseados naqueles utilizados por CARRILLO e CACHÓN (1995); EL GAMAL *et al.* (1999); e SHELTON (2002), para o 1º ensaio, e por MYERS *et al.* (1995); MARENGONI e ONOUE (1998); e HERBST (2002), para o 2º ensaio.

Na tabela 1 apresentam-se dados relativos aos dois ensaios, como o tempo pós-fertilização dos ovos (Tpf) para aplicação do choque térmico e a duração do choque térmico aplicado. Uma vez transcorrido cada tempo pós-fertilização (Tpf) em cada tratamento, os grupos de ovos, contidos nas peneiras, foram imediatamente submetidos ao choque térmico (banho-termostático a 41,0 °C), durante os tempos de duração (Tc) estabelecidos.

Tabela 1. Tempos pós-fertilização dos ovos (Tpf - min) e Tempo (duração) dos choques térmicos quentes (Tc - min) utilizados em cada ensaio realizado com tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*

ENSAIO	TEMPO PÓS-FERTILIZAÇÃO (Tpf - min)	DURAÇÃO DO CHOQUE (Tc - min)
1º	0 (controle)	0
	50; 55; 60	2; 5
2º	0 (controle)	0
	24; 27; 30	5; 8

Após os tratamentos, os ovos foram levados para incubadoras cônicas, em sistema de circulação fechada, com fluxo de água descendente, renovação constante da água e temperatura da água controlada

(28,0 °C). Diariamente até a fase de eclosão, os ovos gorados eram retirados, sendo a taxa de sobrevivência estimada uma semana após a eclosão das larvas.

A partir do 5º dia após a eclosão, as larvas passaram a receber alimento finamente moído, com 38,0% de P.B., e *Artemia salina*, até que ocorresse a reabsorção total do saco vitelínico e que as larvas se tornassem independentes, ou que passassem a nadar livremente.

Delineamento experimental

O experimento foi realizado em um delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos em esquema fatorial 3 x 2, isto é, composto por 3 tempos pós-fertilização (Tpf), e 2 tempos de choque térmico (Tc), e um grupo controle. O 1º ensaio era formado por duas réplicas, e o 2º, por quatro. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SAS, versão 8.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, a utilização da técnica de indução artificial de fêmeas de tilápia-do-Nilo com HCG foi efetiva na obtenção de ovócitos e na aplicação de técnicas de manipulação cromossômica. Esses resultados contrastam com os apresentados por RANA (1988); BHUJEL (2000); e SHELTON (1998; 2000; 2002), que mencionam que as tilápias não respondem positivamente à indução hormonal. Entretanto, pôde-se notar neste experimento a presença de ovócitos atrésicos no momento da extrusão, ocorrência comum em tilápias e que influi nas taxas de fertilização e de eclosão (SHELTON, 1998; 2000).

O uso das peneiras no processo de aplicação de choques térmicos foi eficiente, facilitando o manejo dos grupos de ovos e permitindo rápida manipulação e transporte dos mesmos entre o sistema de pré-incubação e o banho-termostático, conforme também observado por HERBST (2002).

Através dos dados constantes das tabelas 2 e 3, pode-se verificar o efeito dos choques térmicos (41,0 °C) aplicados nos tempos pós-fertilização de 50, 55 e 60 minutos, com duração de 2 e 5 minutos (1º ensaio), e nos tempos pós-fertilização de 24, 27 e 30 minutos, com duração de 5 e 8 minutos (2º ensaio).

Neste experimento, com base nos resultados encontrados nas diferentes fases do processo de

desenvolvimento embrionário, as porcentagens de fertilização obtidas nos tratamentos aplicados foram similares às registradas por MYERS (1986); MARENGONI e ONOUE, (1998); EL GAMAL *et al.* (1999); e por KARAYUCEL e KARAYUCEL (2003). A diferença entre os tratamentos depende principalmente do estado fisiológico da fêmea utilizada e da heterogeneidade dos ovos no momento da fertilização, para os respectivos tratamentos (SHELTON, 2002).

