

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE DIFERENTES  
GERAÇÕES DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE  
TILÁPIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**

Autor: Maria Del Pilar Rodriguez Rodriguez  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Março – 2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE DIFERENTES  
GERAÇÕES DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE  
TILÁPIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**

Autor: Maria Del Pilar Rodriguez Rodriguez  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de **MESTRE EM ZOOTENIA**, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal”.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Março – 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

R696c Rodriguez Rodriguez, Maria Del Pilar  
Caracterização genética de diferentes gerações do  
Programa de Melhoramento Genético de Tilápia da  
Universidade Estadual de Maringá / Maria Del Pilar  
Rodriguez Rodriguez. -- Maringá, 2011.  
37 f. : il. col., figs., tabs. + apêndices

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia, 2011

1. Tilápia - GIFT. 2. Tilápia - Genetically  
Improved Farming Tilapia. 3. Tilápia - GIFT -  
Melhoramento genético. 4. Tilápia - GIFT -  
Variabilidade genética. I. Ribeiro, Ricardo Pereira,  
orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro  
de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed. 639.3774135



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE DIFERENTES  
GERAÇÕES DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO  
GENÉTICO DE TILÁPIA DA UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE MARINGÁ**

Autora: Maria Del Pilar Rodriguez Rodriguez  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 11 de março de 2011.

Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de  
Oliveira

Prof. Dr. Nelson Mauricio Lopera  
Barrero

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro  
(Orientador)



El hombre encuentra a  
Dios detrás de cada puerta  
Que la ciencia logra abrir.  
Albert Einstein (1879-1955)

## **DEDICO**

A Deus por dar-me a vida, por guiar meu caminho, ser meu sustento em cada passo.

A meus pais Luz Marina Rodriguez Fagua e Luis Carlos Rodriguez Saldaña, por acreditarem em mim, apoiar-me em tudo.

A meus irmãos Juan Carlos Rodriguez e Ingrid Julieth Rodriguez, por sempre estarem atentos, a me ouvir, me fazer sorrir e superar todos os momentos difíceis.

A meu namorado Altair Diego Sofiati, pela ajuda, carinho, compreensão e apoio.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, maravilhoso, por permitir-me tantas conquistas.

À minha família, pela ajuda, confiança e por me ajudar na superação dos obstáculos.

À Universidade Estadual de Maringá e ao curso de Pós-Graduação em “Zootecnia” que permitirem a realização de mais uma etapa em minha formação.

Ao Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, que acreditou, investiu e incentivou meu trabalho.

Ao Dr. Nelson Lopera Barrero, por todo apoio ao longo destes anos, e pela força na elaboração do trabalho.

À equipe de trabalho PEIXEGEN, pela ajuda na coleta e processamento das amostras.

A CAPES, pela bolsa de estudo concedida no mestrado.

A todos os professores que tive na UEM, que além de conhecimento, também me deixaram exemplos de vida

Ao professor Ivanor Nunes Prado, pela amizade.

Aos Colombianos estudantes da UEM: Angela P., Maribel V., Nini V., Lina P., Roman C., Alma A., Adriana G., Olga B., Camilo O. e Laura pela amizade e momentos compartilhados.

## **BIOGRAFIA**

Maria Del Pilar Rodriguez Rodriguez, filha de Luis Carlos Rodriguez Saldaña e Luz Marina Rodriguez Fagua,

Nasceu em Ibagué, Tolima, Colômbia, no dia 08 de dezembro de 1986.

Concluiu o curso de Biologia pela Universidad Del Tolima em Novembro de 2008.

Em 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, na área de concentração Produção Animal, promovendo seus estudos em biologia molecular de peixes.

No dia 11 de março de 2011, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE APÊNDICES.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I-INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1. Tilápias.....	2
1.2. Apresentação da tilápia.....	3
1.3. Comercio mundial de tilapia.....	3
1.3.1. Produção e exportação De Tilapia.....	4
1.3.2. Importações de tilápia na America do norte.....	4
1.3.3. Importações de tilápia pela União Européia.....	5
1.4. Comercio Brasileiro de Tilapias.....	5
1.5. Melhoramento genético em peixes tropicais.....	6
1.6. Melhoramento genético de tilápias no Brasil. ....	7
1.7. Melhoramento genético de tilápia GIFT.....	8
1.8. Marcadores Moleculares.....	9
1.9. Microsatelites.....	10
II-REFERÊNCIAS.....	12

<b>III- Caracterização genética de diferentes gerações de tilápia GIFT do programa de melhoramento da universidade estadual de Maringá.....</b>	<b>19</b>
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	23
Resultados e Discussão.....	25
Conclusão.....	30
Referências.....	30
<b>IV- APÊNDICES.....</b>	<b>36</b>

**LISTA DE TABELAS**

	Página
TABELA 1. Frequência dos alelos para os <i>loci</i> microssatélites analisados nas quatro gerações de Tilápia GIFT.....	..25
TABELA 2. Número de alelos por <i>locus</i> (N.A), número efetivo de alelos (Ne), heterozigose observada ( <i>Ho</i> ), heterozigose esperada ( <i>He</i> ), índice de fixação ( <i>Fis</i> ) e teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg ( <i>PWH</i> ) para as quatro gerações G0, G1, G2 e G3. ...	27

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
<b>Figura 1.</b> Tilapia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) Fonte: <a href="http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm">http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm</a> .....	2
<b>Figura 2 e 3.</b> Estação piscícola UEM-CODAPAR e Tilapia GIFT. Fonte: Núcleo de pesquisa PEIXEGEN. ....	9

## LISTA DE APÊNDICES

	Página
<b>Apêndice A.</b> Análise dos alelos de microssatélite produzidos a partir da amplificação com o loco G12314, separados em gel de poliacrilamida desnaturante (10%). .....	37

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a variabilidade genética dos fundadores (G0) e subsequentes três gerações da linhagem GIFT (G1, G2, G3) pertencentes a um programa de melhoramento genético da UEM-CODAPAR. Foram avaliados 90 indivíduos por cada geração, utilizando o marcador molecular microssatélites. Os cinco *loci* microssatélites utilizados mostraram um total de 21 alelos, presentes em todas as gerações, com presença de alelos de baixa frequência e alelos nulos nos *loci* UNH140 e UNH163. A variabilidade genética foi similar em todas as gerações, sendo que a G1 apresentou o menor valor médio de heterozigosidade observada ( $H_o=0,391$ ) possivelmente ao número de famílias formadoras dessa geração. As médias de heterozigosidade observada e esperada ( $H_e$ ), o desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e a presença de desequilíbrio de ligação em alguns *loci* evidenciaram um excesso de homozigotos. Já o índice de endogamia esteve entre os valores 0,192 na G0 e 0,401 na G1. No teste do efeito “Bottleneck”, todos os *loci* apresentaram desequilíbrio. Os resultados denotaram que o planejamento e desenvolvimento do programa de melhoramento genético que está implantado nas tilápias GIFT no Brasil, nas primeiras quatro gerações mantiveram a variabilidade genética.

