

RESUMO EXPANDIDO
XXVI Congresso de Iniciação Científica

MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA PREDIZER COEFICIENTES DE PARENTESCO E ENDOGAMIA EM TILÁPIAS NILÓTICAS PERTENCENTES A UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO

Letícia Ayana Máximo Tagashira¹

Letícia Rafaela de Moraes²

Caio Augusto Perazza³

Alexandre Wagner Silva Hilsdorf⁴

1. Discente do curso de Medicina Veterinária; e-mail: letagashiraa@gmail.com
2. Doutora pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: letimorais@yahoo.br
3. Doutora pela Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: caioperazza@gmail.com
4. Docente na Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: wagner@umc.br

Área de Conhecimento: Ciências Biológicas, Biologia Geral, Genética, Melhoramento Genético

Palavras-Chave: Pedigree Molecular; *Oreochromis niloticus*, STR.

Como citar:

Tagashira LAM, de Moraes LR, Perazza CA, Hilsdorf AWS. Marcadores microssatélites para predizer coeficientes de parentesco e endogamia em tilápias nilóticas pertencentes a um programa de melhoramento genético. Revista Científica UMC [Internet]. 27º de outubro de 2023;8(2):e080200042. Disponível em: <https://revista.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/1902>

Fluxo de revisão: o presente resumo expandido foi revisado por pares pela comissão do evento.

Recebido em: 11/09/2023

Aprovado em: 26/10/2023

ID publicação: e080200042

DOI:

Licença CC BY 4.0 DEED

INTRODUÇÃO

A disponibilidade mundial de organismos aquáticos, tanto oriundos da pesca quanto da aquicultura, chegou a aproximadamente 178,5 milhões de toneladas no ano de 2018 e desse montante, a aquicultura já representa 46% (FAO, 2020). Dentre as espécies criadas no Brasil, a tilápia continua sendo a mais produzida com 550.060 toneladas despescadas em 2022, o que representa 63,93% do total nacional (PEIXE BR, 2023). Ainda, possuem características organolépticas que interessam ao mercado consumidor, tais como carne saborosa, baixo teor de gordura, ausência de espinhas intramusculares em forma de “Y” (miosseptos) e excelente rendimento de filé de aproximadamente 35-40% em exemplares, com peso médio de 450 g (HILSDORF, 1995). A aplicação dos conceitos de Melhoramento Animal na Aquicultura ainda é incipiente quando comparado às espécies terrestres de importância econômica. O projeto da tilápia GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) começou em 1989 com a parceria entre vários órgãos de pesquisa e utilizaram indivíduos da espécie *Oreochromis niloticus* oriundos de diferentes países com os objetivos de melhorar o crescimento e fornecer plasticidade fenotípica, ou seja, uma tilápia que cresça em diferentes ambientes (BENTSEN, 1998). Ganhos genéticos de 85% para peso corporal após cinco gerações de seleção foram obtidos em tilápias (GJEDREM, 2014). O projeto GIFT demonstrou claramente o impacto que um programa de melhoramento genético pode ter sobre a produção de uma espécie, antes não considerada como uma commodity internacional, e atualmente sendo a quarta espécie aquícola mais importante em produção no mundo (FAO, 2020). Na literatura, encontram-se estudos que empregaram marcadores microssatélites na elaboração de pedigrees (SELVAMANI et al., 2001; HUVET et al., 2001). Além disso, os STR desempenham um papel fundamental na estimativa de parâmetros genéticos relacionados a fenótipos de interesse zootécnico e na identificação de relações de parentesco, destacando a sua importância, aliada ao manejo adequado dos animais, para promover o aumento do desempenho e da qualidade produtiva.

OBJETIVO

Predizer os coeficientes de parentesco e endogamia por meio de marcadores microssatélites em animais pertencentes a segunda geração de *Oreochromis niloticus* baseado nas variedades GIFT e Chitralada, para a confecção do pedigree e avaliação genética da geração subsequente.