Tabela 2. Valores médios das porcentagens de fertilização, eclosão e sobrevivência das larvas de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, uma semana após o término do 1º ensaio. Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo (duração) de choque térmico

Tratamento Tpf - Tc	Fertilização %	Eclosão %	Sobrevivência %
Controle	79,23	44,33	25,42
50 - 2	75,02	23,92	15,00
50 - 5	70,03	19,25	14,09
55 - 2	77,22	23,00	17,59
55 - 5	81,37	14,59	12,84
60 - 2	76,59	36,25	20,09
60 - 5	70,77	26,09	13,42

Tabela 3. Valores médios das porcentagens de fertilização, eclosão e sobrevivência das larvas de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, uma semana após o término do 2º ensaio. Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo (duração) de choque térmico

Tratamento Tpf - Tc	Fertilização %	Eclosão %	Sobrevivência %
Controle	68,60	9,92	5,83
24 - 5	64,03	33,29	18,04
24 - 8	67,93	11,59	1,49
27 - 5	67,95	30,65	18,68
27 - 8	70,53	12,79	5,15
30 - 5	68,30	36,02	20,25
30 - 8	71,18	18,60	9,85

Grande mortalidade de embriões pôde ser observada no período transcorrido entre o momento da fertilização e aquele da eclosão (Figura 1, A e B), verificando-se que a mortalidade decresceu entre o momento da eclosão durante a primeira semana de vida, mantendo-se a mesma tendência dentro dos tratamentos. Este fato foi verificado, também, por HUSSAIN *et al.* (1993); MARENGONI e ONOUE (1998); e SHELTON (1998).

Analizando a figura 1B, constata-se que a porcentagem de eclosão no grupo controle do 1º ensaio foi menor que a verificada nos outros grupos (tratados) e no grupo controle do 2º ensaio (Figura 1A). Neste estudo, as falhas provavelmente se devem ao sistema de incubação utilizado, fato este refletido nas baixíssimas ou nulas taxas de eclosão registradas em várias réplicas desse grupo controle.

Segundo SHELTON (2000; 2002), baixas taxas de sobrevivência podem ser devidas ao mecanismo de manipulação durante a desova das tilápias (extrusão dos gametas, fertilização *in vitro* e incubação artificial), o qual pode afetar os índices de mortalidade, diferente do que se verifica quando o sistema é o de incubação natural. De acordo com MYERS (1986), as taxas de sobrevivência podem variar até a fase de formação dos olhos. Entretanto, ARAI (2001) descreveu que as técnicas para inibir a primeira clivagem nos ovos geralmente resultam em baixas taxas de sobrevivência.

No 1º ensaio não foram registradas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os valores médios das porcentagens de fertilização nos diferentes tratamentos (Tabela 4). Entretanto, no 2º ensaio, as diferenças entre os valores dessa variável registrados nos diferentes tratamentos foram significativas ($P < 0,05$).

Os valores médios das porcentagens de eclosão (Tabela 4) indicam que no 1º ensaio as diferenças foram significativas ($P < 0,05$) entre os blocos, diferenças essas que podem ser atribuídas às fêmeas utilizadas ou ao sistema de incubação empregado (MYERS, 1986; MAIR, 1993; SHELTON, 2002) ou, ainda, à qualidade dos ovos, a qual pode ser um fator determinante do êxito dos ensaios (BORGERS *et al.*, 1994).

Considerando as diferenças significativas registradas entre os grupos controle e os tratamentos, constata-se que no grupo controle o valor médio de taxa de eclosão (44,33%) foi maior, indicando que o choque térmico pode ter afetado o desenvolvimento dos ovos. Nos tratamentos em que o choque teve duração de 2 minutos, o número de larvas eclodidas foi maior que no tratamento com 5 minutos, entretanto, essas diferenças não foram significativas (Tabela 4).