Palavras chave: endogamia, melhoramento genético, tilapia GIFT, variabilidade genética.

## **ABSTRACT**

The objective was to evaluate the genetic variability of the founder (G0) and subsequent three generations of GIFT strain (G1, G2, G3) belonging to a breeding program UEM-CODAPAR. We evaluated 90 individuals per generation, using microsatellite molecular markers. The five microsatellite loci used showed a total of 21 alleles, present in all generations, with the presence of low frequency alleles and null alleles of the loci and UNH140 UNH163. The genetic variability was similar in all generations, and the G1 had the lowest average observed heterozygosity ( $H_o = 0.391$ ) possibly forming the number of families of this generation. The average observed and expected heterozygosity ( $H_e$ ), the deviation in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and the presence of linkage disequilibrium in some loci showed an excess of homozygotes, since the rate of inbreeding was 0.192 between the values in G0 and 0.401 in G1. In effect test "Bottleneck" all loci showed disequilibrium. Results reflect the planning and development of the breeding program that is implemented in GIFT tilapia in Brazil, the first four generations have maintained genetic variability

Keywords: GIFT, inbreeding, genetic enhancement, genetic variability.

## I – INTRODUÇÃO GERAL

As tilápias são cultivadas em vários países da Ásia, dos hemisférios norte e sul e oriente médio. Atualmente se encontram entre os peixes de cultivo mais importantes nas regiões tropicais do mundo, devido a suas características zootécnicas como são a boa conversão alimentar, resistência a muitas doenças, rusticidade e a desova durante todo o ano. Possuem um bom sabor e textura, também é vista como fonte de proteína animal em países subdesenvolvidos (McConnell et al., 2000; Melo et al., 2006,2008).

Na procura de produtos nutritivos ricos em proteínas, vitaminas, minerais e em aminoácidos como lisina, a tilápia segundo (Fernandes, 2000), contém maior mundo é marcante. As diferenças ocorrem entre continentes, países ou mesmo entre regiões, dependendo do costume, disponibilidade e acesso do mercado consumidor ao produto (Crepaldi,2006).

A caracterização da variabilidade genética, em plantéis de tilápia, quantidade de hidróxiprolina, glicina e prolina do que os animais marinhos, sendo recomendada por possuir baixos teores de gordura que brindam benefícios na saúde humana.

Segundo o relatório da FAO (agência da ONU para a agricultura e a alimentação), o consumo mundial de peixe alcançou altos níveis, ao contabilizar um consumo médio de 17 quilos por pessoa em 2010. A distribuição heterogênea no consumo de peixes no Brasil, (!!!) é uma etapa importante para o estabelecimento de um programa de melhoramento genético dessa espécie (Mather, 2001). Marcadores microssatélites têm sido utilizados para o monitoramento genético em peixes, tais como, sistema de cruzamento, nível de endogamia, variabilidade genética e estrutura genética dos estoques (Yue & Orban, 2002).

## 1.1 Tilápias

Tilápia é o nome comum dado a aproximadamente 70 espécies de peixes da família ciclídeos de água doce (Fitzsimmons, 2000; Hilsdorf, 2002). As tilápias são naturais da África (Appleyard, et al., 2001), Israel e Jordânia e devido a seu potencial para a aquicultura, tiveram sua distribuição expandida nos últimos cinquenta anos. Isto, pelo fato de ser uma espécie apropriada para a piscicultura de subsistência, nos países em desenvolvimento (Lovshin, 1997).

Segundo Hilsdorf (1995), as tilápias exibem vantagens que as tornam um grupo de peixes de interesse mundial: alimentam-se da base da cadeia trófica, aceitam variedade de alimentos e apresentam resposta positiva à fertilização em viveiros.

São a tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* (figura 1), *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis aureus*, *Tilapia rendalli* e seus híbridos as que apresentam maior importância para aquicultura mundial (Stickney, 1997; Moreira, 2007).



**Figura 1.** Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) Fonte: <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm>

*Oreochromis niloticus* demonstrou um alto potencial para aquicultura em vários sistemas de criação no final dos anos 70 (Lazard&Rognon,1997) e destaca-se entre as demais por exibir características de interesse zootécnico, tais como: crescimento rápido e rusticidade, carne de excelente qualidade, com boa aceitação no mercado consumidor, mais apropriada para a indústria de filetagem, o que a torna de grande interesse para a piscicultura (Moreira et al., 2007).

## 1.2. Apresentação da tilápia

Entre as Tilápias, *Oreochromis niloticus* é a mais apropriada para a indústria da filetagem, por exibir características de interesse zootécnico, carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não tendo espinha em “Y” nem odor desagradável. Tem sido etiquetada como “novo pescado branco” (Vannuccini, 1999 Moreira et al., 2007)

Segundo Kubitzka (2000), esta tilápia é um dos produtos mais populares no mercado de produtos aquáticos dos Estados Unidos, pela quantidade e diversidade de apresentação (tilápia eviscerada fresca e congelada, inteira e em filés). O filé também é comercializado com pele; no entanto, a porcentagem de comercialização nessa forma de processamento é reduzida (Souza, 2002).

Segundo Castillo (2001), no ano 2000 os Estados Unidos, importaram 40.469 toneladas de tilápia, sendo 27.781 toneladas de peixe inteiro congelado, 5.185 de filé congelado e 7.501 de filé fresco, sendo a tilápia inteira e congelada a mais importada pelos norte-americanos com um porcentagem do 50% aproximadamente, no entanto o crescimento da importação de filés congelados vem crescendo.

Os principais exportadores de tilápia inteira e filés congelados são os países asiáticos, como a Tailândia, Taiwan e Indonésia; e de filés frescos, países latino-americanos como a Costa Rica, o Equador e Honduras (Jory et al., 2000).

