



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
ENGENHARIA DE AQUICULTURA



BRUNO AUGUSTO AMATO BORGES

IDENTIFICAÇÃO DE NEOMACHO
DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (QUOY e GAIMARD, 1824)
ATRAVÉS DO TESTE DE PROGÊNIE

FLORIANÓPOLIS

2015

BRUNO AUGUSTO AMATO BORGES

**IDENTIFICAÇÃO DE NEOMACHO
DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (QUOY e GAIMARD, 1824)
ATRAVÉS DO TESTE DE PROGÊNIE**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado a Universidade Federal de Santa Catarina, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro de Aquicultura, orientado pelo Professor Dr. Evoy Zaniboni Filho.

FLORIANÓPOLIS

2015

BRUNO AUGUSTO AMATO BORGES

**IDENTIFICAÇÃO DE NEOMACHO
DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (QUOY e GAIMARD, 1824)
ATRAVÉS DO TESTE DE PROGÊNIE**

BANCA EXAMINADORA:

Prof.º Dr. Evoy Zaniboni Filho

Profª. Dra. Anita Rademaker Valença

MSc. Luciano Weiss

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

À minha família, por tudo o que fizeram por mim para que eu pudesse concretizar meus objetivos.

À minha mulher, pelo apoio diário, pelas conversas e por compartilharmos tantos momentos juntos.

A toda equipe do LAPAD, pela amizade, pela paciência e por toda experiência que pude adquirir nesse período.

Ao Luciano Weiss, pelos ensinamentos, pela parceria no trabalho e pela confiança depositada desde o início do meu estágio.

Ao Evoy Zaniboni Filho, pela oportunidade de realizar o estágio final no LAPAD e pela orientação.

Aos meus amigos, pelos momentos de lazer e descontração, que foram fundamentais nesse período.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi identificar neomachos de *Rhamdia quelen* através de teste de progênie. Esse é um método indireto para a produção de lotes monosexo, que evita a aplicação de hormônio nos peixes destinados ao consumo humano, uma vez que o esperado no cruzamento entre neomachos e fêmeas normais são proles 100% femininas. Para os testes de progênie, machos fenotípicos cultivados por oito meses foram selecionados de um lote submetido à masculinização por ingestão de 17 α -metil-testosterona (MT) incorporado na ração na dose de 60mg/kg. Cinco machos foram cruzados com um “pool” de ovos de três fêmeas normais e as proles resultantes de cada cruzamento foram cultivadas por 150 dias para que a sexagem das gônadas pudesse ser realizada através da técnica do *imprint*. O teste do qui-quadrado evidenciou que um macho originou prole com maior proporção sexual de fêmeas ($P<0,05$), sendo 75,56%. Apesar de não serem proles 100% femininas, existe um forte indício de que este macho seja neomacho, porque a proporção sexual das demais proles apresentou maior presença de machos ou foi balanceada (1:1).

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo monosexo, masculinização, teste de progênie.

ABSTRACT

This study aimed to identify *Rhamdia quelen* neomales through progeny test. This indirect method of monosex production prevents the use of hormone in fish for human consumption, since the offspring 100% females it is expected theoretically crossing neomales with normal females. For progeny tests, 8-month-old phenotypic males were selected from a stock submitted to masculinization by ingestion of 17 α -methyl-testosterone (MT) incorporated in diet, at dose 60mg/kg. Five males were crossed with an egg pool of three normal female and the resulting offspring were grown up for 150 days for sex determination through *imprint* technique of the gonads. Chi-square test showed that female predominated ($P<0.05$) in at least one offspring of each MT dose, representing 75.56%. Although 100% female offspring was not produced, there is a strong cue that these phenotypic male are neomale, because the sex ratio of offspring from other males showed greater presence of males or was it balanced (1:1).

KEYWORDS: Monosex culture, masculinization, progeny test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O jundiá *Rhamdia quelen*.