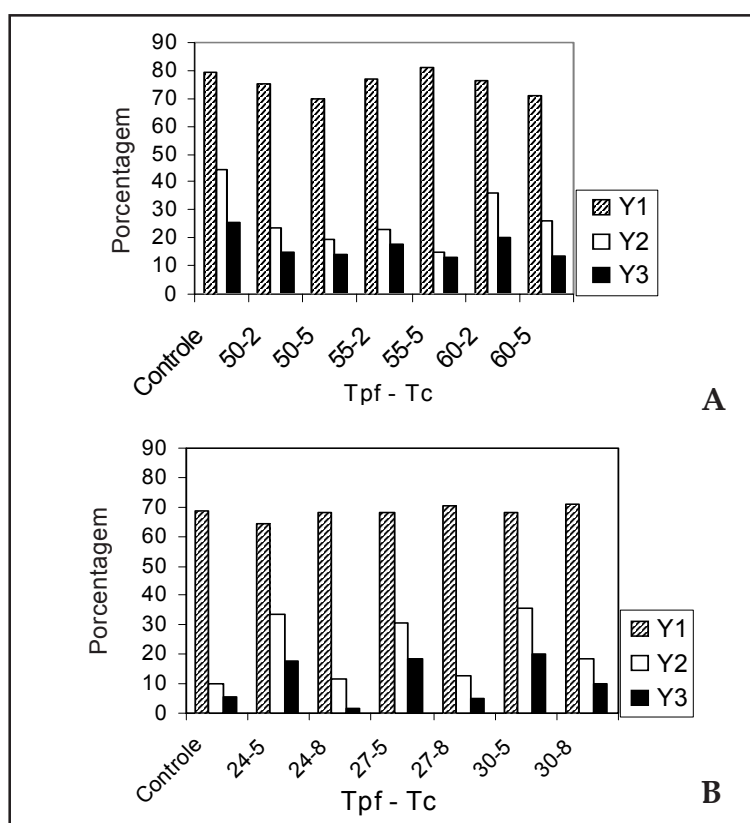


Figura 1. Valores médios das porcentagens de fertilização (Y1), eclosão (Y2) e sobrevivência (Y3) das larvas de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, uma semana após o 1º ensaio (A) e o 2º ensaio (B). Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo de choque térmico

Tabela 4. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias das porcentagens de fertilização, eclosão e sobrevivência, nos tratamentos com choque térmico quente em tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo (duração) de choque térmico; Pr=Probabilidade; Tpf 1=50 min; Tpf 2=55 min; Tpf 3=60 min; Tc 1=2 min; Tc 2=5 min

ESTATÍSTICA	VARIÁVEL (%)		
	Fertilização (Pr < F)	Eclosão (Pr < F)	Sobrevivência (Pr < F)
<i>F para:</i>			
Bloco	3,50 (0,1106)	37,55 (0,009) *	207,17(<,0001) *
Controle-vs-Fatorial	1,69 (0,2410)	17,46 (0,0058) *	31,02 (0,0014) *
Tpf	3,04 (0,1223)	4,09 (0,0757)	0,95 (0,4384)
Tc	0,87 (0,3859)	4,37 (0,0815)	9,39 (0,0221) *
Int Tpf*Tc	1,79 (0,2453)	0,19 (0,8305)	1,59 (0,2793)
CV (%)	5,47	23,97	13,74
<i>Médias para:</i>			
Controle	79,29	44,33 ^A	25,42 ^A
Tpf 1	72,55	21,58 ^B	14,54 ^B
Tpf 2	79,29	18,79 ^B	15,21 ^B
Tpf 3	73,68	31,17 ^B	16,75 ^B
Tc 1	76,29	27,72 ^B	17,56 ^{Ba}
Tc 2	74,05	19,97 ^B	13,45 ^{Bb}

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

* diferenças significativas ($P < 0,05$).