## 1.3. Comércio mundial de tilápias

A produção de tilápias, nos anos 2002 e 2004 tiveram uma taxa de Crescimento Anual Média 10,9% e só no período de 2004 a 2005, o crescimento foi de 6,7 %, corroborando com os dados de novos empreendimentos com essa espécie em todo o mundo. Os principais países produtores são China (48,3%), Egito (10,7%), Indonésia (9,4%), Filipinas (8,0%), Tailândia (5,4%), Taiwan (4,1%), Brasil (3,3%), Malásia, Honduras, Colômbia (1,4%), Equador (1,1%) e Laos (1,0%). A Ásia aparece como o maior continente produtor (78,5%), seguida pela África (12,1%), América do Sul (6,0%) e América do Norte (3,4%) (Crepaldi, 2006, Chen et al, 2007).

Segundo Crepaldi (2006), a produção de tilápia Total é principalmente de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Os novos países a entrar em produção, preferem esta

espécie que é de fácil cultivo. O total de produção de tilápia em 2010 pode ser previsto em 3,5 milhões de toneladas, sendo a maior parte proveniente da China.

### **1.3.1. Produção e exportação de Tilápia**

Ásia é o principal produtor de tilápia e na década dos 90, teve um crescimento na produção de tilápia correspondendo a um percentual de 50% e atualmente esta produção se encontra em 63% da produção total. No entanto, também a África e América do Sul tiveram um aumento substancial na sua produção de tilápia durante a última década (FAO, 2007).

Na América Latina, os principais produtores são Equador, México, Panamá, Costa Rica e Brasil. Mais recentemente houve a expansão do cultivo na Colômbia, Peru e Honduras. (Rojas, 2007)

China é o maior produtor mundial de tilápia este país é responsável por aproximadamente 60% de toda a produção mundial do peixe, porém grande parte da produção é consumida pelo mercado interno, e o restante é exportado para outros países. Os filés produzidos da tilápia chinesa são de baixa qualidade (FAO, 2007).

A China ainda é responsável por cerca de 70% da quantidade (47,6 milhões de toneladas em 2004), e mais da metade do valor total comercializado no mundo. Contudo, a estatística de captura e produção aquícola nesse país parece estar superestimada desde 1990, sendo assim, os dados divulgados em relatórios sobre a produção mundial de pescados tendem a avaliar o caso da China separadamente (Crepaldi, 2006, Chen et al., 2007).

### **1.3.2. Importações de tilápia na América do norte**

A tilápia é um peixe que tem boa aceitação no mercado americano, no entanto, no ano 2003, ações antidumping do departamento norte-americano proibiram as importações do catfish proveniente do Vietnã peixe importado e de elevado consumo, fazendo com que os importadores procurem outra espécie alternativa como a tilápia. (Kubitza, 2007, Rojas, 2007)

Entre os principais fornecedores de tilápia na forma congelada para o mercado norte-americano, a China apresenta 52% de participação nas importações, seguido por Taiwan e Equador segundo dados da Eurofish (Redmayne, 2000).

A América Latina é o maior fornecedor de filés frescos para o mercado dos EUA e uma das suas vantagens é a proximidade geográfica com relação aos exportadores asiáticos. Os principais exportadores filés de frescos são Equador, Costa Rica e Honduras, no entanto, a posição do Equador como maior exportador pode mudar devido a que muitos produtores estão retornando ao cultivo de camarões (Souza, 2002).

### **1.3.3. Importações de tilápia pela União Européia**

O mercado europeu de tilápia é estimado em aproximadamente 10 mil toneladas anuais. Mas ainda assim, o mercado para a tilápia é reduzido, devido á competitividade do mercado com grande quantidade de catfish de qualidade e com baixos preços, provenientes do Vietnã. Os principais fornecedores de tilápias para o mercado europeu, são Taiwan, Indonésia, Tailândia, China, Vietnã, Malásia, USA, Costa Rica, Jamaica, e mais recentemente, Zimbabwe e Uganda. A América Latina praticamente não exerce nenhum papel nas importações de tilápia pelo mercado europeu sendo principalmente de peixes inteiros e congelados, embora recentemente as importações de filés estejam aumentando. (Kubitza, 2007)

As importações de tilápia congelada estão basicamente estabilizadas na faixa de 7,8 mil toneladas em 2003, com Taiwan apresentando uma participação de 80% no abastecimento deste mercado segundo a FAO (2007).

### **1.4. Comércio Brasileiro de Tilápias**

A criação de tilápias no Brasil teve como marco inicial a introdução de um plantel de *Tilapia rendalli* no ano de 1953. Essa espécie foi obtida no Congo (África) e foi utilizada para povoamento da represa “Light”, em São Paulo, e do lago Paranoá, em Brasília (Moreira, 1999). A introdução seguinte de peixes deste grupo foi feita com a espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo, fitoplantófaga), em Pentecostes, estado do Ceará, no ano de 1971, linhagens da tilápia Nilótica e de tilápia Chitralada (1996), (Zimmermann, 2003; Espíndola,2007), mais recentemente, no ano 2005, a linhagem GIFT pela Universidade Estadual de Maringá. Com esta ultima importação, o Brasil tornou-se o primeiro país da América Latina a receber tilápias oriundas de programas de melhoramento genético.

O cultivo da tilápia se intensificou particularmente no Nordeste e Sudeste do país. O Brasil é hoje o 6º maior produtor de tilápia cultivada no mundo, com cerca de 980 mil toneladas em 2005 (Kubitza, 2007).

O Brasil possui condições favoráveis na piscicultura como o clima, disponibilidade de áreas, grandes safras de grãos (soja, milho, trigo, entre outros que geram matérias primas para rações animais) e recursos hídricos fazendo que este país tenha um grande potencial no mercado (Bozano, 2002, Kubitza, 2003).

### **1.5. Melhoramento genético em peixes tropicais**

O aumento da produtividade em peixes é possível pela utilização de indivíduos geneticamente superiores que apresentam em condições ambientais específicas um elevado desempenho (Resende et al., 2010).

Dos peixes tropicais, as carpas e as tilápias são as espécies mais utilizadas em programas de melhoramento genético. Alguns experimentos mostram que o melhoramento genético na taxa de crescimento pode proporcionar ganhos de cerca de 15% por geração em programas bem conduzidos (Ponzoni et al., 2005, 2007, Eknath et al., 1993), como a aplicação de métodos de seleção para a tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) pelo World Fish Center (antigo ICLARM) em 1990.

Uma das tentativas de melhoramento genético foi desenvolvida pela Hungria o Instituto de Pesca do Estado de São Paulo e a CODEVASF. Onde utilizaram a ginogênese para obtenção de carpas húngaras altamente produtivas na década de 1980.