METODOLOGIA

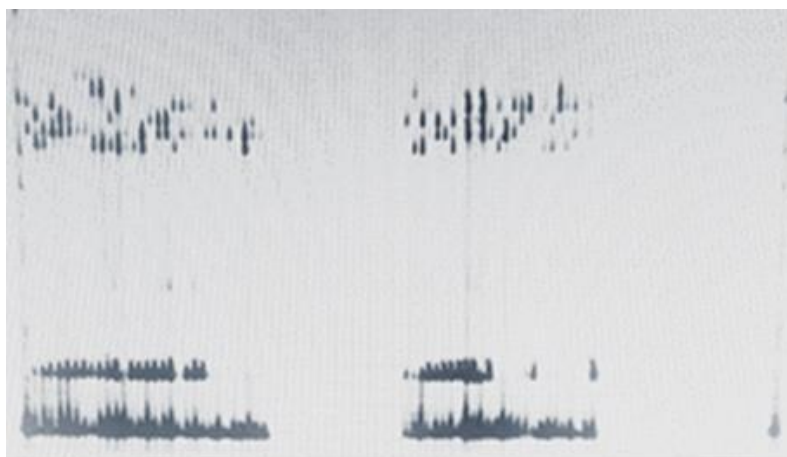
Neste trabalho foram utilizados 85 animais da geração F1 oriundos do acasalamento de duas variedades comerciais de tilápia *Oreochromis niloticus*, GIFT (EKNATH et al., 1993); e a Chitralada, ambas pertencentes ao plantel comercial da Ricardo Ferreira Bento - RFB Ltda. em Itupeva - SP. Os animais foram alocados em dois hapas com aproximadamente 40 animais cada com relação macho e fêmea de 1:1, e reproduziram-se ao acaso durante os meses de janeiro e fevereiro do ano de 2022. Posteriormente, houve a aplicação de PIT-Tags (identificação individual por meio de microchips), teste de desempenho e avaliação genética para formação da geração F2, composta por 55 animais. O DNA foi extraído da nadadeira caudal dos 120 indivíduos, seguindo o protocolo de extração salina (ALJANABI & MARTINEZ, 1997), posteriormente foi avaliado o grau de pureza e concentração por densidade óptica via espectrofotometria de microvolume (NANOVUE DNA da GE Healthcare®). A escolha dos loci STR genômicos de *Oreochromis niloticus* e amplificação foi baseada no trabalho realizado por FREITAS et al. (2020). Os amplicons foram visualizados em gel de agarose 2% e a determinação dos genótipos para cada locus, visando a verificação de polimorfismo, será realizada através do sequenciador semi-automático DNA Analyzer 4300, Li-Cor com análise estatística posterior por meio do software Coancestry, que se baseia nas frequências alélicas na geração das matrizes (G0) com uso de médias e variâncias dos coeficientes de parentesco. Dessa maneira, dez loci (OniUFPel01, OniUFPel02, OniUFPel03, OniUFPel04, OniUFPel05, OniUFPel06, OniUFPel07, OniUFPel08, OniUFPel09 e OniUFPel10) foram escolhidos para análise (figura 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi extraído o DNA da nadadeira caudal dos 140 indivíduos compreendendo 85 espécimes de geração F1 e 55 de geração F2. No total foram realizadas 1.400 reações de PCR as quais foram submetidas a eletroforese horizontal e posteriormente, com o uso do sequenciador semi-automático, foram executadas dez corridas em eletroforese vertical, empregando os dez primers previamente mencionados nos 55 indivíduos pertencentes à geração F2. Entretanto, apenas três locus apresentaram resultado efetivo até o momento, totalizando 385 leituras para posterior genotipagem.

Figura 1- Descrição dos dez marcadores STR genômicos (FREITAS et al., 2020).