No tratamento 55 – 5, a taxa de mortalidade de ovos foi a mais elevada, pois a taxa de fertilização foi de 81,37%, e a de eclosão das larvas, 14,59% (Tabela 2). Os tratamentos de 60 – 2 e 60 – 5 apresentaram menor taxa de mortalidade nesse período em relação aos outros tratamentos.

No 2º ensaio (Tabela 5) não foram registradas diferenças significativas entre os grupos em relação à porcentagem de eclosão, devido, principalmente, ao número de réplicas e à grande mortalidade ocorrida no grupo controle, o que fez com que os valores das médias neste grupo ficassem no mesmo intervalo. Entretanto, os valores dos tempos de choque térmico apresentaram-se no limite da significância, indicando que o tempo de exposição à mesma temperatura (41,0 °C) influenciou sobre a eclosão das larvas nos diferentes tratamentos.

No 1º ensaio, os valores médios das porcentagens de sobrevivência das larvas (Tabela 4), assim como se verificou em relação às taxas de eclosão, apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os blocos, como também entre o grupo controle e os tratamentos. O grupo controle (Figura 1A) manteve a mesma tendência, mas foram registradas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tempos de duração do choque,

pois, no tratamento com tempo de 2 minutos, o número de animais sobreviventes foi maior que naquele com tempo de 5 minutos. Da mesma forma, à medida que o tempo pós-fertilização aumentou, a taxa de sobrevivência também aumentou.

No 2º ensaio (Tabela 5) também foram registradas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os valores das variáveis medidas nos dois tempos de duração do choque térmico, mostrando que a taxa de mortalidade no tratamento com tempo de 8 minutos foi superior àquela registrada no tratamento com tempo de 5 minutos. Esses resultados indicam que a taxa de desenvolvimento é inversamente proporcional à duração do choque térmico (SHELTON, 1998). No entanto, MYERS (1986) menciona que as variações nas respostas das diferentes variáveis podem ser devidas às características das fêmeas e ao tipo de sistema de incubação (MAIR, 1993; SHELTON, 2002), os quais provavelmente confundem a interpretação dos dados obtidos nos ensaios. Observações realizadas por SHELTON (1999) mostram baixas taxas de sobrevivência de ovos fertilizados *in vitro* ou em sistema artificial, em razão, principalmente, do tipo de incubação ou da fase de desenvolvimento dos ovos.

Tabela 5. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias das porcentagens de fertilização (Y1), eclosão (Y2) e sobrevivência (Y3), nos tratamentos com choque térmico quente em tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo (duração) de choque térmico; Pr=Probabilidade; Tpf 1=24 min; Tpf 2=27 min; Tpf 3=30 min; Tc 1=5 min; Tc 2=8 min

ESTATÍSTICA	VARIÁVEL (%)		
	Fertilização (Pr < F)	Eclosão (Pr < F)	Sobrevivência (Pr < F)
<i>F para:</i>			
Bloco	37,02 (< 0,0001) *	1,20 (0,1556)	1,96(0,1556)
Controle-vs-Fatorial	0,00 (0,9473)	1,54 (0,2317)	0,83 (0,3733)
Tpf	0,55(0,5886)	1,10 (0,3550)	0,37 (0,6976)
Tc	0,95 (0,3420)	4,28 (0,0542)	6,56 (0,0197) *
Int Tpf*Tc	0,02 (0,9844)	0,53 (0,5973)	0,11 (0,8947)
CV (%)	11,44	25,96	21,10
<i>Médias para:</i>			
Controle	68,60	0,63	0,59
Tpf 1	65,98	0,76	0,63
Tpf 2	69,24	0,68	0,65
Tpf 3	69,74	0,83	0,69
Tc 1	66,76	0,84	0,73 ^a
Tc 2	69,86	0,68	0,58 ^b

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

* diferenças significativas ($P < 0,05$).