Figura 2. Vista aérea do LAPAD.

Figura 3. Aplicação do hormônio extrato de pituitária da carpa (EPC) para indução a maturação final e espermição/desova.

Figura 4. Método de extrusão a seco. Macho à esquerda e fêmea à direita.

Figura 5. Tanques circulares de 100L onde foi realizada a larvicultura e a recria.

Figura 6. Juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* prontos para a realização do teste de progênie.

Figura 7. Incubadoras para a eclosão dos cistos de artêmia.

Figura 8. Diferenciação de sexo. Macho à esquerda e fêmea à direita.

Figura 9. Diferenciação no microscópio. Testículo à esquerda e ovário à direita.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sexagem da prole resultante do cruzamento entre fêmeas normais e machos provenientes dos tratamentos de masculinização com 60 mg/kg MT.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	JUSTIFICATIVA.....	11
3	OBJETIVO	11
4	METODOLOGIA	11
	4.1 LOCALIZAÇÃO.....	11
	4.2 DESOVA.....	12
	4.3 LARVICULTURA.....	14
	4.4 AVALIAÇÃO DO NEOMACHO.....	16
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6	CONCLUSÃO	19
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui imenso potencial para cultivo de peixes de água doce, visto que seu território apresenta mais de cinco milhões de hectares de lâmina d'água distribuídos entre lagos naturais e reservatórios de usinas hidrelétricas (AYROZA *et al.*, 2006).

O jundiá *Rhamdia quelen* (Figura 1) vive em lagos e poços fundos dos rios, preferindo os ambientes de águas mais calmas com fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação. É um bagre nativo da América Latina (SILFVERGRIP, 1996) que tem apresentado bom desempenho em viveiros de piscicultura, principalmente no sul do país, devido ao crescimento satisfatório mesmo durante o inverno (CARNEIRO *et al.*, 2002; FRACALOSSO *et al.*, 2004). Escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, de onde saem à noite, à procura de alimento (GUEDES, 1980). Os machos iniciam o processo de maturação gonadal com 13,4cm e as fêmeas com 16,5cm, porém, somente a partir de 16,5cm e 17,5cm, todos os exemplares machos e fêmeas, respectivamente, estão potencialmente prontos para reprodução (NARAHARA *et al.*, 1985).

Figura 1. O jundiá *Rhamdia quelen*.



A maturação sexual é um dos processos biológicos que mais afetam a produtividade, pois a energia que poderia ser direcionada ao crescimento é direcionada para a produção de gametas, resultando em menores taxas de crescimento e como consequência menor produtividade (BYE E LINCOLN, 1986). Com relação ao crescimento, as fêmeas de jundiá crescem em torno de 30% a mais que os machos até o momento da primeira maturação sexual (GRAEFF *et al.*, 2008).

Segundo a Planilha de produção anual da piscicultura de água doce do estado de Santa Catarina em 2013, divulgado pela EPAGRI, a produção total alcançou valores de 37.130 T sendo que o jundiá participa com 998 T.

Sendo uma espécie nativa, pode-se dizer que o seu cultivo em tanque-rede causará o mínimo de impactos ambientais relacionados ao escape de indivíduos e terá maior aceitação pelo mercado consumidor, que já conhece o seu sabor e a sua característica de carne.

Para um melhor aproveitamento desta espécie na piscicultura, são necessários mais estudos relacionados à nutrição, principalmente na fase da larvicultura. Além disso, o melhoramento genético também é um campo inexplorado para a espécie (GOMES *et al.*, 2000).

Várias pesquisas vêm sendo realizadas nesse intervalo de tempo no objetivo de melhor conhecer a espécie e suas exigências, com o objetivo de melhorar as técnicas de cultivo desenvolvendo um pacote tecnológico para a espécie, fomentando a sua produção.

Como para esta espécie as fêmeas apresentam maior ganho de peso que os machos, uma alternativa para intensificar a sua produção seria o cultivo monossexo de fêmeas, gerando também um lote mais homogêneo.