Segundo Ponzoni (2006), a implantação e desenvolvimento de programas de melhoramento genético que conduzam a ganhos genéticos expressivos e duradouros são sugeridos na literatura científica, os seguintes critérios:

**Descrição ou desenvolvimento do sistema de produção:** o programa de melhoramento deve ser conduzido em um ambiente semelhante com o sistema de cultivo de produção.

**Escolha da espécie, variedades e sistemas de cruzamento:** aspectos relacionados ao estoque de reprodutores disponível, domínio das técnicas de produção e reprodução, adequação ao sistema de produção e interesse do mercado consumidor, são características essenciais na escolha das espécies e variedades;

**Formulação do objetivo de seleção:** definir o que se deseja melhorar no sentido de atender o mercado consumidor.

**Definição dos critérios de seleção:** eleger características que serão usadas para definir o mérito genético dos animais.

**Delineamento do sistema de avaliação genética:** definição da metodologia empregada na determinação do mérito genético dos animais a partir dos dados coletados.

**Seleção dos animais e definição do sistema de acasalamento:** refere-se à escolha de indivíduos que terão prioridade de acasalamentos, levando-se em conta o aumento no desempenho médio da nova população, manutenção de variabilidade genética e dos ganhos genéticos durante várias gerações e controle do incremento de consaguinidade.

**Desenho do sistema para expansão e disseminação dos estoques melhorados:** deve permitir a chegada dos animais geneticamente superiores de forma rápida ao setor produtivo, intensificando o fluxo gênico entre os diferentes componentes do setor produtivo (Núcleo, Multiplicadores e Produtores);

**Monitoramento e comparação de programas alternativos:** estabelecer um sistema de avaliação do programa, de maneira que permita a checagem dos resultados, conduzindo a mudanças nos rumos, se necessário.

É necessário escolher cuidadosamente as espécies, linhagens ou híbridos, submetidos aos programas de melhoramento genético, com o objetivo de atender, adequadamente, às demandas globais e/ou regionalizadas (Resende et al., 2010).

A utilização de métodos quantitativos consolidados, com controle individual de pedigree (Santos, 2009) é importante para verificar o potencial produtivo da espécie (Ponzoni, 2006).

## **1.6. Melhoramento genético de tilápias no Brasil**

No Brasil, a tilápia tem fundamental importância na produção de peixes de água doce, participando no programa de avaliação genética do projeto “Melhoramento de espécies aquícolas no Brasil”, componente da Rede Aquabrazil – Bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil, que tem o intuito de promover o melhoramento genético de organismos aquáticos e disseminar animais geneticamente superiores para os produtores (Resende et al., 2010).

A disseminação, além da comercialização de reprodutores para alevinocultores, estão formando núcleos satélites em diferentes regiões do Brasil, transferindo famílias de reprodutores para: Recife – PE, Santana do Acaranguá, Santa Fé do Sul – SP, Sorriso

– MT e Camboriú – SC. Os núcleos satélites são formados por um conjunto de oito a quinze famílias, com 100 representantes de cada família, na mesma proporção de sexos, oriundos do Núcleo Seleção do programa de melhoramento genético de tilápias do Nilo em Maringá – PR (Resende et al., 2010).

De acordo com os mesmos autores, o manejo reprodutivo e a forma de acasalamento dos animais do núcleo satélite devem evitar ao máximo a endogamia e permitir o máximo de ganho genético nas diferentes gerações. Estes núcleos satélites servem como locais de geração e multiplicação de indivíduos geneticamente superiores, permitindo o abastecimento dos alevinocultores de material genético de qualidade, atendendo às demandas locais com suas especificidades.

Estes autores ainda afirmam que, demandas específicas de mercado, as diferentes condições de produção e os investimentos em melhoramento genético poderão conduzir ao desenvolvimento de linhagens melhoradas de tilápias, gerando informações técnico-científicas que auxiliarão o sistema produtivo na tomada de decisões.

### **1.7. Melhoramento genético de tilápia GIFT**

Apesar da tilápia do Nilo ser utilizada na produção aquícola brasileira há várias décadas, recentemente, não existiam programas de melhoramento genético baseados na informação individualizada e no uso de avaliação genética com base em metodologias estatísticas já aplicadas em bovinos, aves e suínos. (Resende et al., 2010).

No ano 2005, a Estação Experimental da Universidade Estadual de Maringá (UEM-Codapar) recebeu tilápias representantes de 30 famílias da linhagem GIFT (Genetically Improved Farming Tilapia) (Figura 2 e 3) trabalhando como entidade nucleadora, a partir de um projeto elaborado em conjunto com o WorldFish Center e com o apoio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca -SEAP. Com esta importação, o Brasil tornou-se o primeiro país da América Latina a receber tilápias oriundas de programas de melhoramento genético (Lupchinski, et al., 2008).



**Figura 2 e 3.** Estação piscícola UEM-CODAPAR e Tilapia GIFT. Fonte: Núcleo de pesquisa PEIXEGEN.

O foco do programa de melhoramento é a seleção por taxa de crescimento, medida a partir do ganho médio diário. Porém, outras características, como medidas corporais e mortalidade à idade comercial, têm sido coletadas para incrementar o número de informações. Após três anos de acasalamentos, o programa de melhoramento iniciado em Maringá-PR, tem apresentado resultados que apontam ganhos genéticos da ordem de 6% dos animais produzidos no ano de 2008, em relação à geração anterior (Santos, 2009).

Os programas de escolha de animais destinados à reprodução devem considerar o impacto de estratégias de seleção sobre a resposta à seleção no longo prazo, de maneira que se procure priorizar o acasalamento de indivíduos geneticamente superiores, conduzindo a ganhos genéticos elevados, com manutenção da variabilidade genética e níveis de endogamia baixos (Resende et al., 2010).

### **1.8. Marcadores Moleculares**

Um marcador molecular é qualquer fenótipo molecular provenientes de um gene expresso ou segmento específico de DNA (Matioli, 2001), que são herdados geneticamente segundo as leis de herança propostas por Mendel, conseguindo-se diferenciar indivíduos e identificar uma região ou local de um cromossomo (Milach, 1998). Quando se encontram associados a um gene, a uma região cromossômica ou a um fenótipo, podem ser usados mesmo que não tenham sido mapeados, desde que possam ser seguidos em gerações subsequentes, comprovando sua natureza genética (Milach, 1998).