Ressalta-se, no presente trabalho, a ocorrência de algumas larvas ou exemplares juvenis de tilápia nilótica, resultantes dos tratamentos aplicados, com algum tipo de anomalia ou deformidade, bem visíveis, não registradas no grupo controle. Pôde-se notar

alterações, como prognatismo em exemplares com boca reduzida, um único olho, escoliose e lordose (coluna vertebral com curvatura ou incompleta ou cuneiforme) (Tabela 6, Figura 2).

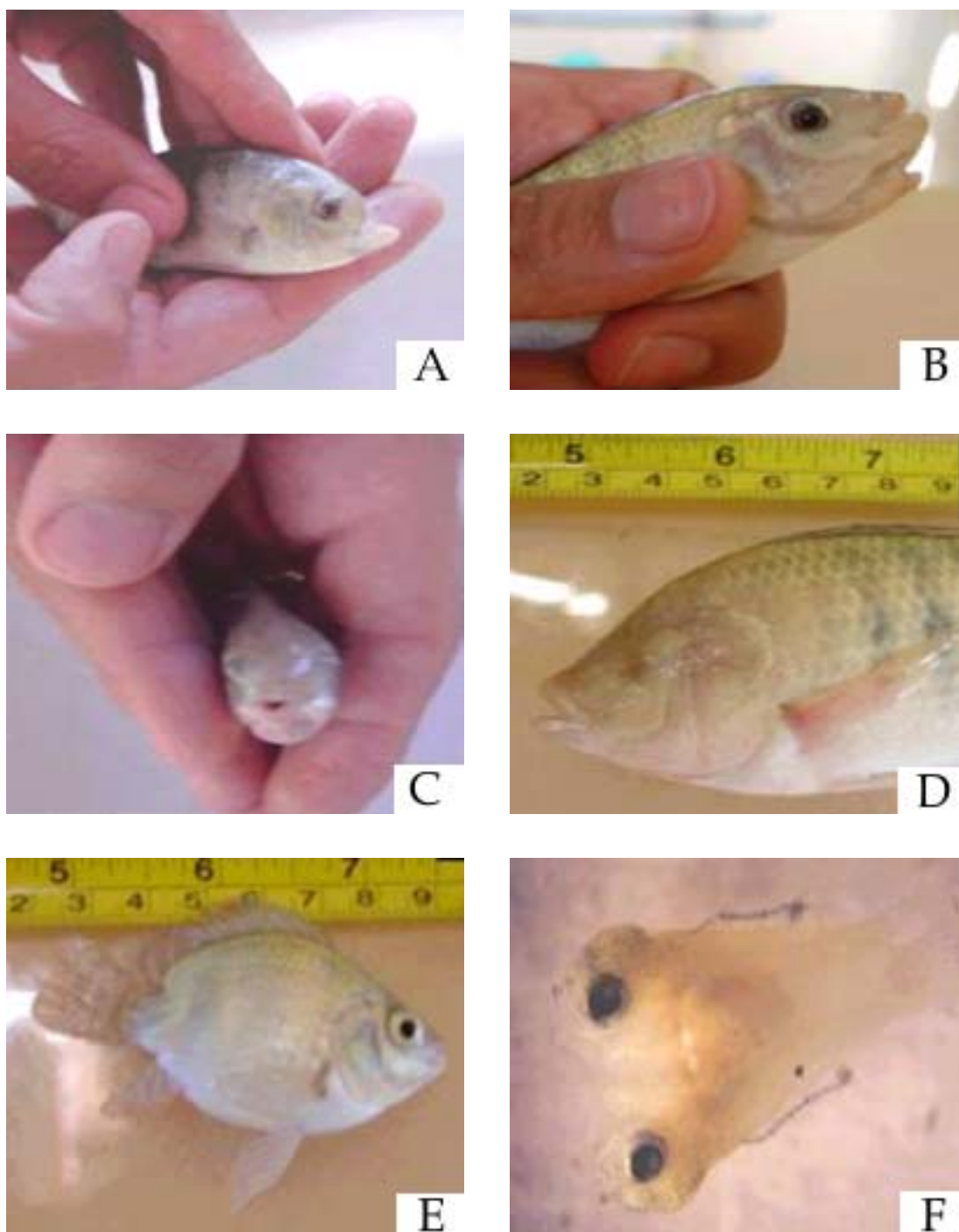


Figura 2. Deformidades em tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, submetida a tratamento com choque térmico quente: A) ausência da maxila superior; B) maxila inferior deslocada; C) boca reduzida; D) ausência do olho esquerdo; E) escoliose e lordose (coluna vertebral com curvatura, incompleta ou cuneiforme); F) larvas siamesas (unidas pelo saco vitelínico)

Tabela 6. Porcentagem de indivíduos deformados registrados em diferentes tratamentos com choque térmico quente aplicado a embriões de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*. Tpf=Tempo pós-fertilização; Tc=Tempo (duração) de choque térmico

Ensaio	Tratamento Tpf - Tc	Inds. Deformados (%)
Primeiro	50 - 2	3,26
	55 - 2	5,41
	55 - 5	3,70
	60 - 2	2,78
Segundo	24 - 5	10,00
	27 - 5	20,00
	27 - 8	12,50
	30 - 5	5,26
Controle		0

É preciso destacar que na literatura também se encontram registros de ocorrência de anomalias como as anteriormente citadas. Sabe-se, ainda, que tais deformações podem estar associadas a fatores físicos, químicos, genéticos, à nutrição e/ou ao ambiente (BROWN e NUÑEZ, 2003). Estudos detalhados caracterizando as malformações e suas interações com fatores, como os anteriormente referidos, devem ser realizados, para o melhor entendimento das possíveis causas das anomalias. PANDIAN e VARADARAJ (1988) e CELIS e MARTINEZ (1993) registraram, respectivamente, taxas de deformidade variando de 3,45 a 16,34% e de 5,0 a 10,0%, alertando para o fato de que particular atenção deve ser dada à “linhagem” dos estoques de reprodutores.