A produção de um lote monossexo feminino pela técnica hormonal pode ser conduzida de duas maneiras, direta, pelo fornecimento de hormônios estrógenos durante os estágios iniciais do desenvolvimento, ou, indireta, pela masculinização de fêmeas genotípicas com hormônios andrógenos para posterior fertilização de óvulos normais com o sêmen dessas fêmeas masculinizadas, denominadas neomachos (PIFERRER e DONALDSON, 1989).

Atualmente é bastante realizada a técnica de inversão sexual direta para o jundiá *R. quelen*, utilizando o hormônio estrógeno 17β -estradiol nos primeiros 21 dias de larvicultura, porém, esse método é bastante criticado pelo fato do peixe destinado ao consumo ter recebido hormônio em alguma fase da sua vida. Além disso, alguns países que importam pescado brasileiro não aceitam tais práticas.

Sendo assim, optou-se pela masculinização dos reprodutores, com o objetivo de gerar prole 100% fêmea, de modo que apenas os reprodutores recebam hormônio e não os indivíduos destinados à alimentação humana, método denominado de reversão sexual indireta.

A reversão sexual indireta é um método bastante difundido, que consiste na masculinização de fêmeas genotípicas com a utilização de hormônio 17α -metil-testosterona, originando os neomachos, e posterior fertilização dos ovócitos de fêmeas normais (fêmeas fenotípicas e genotípicas) com o sêmen de neomachos, fazendo com que a progênie resultante

contenha, teoricamente, 100% de fêmeas, uma vez que os neomachos serão fenotipicamente machos, porém mantém as características genóticas de fêmeas.

2 JUSTIFICATIVA

Obtenção de prole fêmea monossexo através da reversão sexual indireta é um método muito interessante já que é aplicado hormônio apenas nos reprodutores e não nos indivíduos destinados ao cultivo. Já que a taxa de crescimento do jundiá é maior em fêmeas do que em machos, a produção monossexo feminino é uma ótima alternativa para a espécie. Uma melhoria para o cultivo do jundiá seria produzir prole monossexo fêmea para obter maior crescimento e uniformidade de lote, intensificando assim a sua produção, que possui um enorme potencial no sul do país. Sendo assim, se faz necessário induzir e identificar os indivíduos neomachos, através da avaliação da composição da prole quanto à proporção sexual.

3 OBJETIVO

Induzir e identificar exemplares neomachos de jundiá *Rhamdia quelen* através do teste de progênie.

4 METODOLOGIA

Todos os procedimentos experimentais adotados seguiram o protocolo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (PP00788).

4.1 LOCALIZAÇÃO

O presente projeto foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD) (Figura 2), localizado no bairro do Morro das Pedras, Florianópolis –

SC, próximo a Lagoa do Peri. Este trabalho é vinculado ao projeto de tese de doutorado do MSc. Luciano Augusto Weiss.

O experimento foi realizado em um dos sistemas de recirculação do laboratório. O laboratório possui três sistemas de recirculação independentes, com filtro rotativo, biofiltro, filtro de areia, trocador de calor e soprador de ar, tornando o ambiente de cultivo passível de ser controlado.

Figura 2. Vista aérea do LAPAD.



4.2 DESOVA

Para a realização do experimento, foram selecionados cinco machos fenotípicos (que podem ser geneticamente machos ou fêmeas) dentro de um lote de indivíduos que foram tratados com o hormônio 17α -metil-testosterona com uma dosagem de 60mg/kg através do fornecimento de ração durante 21 dias de larvicultura, no início do ano de 2014, para induzir a masculinização do lote.

Cada um dos cinco indivíduos foi identificado através da incorporação de transponder do tipo PIT-Tag. Foram realizados cruzamentos desses indivíduos utilizando o sêmen de cada macho para fertilizar com um “pool” de ovos originários de duas fêmeas.