Locus	Primer sequence (5' → 3')	TA (°C)	Repeat motif	Expected size (bp)	LG	PIC
OniUFPel01	F: TGAAGCTACAACCTTTGAAAACCA R: TGTGTTAGGGTTTCACTCCCA	54.0	(AATG) ₈	90-100	1	0.81
OniUFPel02	F: TTGCTAACGTATGTGTTTAAAGT R: GCGTAACTGATCACCACACT	52.6	(CTT) ₁₁	154	2	0.89
OniUFPel03	F: TATGGTCGGAAGGGTAAGACG R: CTCTTGGAAGAGTCTCTGTGGT	53.5	(AATC) ₉	220	6	0.67
OniUFPel04	F: GGGCACTCTAGCACAATGA R: CTACCAAGTGAGCATGAAATGT	59.8	(ATGG) ₁₂	290	7	0.86
OniUFPel05	F: TGGTGGGGTTTTTGAAGGCT R: GGAGCATTACCGCCTCCTAC	57.4	(AAAC) ₁₂	172	5	0.90
OniUFPel06	F: AGAACAACACATGTCGGGGA R: ACTGGTGTGCAGAGTACCAC	57.4	(AAAT) ₈	330	6	0.55
OniUFPel07	F: TCCTTACCATACTTTGTGTGC R: TCCTGCACTGTTCCTAGTGGTT	58.3	(AATG) ₈	122	7	0.94
OniUFPel08	F: ACTGGCCTGAAAGTGAGTGA R: CGGCGGTACATGTATTCCGT	57.4	(GAAA) ₁₂	227	8	0.94
OniUFPel09	F: GCTGGCAGCCTTAACCCAA R: TGTCCTTGGACTTTCGCACT	54.4	(AATC) ₁₂	126	1	0.83
OniUFPel10	F: GATTCGGTATCGCTGGAACT R: ACTCTCGATTGTGCTCCTGA	58.9	(AATC) ₁₂	334	10	0.92

Figura 2- Eletroforese vertical utilizando o primer OniUFPel01 nas 55 amostras de geração F2

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos é possível inferir que os reprodutores possuem variabilidade genética suficiente para apoiar o programa de seleção ao longo das gerações. Além disso, com a utilização de marcadores microssatélites será viável averiguar as relações parentais entre os animais F1 e F2, possibilitando a construção precisa de pedigrees. Esta ferramenta pode ter valor inestimável durante uma das etapas mais cruciais de um programa de melhoramento, que é o estabelecimento de unidades familiares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALJANABI, S.; MARTINEZ, I.; Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, v. 25, p. 4692-4693, 1997.
- BENTSEN, HB; EKNATH, AE; PALADA-DE VERA, MS; DANTING, JC; BOLÍVAR, HL; REYES, RA; DIONÍSIO, EE; LONGALONG, FM; CIRCA, AV; TAYAMEN, MM; GJERDE, B. Melhoramento genético de tilápias cultivadas: desempenho de crescimento em experimento de cruzamento dialélico completo com oito linhagens de *Oreochromis niloticus*. *Aquicultura*, v. 160, n. 1-2, pág. 145-173, 1998.
- EKNATH, A.E; TAYAMEN, M.M; PALADA-DE VERA, M.S; DANTING, J.C; REYES, R.A; DIONÍSIO, E.E; CAPILI, J.B; BOLÍVAR, H.L; ABELLA, T.A; CIRCA, A.V; BENTSEN H.B; GJERDE, B; GJEDREM, T; PULLIN, R.S.V. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture*. v.11, p.171 – 188, Apr, 1993.
- FAO, UFAO. World review of fisheries and aquaculture. State of World Fisheries and Aquaculture: opportunities and challenges. Rome. Food and Agriculture of the United Nations. Part, v. 1, p. 3-93, 2020.
- FREITAS, Suzane Fonseca et al. Validation of SSR-tetranucleotide multiplex panel for kinship evaluation in tilapia breeding programs. *Revista Ciência Agronômica*, v. 51, 2020.
- GJEDREM, T.; ROBINSON, N. Advances by selective breeding for aquatic species: a review. *Agricultural sciences*, v. 5, n. 12, p. 1152, 2014.
- HILSDORF, A. W. S. Genética e cultivo de tilápias vermelhas - uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*. São Paulo. v. 22, n. 1, p. 73-84, jan./jun. 1995
- HUVET, Arnaud et al. Microsatellite analysis of 6-hour-old embryos reveals no preferential intraspecific fertilization between cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*. *Marine Biotechnology*, v. 3, p. 448-453, 2001.

PEIXE BR, Associação Brasileira de Piscicultura. Anuário 2023 – A força do peixe brasileiro. São Paulo, 2023.

SELVAMANI, Maria John P.; DEGNAN, Sandie M.; DEGNAN, Bernard M. Microsatellite genotyping of individual abalone larvae: parentage assignment in aquaculture. *Marine Biotechnology*, v. 3, p. 478-485, 2001.