No presente trabalho, a ocorrência de deformidades foi registrada na região da cabeça (maxila e olhos) (Figura 2). BROWN e NUÑEZ (2003), estudando larvas de *Hippoglossus hippoglossus*, observaram tais anomalias somente em animais criados em sistemas intensivos, com altos índices de luminosidade e sujeitos aos problemas nutricionais referidos anteriormente, mas não relataram ocorrência de peixes siameses em ambiente natural. Entretanto, encontraram-se na literatura relatos de ocorrência dessa anomalia em truta arco-íris e tilápia criadas em laboratório, fato esse que BROWN e NUÑEZ (2003)

atribuem à origem genética das matrizes. Também há evidências que, no caso de trutas submetidas a tratamentos com hormônios tireoidianos, tais malformações ocorram no momento da reabsorção do saco vitelínico.

CONCLUSÕES

No presente trabalho com tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, pôde-se constatar que:

1. A temperatura do choque térmico quente aplicado aos ovos do peixe teve efeito sobre a sobrevivência das larvas, nos diferentes tratamentos;
2. A taxa de sobrevivência das larvas variou consideravelmente em relação ao tempo pós-fertilização e foi inversamente proporcional à duração do choque térmico;
3. As baixas taxas de sobrevivência, registradas nos grupos controle, assim como nos tratamentos, indicam que tanto a indução hormonal, quanto a incubação artificial afetam o desenvolvimento do embrião;
4. A aplicação de choques térmicos quentes resultou em grandes porcentagens de animais deformados.