Previamente à desova as fêmeas receberam duas doses (0,5 mg/kg e 5,0 mg/kg) de extrato de pituitária da carpa (EPC) (Figura 3), com intervalo de 12 horas. Já os machos

receberam apenas uma dose do mesmo hormônio (0,4 mg/kg) no mesmo momento de aplicação da segunda dose das fêmeas.

Figura 3. Aplicação do hormônio extrato de pituitária da carpa (EPC) para indução a maturação final e espermição/desova.



Os gametas foram obtidos pelo método de extrusão a seco (Figura 4). Os óvulos e espermatozoides foram recolhidos separadamente para posterior mistura ainda a seco, sendo que a fertilização ocorre através da adição de água. Os ovos fertilizados foram posteriormente incubados em incubadoras (cilindro-cônicas) de 10L abastecidas pelo sistema de recirculação de água.

Figura 4. Método de extrusão a seco. Macho à esquerda e fêmea à direita.



Durante a realização da extrusão foi tomado bastante cuidado para aumentar as chances de sucesso na reprodução, tais como manter os recipientes e as mãos secos para que

não haja ativação dos espermatozoides ou a hidratação dos ovócitos prematuramente, podendo reduzir as taxas de fertilização.

4.3 LARVICULTURA

A larvicultura ocorreu em tanques circulares de 100L (Figura 5) e a densidade de estocagem foi de 40 larvas por litro. Foram monitorados os parâmetros de qualidade da água (oxigênio dissolvido, pH, salinidade e condutividade) através das medições realizadas diariamente nos sistemas de recirculação do LAPAD.

Figura 5. Tanques circulares de 100L onde foi realizada a larvicultura e a recria.



A alimentação das larvas foi feita pela adição de náuplios de artêmia fornecida nos primeiros 20 dias. Posteriormente foi realizada a transição alimentar e fornecida a ração comercial microfloculada da Alcon com 45% PB (proteína bruta), somada a adição de farinha de fígado de boi, produzida dentro do próprio laboratório. Após aproximadamente 30 a 45 dias, dependendo do crescimento dos peixes, passou a ser ofertado como alimento a ração comercial de 1mm da Guabi 45% PB.

Figura 6. Juvenis de jundiá *Rhamdia quelen* prontos para a realização do teste de progênie.



A artêmia foi preparada em incubadoras de 1,5L (Figura 7) em uma densidade de 2g de cistos por litro, em salinidade 30g/L e pH 8. Além disso, após a eclosão os náuplios de artêmia foram submetidos a um processo de enriquecimento, utilizando para isso uma emulsão preparada no próprio laboratório. Esse processo de enriquecimento parece ter sido fundamental para o sucesso na larvicultura, que é uma fase considerada crítica para diversas espécies devido à falta de conhecimentos de exigência nutricional nessa fase de vida. Alguns trabalhos já foram realizados com o jundiá comparando ganho em peso e crescimento para larvas alimentadas com náuplios de artêmia e alimento inerte, sendo que e os tratamentos envolvendo os náuplios de artêmia mostraram resultados superiores (BORGES NETO *et al.*,2013).

Figura 7. Incubadoras para a eclosão dos cistos de artêmia.



4.4 AVALIAÇÃO DO NEOMACHO

Após cinco meses de cultivo (um mês de larvicultura e quatro meses de recria) já foi possível à realização do teste de progênie dos indivíduos (Figura 6). O teste de progênie consiste basicamente na verificação do sexo de cada um dos indivíduos da prole através da observação das gônadas (Figura 8).

Figura 8. Diferenciação de sexo. Macho à esquerda e fêmea à direita.



Foram eutanasiados sessenta peixes de cada cruzamento através da imersão em solução com eugenol (60 ppm). Posteriormente foi procedida a abertura da cavidade abdominal, para a retirada das gônadas e observação do sexo. Quando não foi possível identificar o sexo macroscopicamente, o tecido gonadal foi colocado entre lâminas e observado no microscópio Leica[®] DM 3000 utilizando a técnica do *imprint*, possibilitando assim a verificação do sexo (Figura 9).