Os marcadores moleculares são utilizados para estudos de populações, estimativas do tamanho efetivo de uma população, estudos de variabilidade genética, para identificação de híbridos e espécies, determinação genética do impacto de introdução de populações e peixes cultivados em determinada área, estabelecimento de relações filogenéticas, identificação de populações-chave para conservação de recursos genéticos, construção de mapas genéticos, em programas de melhoramento os marcadores são utilizados para fazer seleção e novos cruzamentos em uma mesma geração, aumentando assim a eficiência e definição de estratégias de melhoramento (Ferguson et al., 1995).

Entre as características que devem apresentar um bom marcador molecular estão: apresentar um alto nível de polimorfismo, estabilidade em diferentes ambientes, detectar um grande número de locos não ligados e ser de herança simples (Milach, 1998, Matioli, 2001, Melo, 2008).

### **1.9. Microssatélites**

Os microssatélites, conhecidos como STR – (Repetições Curtas em Tandem “Short Tandem Repeats”) ou SSR – (“Sequências Simples Repetidas”) são elementos repetitivos, formados por arranjos de repetições em tandem, de dois a seis nucleotídeos de comprimento e estão entre os locos mais polimórficos dos genomas (Ferguson et al., 1995, Milach, 1998, Matioli, 2001), Devido á variação do número dos elementos repetidos, provavelmente conseqüente dos erros da DNA polimerase durante o processo de replicação e reparo da molécula de DNA (Studart, 2001). (Melo, 2008).

Os microssatélites apresentam algumas vantagens sobre outros marcadores moleculares por serem codominantes, abundantes, ter natureza multialélica, cobrir extensivamente o genoma, ser de herança mendeliana, detectados facilmente por PCR e necessitam de pequenas quantidades de DNA para análise. (Lima, 1998; Moreira, 1999).

Os microssatélites mais comuns são os dinucleotídeos (repetições de duas bases), seguidos pelos mononucleotídeos e tetranucleotídeos, sendo menos abundantes os trinucleotídeos. Quanto à sua estrutura, os microssatélites podem ser: perfeitos ou puros, quando não apresentam nenhuma interrupção em sua seqüência de repetição (ex.: CACACACACACA); interrompidos, quando possuem um par de bases ou uma pequena seqüência interrompendo a série de repetição (ex.:

CACACACACATGCTCACACA); compostos, quando apresentam duas seqüências de repetições distintas lado a lado (ex:CACACACACACAGAGAGAGAGA).

Em peixes os microssatélites mais comuns compreendem, repetições de duas bases geralmente (GT/CA) $n$  ou (CT/CA) $n$  (Lee & Kocher, 1996, Carleton et al., 2002). Lee & Kocher, (1996) isolaram 133 locos [CA] $n$  e 7 locos [AAC] $n$  de microssatélites para *Oreochromis niloticus* e estabeleceram os primeiros para as seqüências flanqueadoras (Melo et al., 2008).

Algumas das aplicações de Microssatélites nos estudos na área animal são: monitoramento de linhagens, estimativas de distâncias genéticas; endocruzadas; testes de paternidade em diversas espécies animais; comparações de composição genética de amostras recentes e antigas e análise da diversidade genética. (Melo, 2008).

A utilização de marcadores moleculares em programas de melhoramento genético, ajudam o monitoramento, caracterização da variabilidade genética, estimativas dos coeficientes de endocruzamento e parentesco, estrutura genética dos estoques, e manejo reprodutivo que podem contribuir para a redução da endogamia (Yue & Orban, 2002). (Bentsen & Olesen, 2002, Melo, 2008).

## II – REFERÊNCIAS

APPLEYARD, S.A.; RENWICK, J.M.; MATHER, P.B. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. **Aquaculture Research**, v.32, p.287-296, 2001.

BENTSEN, H.B; OLESEN, I. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates. **Aquaculture**,v.204, p.349-359, 2002.

CARLETON, K. L; STREELMAN, J. T; LEE, B.-Y; GARNHART, N; KIDD, M; KOCHER, T. D. Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome International Society for **Animal Genetics**, v.33, p.140-144. 2002

CASTILLO C.L.F. Situación del comercio de tilapia em el año 2000. **Panorama Acuicola**, v.6, n.3, p.24-27, 2001.

CHEN, J; GUANG, C; XU, H; CHEN, Z; XU, P; YAN, X; WANG, Y; LIU, J. A review of cage and pen aquaculture: China. In M. Halwart, D. Soto and J.R. Arthur (eds). Cage aquaculture – Regional reviews and global overview, pp. 50–68. **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 498, p 241, 2007.

CREPALDI,. A situação da Aquacultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.30, p.81-85, 2006.

EKNATH, A.E. et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. **Aquaculture**. 11: 171-188, 1993.

ESPÍNDOLA, M.S. **Caracterização genética de reprodutores de tilápia:estratégias para a manutenção da variabilidade.**2007, 48p. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural De Pernambuco, Recife.

FAO. **Food And Agriculture Organization of the United Nations.** Fishstat. [http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/usr/local/tomcat/FI/5.5.9/fia5/webapps/figis/temp/hqp\\_141713.xml&outtype=html](http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/usr/local/tomcat/FI/5.5.9/fia5/webapps/figis/temp/hqp_141713.xml&outtype=html). Acesso em:Fevereiro de 2007.

FERGUSON, A; TAGGART, JB; PRODHOL, A; MCMEEL, O; THOMPSON, C; STONE, C; MCGINNITY, P; HYNES, RA. The application of molecular markers to the study and conservation of fish population with special reference to Salmo. **Journal of Fish Biology**, v.47, suppl.A, p.103-126, 1995.

FERNANDES, C. F. Processing of the tilapias. In: COSTA-PIERCE, B. A., RAKOCY, J. E. Tilapia Aquaculture in the Americas. V.2. Lousiana: **The world Aquaculture Society**, p. 100-118, 2000.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21 century. In: Fitzsimmons K, Carvalho Filho J (Ed.). Proceedings from the fifth international symposium on tilapia aquaculture. Rio de Janeiro: **Panorama da aquacultura**, p.3-8, 2000.

HILSDORF, A.W.S. Genética e cultivo de tilápias-vermelhas: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, p.73-84, 1995.

HILSDORF, AWS. **Avaliação genética e zootécnica de duas variedades de tilápias nilóticas (*O. niloticus* var. Red sterling e *O. niloticus*, var. Chitralada) para o estabelecimento de um programa de produção massal de um híbrido de peixes e seus subprodutos.** Disponível em: <http://Watson.fapesp.Br/PIPEM/pipe10/engpesc1.htm>, Acessado em: 03 abr. 2002.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. **Panorama Acuícola**, v.5, n.5, p.50-53, 2000.