AGRADECIMENTOS

Os autores do trabalho são gratos aos Professores Dr. Fausto Foresti (UNESP/Botucatu, SP), Dr. Pedro Galetti (UFSCar/São Carlos, SP) e Dra Laura Satiko Okada Nakaghi (UNESP/Jaboticabal, SP), pelas valiosas sugestões e críticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAI, K. 2001 Genetic improvement of Aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. *Aquaculture*, 197: 205-228.
- BHUJEL, R.C. 2000 A review of strategies for the management of tilápia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. *Aquaculture*, 181: 37-59.
- BORGERS, A.B.J.; IN'T VELD, E.P.C.; ABO-HASHEMA, K.; BREMMER, I.M.; EDING, E.H.; KOMEN, J.; RICHTER, C.J.J. 1994 Androgenesis in common carp (*Cyprinus carpio* L.) using UV irradiation in a synthetic ovarian fluid and heat shocks. *Aquaculture*, 122: 119-132.
- BROWN, C.L. e NUÑEZ, J.M. 2003 *Disorders of Development*. Disponível em: www.cabi-publishin.org/Bookshop/RearingRoom/08951991262/1262ch1.pdf (18/12/2003).

- BRUZKA, E. 1979 The in vivo method of estimating the stages of oocytes maturation in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Hydrobiol.*, 21: 423-433.
- BYAMUNGU, N.; DARRAS, V.M.; KUHN, E.R. 2001 Grow of heat shock induced triploids of blue tilápia, *Oreochromis aureus*, reared in tanks and in ponds in Eastern Congo: feeding regimes and compensatory growth response of triploid females. *Aquaculture*, 198: 109-122.
- CARRILLO, M. e CHACÓN, M. 1995 *Ensayo de androgénesis diploide en tilápia roja mediante manipulación cromosomal*. Bogotá. 52p. (Tese de graduação. Universidade Jorge Tadeo Lozano).
- CELIS, C. e MARTINEZ, H. 1993 *Análisis de crecimiento y viabilidad entre monocultivos de poblaciones diploides y triploides de tilápia nilótica (O. niloticus)*. Bogotá. 152p. (Tese de Graduação. Universidade de Colômbia).
- CONTRERAS, P. e CONTRERAS, J. 1993 Reproducción inducida de peces tropicales. In: RODRIGUEZ, H.; POLO, G.; SALAZAR, G. (Ed.). *Fundamentos de Acuicultura Continental*. 1. ed. Bogotá: Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). 286p.
- DON, J. e AVTALION, R.R. 1988 Production of viable tetraploidy tilápias using cold shock technique. *Bamidgeh*, 40: 17-21.
- ESPEJO, C. e TORRES, E. 2001 Cultivo de las tilapias roja (*Oreochromis* spp.) y la plateada (*Oreochromis niloticus*). In: RODRÍGUEZ, H.; VICTORIA, P.; CARRILLO, M. (Ed.). *Fundamentos de Acuicultura Continental*. 2. ed. Bogotá: Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). 423p.
- EL GAMAL, A.A.; DAVIS, K.B.; JENKINS, J.A.; TORRANS, E.L. 1999 Induction of triploid and tetraploid in Nile tilápia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of the World Aquaculture Society*, 30: 269-275.
- FELIP, A.; ZANUY, S.; CARRILLO, M.; PIFERRER, F. 1999 Growth and gonadal development in triploid sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during the first two years of age. *Aquaculture*, 173: 389-399.
- GUERRERO, R.D. III. 1982 Control of tilápia reproduction. In: PULLIN, R.S.V. e Mc CONNELL (Ed.). *The biology and culture of tilápias*. Manilla: ICLARM Conference Proceedings, 7. / International Center for Living Aquatic Resources Management. 432p.
- HARVEY, B. e HOAR, W. 1980 *Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces*. Ottawa. 48p.
- HERBST, E.C. 2002 *Induction of tetraploidy in Zebrafish, Danio rerio and Nile Tilápia Oreochromis niloticus*. Carolina do Norte. 48p. (Dissertação de Mestrado. Universidade de North Carolina at Carlotte).
- HUSSAIN, M.G.; PENMAN, D.J.; McANDREW, B.J.; JOHNSTONE, R. 1993 Supression of first cleavage in the Nile tilápia, *Oreochromis niloticus* L. - a comparison of the relative effectiveness of pressure and heat shock. *Aquaculture*, 111: 263-270.
- KARAYUCEL, I. e KARAYUCEL, S. 2003 Optimization of UV treatment duration to induced haploid androgenesis en the Nile tilápia (*Oreochromis niloticus* L.). *J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 401-407.
- MAIR, G.C. 1993 Chromosome-set manipulation in tilápia - techniques, problems and prospects. *Aquaculture*, 111: 227-244.
- MARENGONI, N.G. e ONOUE, Y. 1998 Ultraviolet-Induced Androgénesis in Nile Tilápia, *Oreochromis niloticus* (L.), and hybrid Nile x blue tilápia, *O. aureus* (Steindachner). *Aquaculture Research*, 29: 359-366.
- MAY, B.; HENLEY, K.J.; KRUEGER, C.C.; GLOSS, S.P. 1988 Androgenesis as a mechanism for chromosome set manipulation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 75: 57-70.
- MULLER-BELECKE A. e HORSTGEN-SCHWARK, G.S. 1995 Ex-determination in tilápia (*Oreochromis niloticus*). Sex ratio in homozygous gynogenetic progeny and their offspring. *Aquaculture*, 137: 57-65. 1995.
- MYERS, J. 1986 Tetraploids induction in *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 57: 281-287.
- MYERS, J.M.; PENMAN, D.J.; RANA, K.J.; BROMAGE, N.; POWELL, S.F.; McANDREW, B.J. 1995 Applications of induced androgenesis with tilápia. *Aquaculture*, 137: 149-160.