Figura 9. Diferenciação no microscópio. Testículo à esquerda e ovário à direita.



Na maioria dos casos pode ser verificado o sexo do indivíduo apenas ao abrir a cavidade abdominal e observar a gônada macroscopicamente, que se mostra esbranquiçada nos machos e amarelado-transparente nas fêmeas. Porém, algumas vezes foi necessária a aplicação da técnica do *imprint*, que consiste em prensar o tecido gonadal entre duas lâminas e observá-lo no microscópio. Após isso, fica evidente a diferença entre as gônadas masculinas e femininas. Enquanto nos machos é observado um aspecto parecido com “franjas”, nas fêmeas os ovócitos se tornam bem visíveis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos cinco indivíduos machos selecionados para a realização dos testes de progênie apenas quatro obtiveram sucesso na reprodução e geraram descendentes. Um dos indivíduos não espermeou mesmo depois da indução hormonal.

O comportamento normal nas proles de jundiá visto até então é a prevalência de machos em relação às fêmeas ou mesmo um equilíbrio na proporção de machos e fêmeas. A

avaliação da proporção entre os sexos foi feita com o uso do teste qui-quadrado ($p < 0,05$), considerando uma proporção esperada de 1:1. De maneira geral, o objetivo do teste qui-quadrado é comparar diferentes proporções ocorridas em um determinado caso, verificando o desvio entre a frequência ocorrida em relação àquela esperada.

Após a realização da sexagem da prole originária dos quatro cruzamentos, foi verificado que apenas uma das proles apresentou proporção sexual predominante de fêmeas ($p < 0,05$), sendo que duas das proles apresentaram predominância sexual de machos ($p < 0,05$) e a outra prole apresentou igualdade na proporção sexual.

Este resultado evidencia a dependência entre a proporção sexual da prole e o macho doador de sêmen (Tabela 1), já que as fêmeas utilizadas foram as mesmas para todos os cruzamentos com cada um dos machos.

Segundo Piferrer (2001) peixes que apresentam proporções sexuais na prole diferentes do esperado de 1:1 possuem mais de um par de cromossomos na determinação do sexo, ou ainda, são identificados através da presença de genes determinantes do sexo em cromossomos autossômicos, como ocorre com *Pseudoplatystoma corruscans*. A influência que esses genes autossômicos têm sobre a determinação sexual é a principal dificuldade encontrada quando se objetiva a produção de lotes monossexo para qualquer espécie.

Para o jundiá, reversão sexual direta através da feminilização utilizando hormônio estrógeno ministrado na dieta durante os primeiros 21 dias de larvicultura, nas dosagens de 90, 100 e 110 mg/kg de dieta, constatou maior proporção de fêmeas para a dosagem de 100mg/kg, com 79,4% (AMARAL JUNIOR *et al.*, 2008).

Já para a Tilápia do Nilo, 40mg/kg de 17α -metil-testosterona ministrado através da ração durante os primeiros 40 dias de larvicultura, reverteu sexualmente para machos 90 a 99% da população (CESAR *et al.*, 2015).

A presença de cromossomos sexuais e o sistema de determinação do sexo não está relatada para *R. quelen*. O resultado do presente trabalho sugere que a determinação do sexo do jundiá se dê através da presença de genes autossômicos, já que não foi obtida uma prole 100% feminina, além disso, houve diferença significativa tanto para maior proporção de machos quanto para fêmeas em distintos cruzamentos realizados neste trabalho.

Tabela 1. Sexagem da prole resultante do cruzamento entre fêmeas normais e machos provenientes dos tratamentos de masculinização com 60 mg/kg MT.