KUBITZA F. Qualidade de água, sistemas, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. **Panorama da Aqüicultura**, v.10, n.59, p. 44-53, 2000.

KUBITZA, F.; ONO, E.A. Projetos aquícolas: planejamento e avaliação econômica. **1. ed. Jundiaí: F. Kubitza. 88 p. 2003.**

KUBITZA, F. Tilápias na bola de cristal. **Panorama da aqüicultura**, janeiro/fevereiro, 2007.

LAZARD, J. Rognon. X, Genetic diversity of tilapia and aquaculture development in Côte D'Ivoire and Niger, Isr. J. **Aquac.**, 49 (2) 90- 98, 1997.

LEE, W.J., KOCHER, T.D. Microsatellite DNA markers for genetic mapping in the tilapia, *Oreochromis niloticus*, **Journal Fish Biology** 49, 169 -171, 1996.

LIMA, RMG. **Polimorfismos de microssatélites em DNA de eqüinos e seu uso na determinação de parentesco em animais da raça mangalarga machador.** 1998, 91p. Tese (Doutorado) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

LOVSHIN, L.L. Tilapia farming; a growing worldwide aquaculture industry. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1997, Piracicaba. **Anais.** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luís de Queiroz", p.137-164, 1997.

LUPCHINSKI, E.J.; VARGAS L.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; MANGOLIN, C.A.; LOPERA N.M.B. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Sci. Anim, Sci.** v. 30, n. 2, p. 233-240, 2008.

MATHER, P.B. Overview of fish genetics research at Queensland University of Technology. In: GUPTA, M.V.; ACOSTA, B.O. (Ed.). Fish genetics research in member countries and institutions of the International Network on **Genetics in Aquaculture.**

Penang: ICLARM – World Fish Center, 2001. p.133-139.

MATIOLI, SR. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismo de ácidos nucléicos. In: Matioli SR (Ed.). **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 202p, 2001.

MCCONNELL, S.K.J; BEYNON, C; LEAMON, J; SKIBINSKI, D.O.F. Microsatellite marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* e *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. **Animal Genetics**, 31:214-218, 2000.

MELO D.C., OLIVEIRA D.A.A., RIBEIRO L.P., TEIXEIRA, C.S., SOUSA A.B., COELHO, E.G.A., CREPALDI, D.V., TEIXEIRA, E.A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.58, 87-93, 2006.

MELO, D.C. **Perfil protéico eletroforético de tilápia nilótica (*oreochromis niloticus*), linhagem chitralada, submetidas ao estresse crônico por hipóxia**. 2008, 37p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária Belo Horizonte.

MELO D.C., OLIVEIRA D.A.A., SEERIG, A., CARVALHO, D.C.de. Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, n.4, p.220-224, 2008.

MILACH, SCK. Marcadores de DNA. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.5, p.14-17, 1998.

MOREIRA, H.L.M. **Análise da estrutura de populações e diversidade genética e estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélite**. 1999. 112p. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MOREIRA, A.A; HILSDORF, A.W.S; SILVA, J.V; SOUZA, V.R. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa agropecuária brasileira**. vol.42 no.4 Brasília Apr. 2007.

PONZONI, R.W.; HAMZAH, A.; TAN, S.; KAMARUZZAMAN, N. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). **Aquaculture**, Amsterdam, Vol.247, n 1-4, p.203-210, June 2005.

PONZONI, R.W. Genetic improvement and effective dissemination: Keys to prosperous and sustainable aquaculture industries. Citado por: PONZONI, R.W.; ACOSTA, B.O.; PONNIAN, A.G. (Ed.) **Development of aquatic animal genetic improvement and dissemination programs: current status and action plans**. Bayan Lepos: Thye word Fish Center, p.1-6. 2006.

PONZONI, R. W.; NGUYEN, N. H.; KHAW, H. L. Investment appraisal of genetic improvement programs in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**. 268:187-199, 2007.

REDMAYNE, P. Como el camarón y el salmon de cultivo la tilapia se está convirtiendo rápidamente em un proveedor de filetes frescos y congelados de alta calidad. Virtualmente todos los filetes de tilapia vendidos em los Estados Unidos son importados. **Panorama Acuícola**, v.5, n.3, p.8-9, 2000.

RESENDE, E.K.de; OLIVEIRA, C.A.L. de; RIBEIRO R.P. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. **VIII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal – Palestras. 2010.**

ROJAS, A; WADSWORTH, S. A review of cage aquaculture: Latin America and the Caribbean. Citado por: M. Halwart, D. Soto and J.R. Arthur (eds). Cage aquaculture – Regional reviews and global overview, pp. 70–100. **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 498, 241 p. 2007.

SANTOS, A. I. **Interação genótipo-ambiente e estimativas de parâmetros genéticos**

**em Tilápias (*Oreochromis niloticus*)**. 2009. 85p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

SOUZA, M.L.R. Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.

STICKNEY, R.R. Tilapia update 1996. **World Aquaculture**, v.28, p.20-25, 1997.

STUDART MT, **Caracterização molecular de bovinos da raça Simental com base em microssatélites e RFLP**. 2001. 73p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de São Carlos.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia; en el mundo Occidental. **Panorama Acuícola**, v.4, n.3, p.22-25, 1999.

YUE, G.H.; ORBAN, L. Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p.99-100, 2002.

ZIMMERMANN, S. Observações sobre o crescimento de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) da linhagem chitralada em dois sistemas de cultivo e três temperaturas. In: The 21st : **Proceedings From The Fifth International Symposium On Tilapia Aquaculture**, 1, Rio de Janeiro: p.323-327. 2000.