- PANDIAN, T. e VARADARAJ, K. 1988. *Techniques for producing all-male and all-triploid Oreochromis mossambicus*. p. 243-249. In: PULLIN, R.S.V.; BHUKASWAN, T.; TONGUTHAI, K.; MACLEAN, J.L. (Ed.). The second International Symposium on Tilapia in Aquaculture; ICLARM Conference Proceedings, 15. Manila: Department of fisheries, Bangkok, and International Center for Living Aquatic Resources Management. p.243-249.
- RANA, K. 1988 Reproductive biology and hatchery rearing of tilapia eggs and fry. In: MUIR, J.F. e ROBERTS, R.J. (Ed.). v. 3: *Recent Advances in Aquaculture*. Colorado: Westview Press. p.343-406.
- SHELTON, W.L. 1998 *Artificial propagation tilapia for chromosome manipulation*. In: BURKE, D.; BAKER, J.; GOETZE, B.; CLAIR, D.; EGNA, H. (Ed.). Oregon: Fifteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture. p.25-29.
- SHELTON, W.L. 1999 *Nile Tilapia Gamete Management for Chromosome Manipulation*. In: BURKE, D.; BAKER, J.; GOETZE, B.; CLAIR, D.; EGNA, H. (Ed.). Oregon: Fifteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture. p.25-29.
- SHELTON, W.L. 2000 *Methods for androgenesis techniques applicable to tilapia*. In: McELWEE, K.; BURQUE, D.; NILES, M.; EGNA, H. (Ed.). Oregon: Seventeenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture. p.51-55.
- SHELTON, W.L. 2002 *Monosex Tilapia Production through Androgenesis*. In: McELWEE, K.; LEWIS, K.; NIDIFFER, M.; BUITRAGO, P. (Ed.). Oregon: Nineteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture. p.1-9.
- TORRES, E. 1993 El cultivo de la mojarra plateada (*Oreochromis niloticus*) y la mojarra roja (*Oreochromis* sp.). In: RODRÍGUEZ, H.; POLO, G.; SALAZAR, G. (Ed.). *Fundamentos de Acuicultura Continental*. 1. ed. Bogotá: Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). p.193-205.