Peixe	Macho (%)	Fêmea (%)
1	53,33	46,67
2	76,67*	23,33
3	24,44	75,56*
4	70,00*	30,00
5	--	--

* Diferença significativa na proporção sexual pelo Teste do qui-quadrado ($P < 0,05$), considerando uma proporção esperada de 1:1.

6 CONCLUSÃO

A diferença apresentada com relação à proporção sexual com predomínio de fêmeas na prole gerada por um macho, que recebeu dosagem de 60mg/kg de 17 α -metil-testosterona, é um forte indicativo de que este animal seja neomacho, embora a prole gerada por esse indivíduo não seja 100% fêmea. Dessa forma, é de enorme importância a continuidade e o desenvolvimento dessa pesquisa para que sejam caracterizados os cromossomos sexuais da espécie, possibilitando o desenvolvimento de métodos que permitam a produção indireta de lotes monossexo de fêmeas para o jundiá *Rhamdia quelen*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL JUNIOR, H.; NUNES, M.F.S.; GARCIA, S. **Análise de diferentes dosagens de hormônio na ração, para definição de um protocolo de feminilização do jundiá *Rhamdia quelen***. Revista electrónica de Veterinaria, v.9, n.12. 2008.

AYROZA, D.M.M.R.; FURLANETO, F.P.B.; AYROZA, L.M.S. **Regularização dos projetos de tanques-rede em águas públicas continentais de domínio da união no estado de São Paulo**. Boletim Técnico do Instituto de Pesca, São Paulo, n.36, p1-32. 2006.

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

BORGES NETO, P.G.; DUTRA, F.M.; BALLESTER, E.L.C.; PORTZ, L. **Crescimento e sobrevivência das larvas do jundiá, *Rhamdia quelen*, alimentadas com alimento vivo enriquecido e dieta artificial**. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v.20, n.4, p. 216-221, 2013.

CARNEIRO, P.C.F.; BENDHACK, F.; MIKOS, J.D. **Jundiá: um grande peixe para a região sul**. Panorama da Aqüicultura, v.12, n.69, p.41-46, 2002.

CESAR, P.M.; MURGAS, S.D.L.; ARAÚJO, V.R.; DRUMMOND, D.C. **Métodos para obtenção de população monosexo na piscicultura**. Boletim agropecuário – Lavras – MG, ed. UFLA, nº 69, p. 1-27, 2015.

FRACALOSSI, D.M.; MEYER, G.; WEINGARTNER, M. **Criação do jundiá, *Rhamdia quelen*, e dourado, *Salminus brasiliensis* em viveiros de terra na região Sul do Brasil**. Acta Scientiarum, v.26, n.3, p.345-352, 2004.

FRACALOSSI, D.M. **No rastro das espécies nativas**. Panorama da Aqüicultura, São Paulo, v. 12, p.43-49. 2002.

GOMES, L. de C; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. **Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae)**. *Cienc. Rural* [online]. 2000, vol.30, n.1, pp. 179-185. ISSN 0103-8478.

GRAEFF. A.; SEGALIN, C.A.; PRUNER, E.N.; AMARAL JUNIOR, H. **Produção de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen***. Florianópolis: Epagri, 2008 p.34.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. Santa Maria – RS, 1980. 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, 1980.

NARAHARA, M.Y., GODINHO, H.M., ROMAGOSA, E. **Estrutura da população de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae)**. Boletim do Instituto de Pesca, v. 12, n. 3, p. 123-137, 1985.

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

PIFERRER, F. **Endocrine sex control strategies for the feminilization of teleost fish**. *Aquaculture* 197: 229-281, 2001

SILFVERGRIP, A.M.C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Stockholm: Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996. 156p. (PhD Thesis) - Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996.

SANTA CATARINA. EPAGRI. **Planilha de produção anual da piscicultura em Santa Catarina por espécie e por região**. 2013. Disponível em: http://www.epagri.sc.gov.br/?page_id=676. Acesso em: 10/05/2015.