### **III. OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a variabilidade genética de fundadores da linhagem GIFT (G0), e subseqüentes três gerações (G1, G2, G3) pertencentes a um programa de melhoramento genético da UEM-CODAPAR, através de marcadores moleculares microssatélites

### **III – Caracterização genética de diferentes gerações de tilápia GIFT do programa de melhoramento da universidade estadual de Maringá.**

**Resumo-**O objetivo do trabalho foi avaliar a variabilidade genética de quatro gerações da linhagem GIFT (G0, G1, G2, G3) pertencentes a um programa de melhoramento genético da UEM-CODAPAR. Os cinco *loci* microssatélites utilizados mostraram um total de 21 alelos, presentes em todas as gerações, com presença de alelos de baixa frequência e alelos nulos nos *loci* G12292 e G12315. A variabilidade genética foi similar em todas as gerações, sendo que a G1 apresentou o menor valor médio de heterozigosidade observada ( $H_o=0,391$ ). As médias de heterozigosidade observada e esperada ( $H_e$ ), o desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e a presença de desequilíbrio de ligação em alguns *loci* evidenciaram um excesso de homozigotos, com presença de endogamia ( $F_{is}=0,281$ ). No teste do efeito “Bottleneck” todos os *loci* apresentaram desequilíbrio. Estes valores demonstram que existe excesso de homozigotos o que é esperado em programas de melhoramento genético, onde se precisa a construção de linhagens isogênicas.

**Termos para indexação:** endogamia, gerações, melhoramento genético, Tilápia GIFT, variabilidade genética.

**Genetic evaluation of GIFT tilapia generations of improvement genetic program  
using microsatellite markers**

**Abstract-**The objective was to evaluate the genetic variability of four generations of GIFT strain (G0, G1, G2, G3) belonging to an improvement genetic program UEM-CODAPAR. The five microsatellite loci used showed a total of 21 alleles, present in all generations, with the presence of low frequency alleles and null alleles of the *loci* G12292 and G12315. The genetic variability was similar in all generations, and the G1 had the lowest average observed heterozygosity ( $H_o = 0.391$ ). The averages of observed and expected heterozygosity ( $H_e$ ), the deviation in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and the presence of linkage disequilibrium in some *loci* showed an excess of homozygotes with the presence of inbreeding ( $F_{is} = 0.281$ ). In effect test Bottleneck all loci showed disequilibrium. These figures show that there is an excess of homozygotes is expected in breeding programs, which states the construction of isogenic strains.

**Index terms :** inbreeding, generations, improvement genetic, genetic variability, Tilapia GIFT.

## Introdução

Nas regiões tropicais as tilápias são o cultivo mais importante de peixes, devido às características zootécnicas e fácil manejo, além de possuir um excelente sabor e textura. É utilizada como fonte de proteína animal em países subdesenvolvidos. (McConnell et al., 2000.; Melo et al., 2006)

No Brasil, as tilápias se encontram distribuídas em quase todo o país, foram introduzidas nos anos 50 e utilizada em cultivo desde 1990 (Silva & Chammas, 1997), chegando a ser uma importante espécie no comércio como também objeto de pesquisa em muitos países tropicais e subtropicais.

São muitas as introduções de tilápias no Brasil destinadas à tilapicultura, sendo de importância *Tilápia rendalli* (1952), a tilápia do Nilo *O. niloticus* e *O. hornorum* (1971), linhagens da tilápia Nilótica e de tilápia Chitralada (1996), entre outras (Zimmermann, 2003; Espíndola, 2007), mas recentemente no 2005 foi introduzida a linhagem GIFT.

A linhagem de tilápia GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapias) desenvolvida na Malásia é composta por quatro linhagens comerciais de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens silvestres Africanas (Gupta & Acosta, 2004), motivo que faz com que a linhagem possua uma maior variabilidade genética e resistência.

No ano 2005, a Universidade Estadual de Maringá recebeu representantes de 30 famílias da linhagem GIFT das quais vem fazendo-se melhoramento genético (Lupchinski et al., 2008). Esta linhagem é de importância comercial e requer um rigoroso manejo genético para manter as características desejadas, pois, um manejo inadequado pode gerar diversos problemas como altos níveis de endogamia, declínio da

produtividade, baixo crescimento, baixo ganho em peso, ou a expressão de genes que possam baixar o potencial desta linhagem.

Em todos os organismos, a variabilidade genética é base da diversidade genética, potencial evolutivo e capacidade adaptativa de uma espécie (Borowsky, 2001; Saura et al., 2006). Para espécies mantidas em ambientes controlados como piscícolas, a variabilidade genética diminui devido ao cruzamento entre indivíduos aparentados já que estes representam só uma pequena amostra da população, resultando na diminuição da variabilidade genética (Hallerman, 2003, Pineda & Santis, 2004).

Para uma linhagem destinada à programa de melhoramento como no caso da tilápia GIFT, deve verificar-se a variabilidade genética das famílias e a estrutura genética da população, a fim de selecionar aqueles indivíduos que efetivamente possam contribuir na formação de um lote com base genética suficientemente ampla para tais objetivos (Lopera-Barrero et al.,2007). Para a análise e monitoramento genético, são utilizados marcadores moleculares que permitam que a seleção e que novos cruzamentos sejam realizados em uma mesma geração o que aumenta consideravelmente a eficiência de um programa de melhoramento (Melo et al.,2008).

Um marcador molecular segundo Milach (1998) é característica de DNA que diferencia indivíduos e é herdado geneticamente de acordo com as leis básicas de herança de Mendel e serve para identificar um local ou uma região de um cromossomo.

Os microssatélites são marcadores codominantes que possuem características ideais e comparando-se com outros marcadores moleculares, constata-se que estes apresentam uma série de vantagens sobre os outros (Lima, 1998; Moreira, 1999; Melo et al, 2008).

O objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética dos fundadores e suas subseqüentes três gerações de tilápia GIFT do programa de melhoramento genético.

## Material e Métodos

Para avaliar a variabilidade genética dos fundadores e subseqüentes gerações de tilápia GIFT, foram utilizados 360 indivíduos, 90 por cada geração. A primeira geração (fundadores) G0 foi constituída por indivíduos selecionados das 30 famílias provenientes da Malásia e as outras três gerações seguintes, submetidas à constante seleção por ganho em peso e foram constituídas por 32 famílias na G1, 58 famílias na G2 e 78 famílias na G3 .

Para extração de DNA, foi utilizada a metodologia descrita por Lopera-Barrero et al., (2008). Em microtubos contendo as nadadeiras, foram adicionados 550 µL de tampão de lise (50 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, 100 mM NaCl, 1% SDS) e 7 µL de proteinase K (200 µg mL<sup>-1</sup>). As amostras foram incubadas em banho-maria a 50 °C por 12 h. O DNA foi precipitado com 600 µL de solução de NaCl (5M) e centrifugado por 10 min a 12.000 rpm. O sobrenadante contendo o DNA foi transferido para novos microtubos, precipitado com 700 µL de álcool etílico absoluto e incubado por uma hora a -20 °C. O DNA foi centrifugado, lavado com 700 µL de álcool etílico 70%, ressuspendido em tampão TE - 10 mM Tris pH 8,0 e 1 mM EDTA (80 µL para nadadeira e 35 µL para larva), e tratado com 7 µL de RNase (30 µg mL<sup>-1</sup>) em banho-maria a 37 °C por uma hora, e em seguida estocado no freezer a -20°C.

A quantificação do DNA foi feita no espectrofotometro Shimadzu UV 1601- E.U. (amplitude de onda 260 nm) e a amostras diluídas para uma concentração de 10 ng/µl. A integridade do DNA foi verificada em eletroforese horizontal usando um gel de agarose 1%, a 70 V por 120 minutos, e posteriormente se capturará a imagem no sistema fotográfico L-PIX (LOCCUS biotecnologia).

O DNA foi testado com diferentes temperaturas de anelamento para cinco primeiros (*Loci* G12292, G12311, G12312, G12314 e G12315) e concentrações de Mg

e DNA, e posteriormente submetidas em gel de poliacrilamida 10% (acrilamida : bisacrilamida - 29:1) e uréia 6 M, conduzidas em solução tampão TBE 1X (90 mM Tris-Borato, 2 mM EDTA) a 180 V (250 mA) durante 10 horas.

Para a visualização dos alelos microssatélites, o gel foi corado com nitrato de prata descrita por Bassam et al. (1991) com algumas modificações. O gel foi submetido a uma solução de fixação (10% etanol, 0,5% ácido acético) por 20 min, depois outra solução contendo 6 mM de nitrato de prata por 30 min e posteriormente com uma prévia lavagem com água destilada, foi submersa numa solução reveladora com 0,75 M NaOH, 0,22% e formol 40%. Cada gel foi fotografado com uma câmera digital X-785 OLIMPUS. O tamanho dos alelos foi calculado usando o marcador de peso molecular 100 pb e 10 pb (DNA ladder - Invitrogen®).

Os dados foram submetidos aos programas estatísticos computacionais. O número de alelos, a heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), o índice de Shannon o número efetivo de alelos, o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram calculados com o programa PopGene 1.31 (Yeh et al., 1999). A frequência alélica e o coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) para cada *loci* foi calculado com o programa Genepop 1.2 (Raymond & Rousset, 1995). O desequilíbrio de ligação foi determinado com o programa Arlequin 3.1 (Excoffier et al., 2005), pelo método da cadeia de Markov. Para evidenciar a presença de alelos nulos, foi utilizado o programa Micro-checker e Bottleneck Version 1.2.02 para o teste de redução no tamanho efetivo populacional “efeito gargalo de garrafa”.

## **Resultados e Discussão**

A análise dos cinco *loci* mostrou um total de 21 alelos. Os níveis de variabilidade alélica, nas quatro gerações, variaram entre o máximo de cinco alelos para os *loci* G12311 e G12315, e o mínimo de três alelos para o *locus* G12314 (Tabela 1), com um

tamanho mínimo de 120pb nos locos G12312 e G12315 e máximo de 370pb no loco G12311.

Nos *loci* G12292 e G12314, o alelo B foi o que apresentou maiores frequências, já no *locus* G12312 os maiores valores foram para o alelo A, exceto da última geração. Entretanto, no *locus* G12311, as maiores frequências estiveram no alelo B e D para a G0 e G1 respectivamente e o alelo E nas gerações seguintes, por último no alelo G12315 as maiores frequências mudaram em todas as gerações.

**Tabela 1.** Frequência dos alelos para os *loci* microssatélites analisados nas quatro gerações de Tilápia GIFT.

LOCUS	T (pb)	ALELOS	G0	G1	G2	G3
G12292	135-160	A	0,233	0,173	0,272	0,156
		B	0,244	0,315	0,206	0,111
		C	0,333	0,327	0,317	0,478
		D	0,189	0,185	0,206	0,256
G12311	310-370	A	0,161	0,057	0,094	0,083
		B	0,350	0,100	0,028	0,161
		C	0,244	0,207	0,206	0,172
		D	0,183	0,407	0,239	0,189
		E	0,061	0,229	0,433	0,394
G12312	120-160	A	0,750	0,403	0,583	0,294
		B	0,078	0,330	0,261	0,411
		C	0,100	0,199	0,139	0,189
		D	0,072	0,068	0,017	0,106
G12314	140-170	A	0,223	0,180	0,244	0,281
		B	0,693	0,685	0,572	0,444
		C	0,084	0,135	0,183	0,275
G12315	120-160	A	0,135	0,172	0,228	0,217
		B	0,152	0,236	0,222	0,200
		C	0,230	0,282	0,150	0,211
		D	0,236	0,178	0,167	0,194
		E	0,247	0,132	0,233	0,178

Nenhum alelo foi eliminado nas gerações. Porém, foram observados vários alelos com baixa frequência (menor que 0,1000 - 10%) no *locus* G12311 o alelo A nas gerações G1, G2, G3, o alelo B na G2 e alelo E na G0, outros alelos foram verificados no *locus* G12312, o alelo B na G0 e o alelo D nas G1, G2, G3 onde os valores foram

diminuindo ao longo das gerações. No *locus* G12314, um último alelo C de baixa frequência foi apresentado na geração G0.

Segundo Bengtsson et al., (1995), a baixa frequência dos alelos pode indicar um processo de perda alélica, afirmação que seria pouco provável já que, segundo Van-Rossum & Prentice (2004), para determinar este efeito são necessárias pelo mínimo 12 gerações. Uma possível causa destas mudanças de frequências e baixos valores alélicos estão associados à seleção do programa de melhoramento genético, onde os indivíduos formadores de famílias das seguintes gerações são selecionados para ganho em peso. Também Romana-Eguia et al., (2005) observaram alelos de baixa frequência e eliminação alélica, na formação das gerações de tilápias SEAFDEC-seleta no decorrer da seleção direcional.

Os *loci* G12292 e G12315 apresentaram alelos nulos, esses alelos são resultantes de mutações ocorridas nas regiões do DNA-alvo, as quais impossibilitam a amplificação desses alelos (Callen et al., 1993). Em microssatélites, é possível a presença de alelos nulos por amplificação preferencial de alelos curtos devido à qualidade ou quantidade de DNA (Shinde et al., 2003; Benites, 2008). No entanto, estes alelos podem criar homozigotos falsos (Carlsson, 2008) podendo alterar os resultados obtidos neste trabalho nos valores de heterozigosidade, índice de endogamia, desvio no equilíbrio Hardy-Weinberg (Adams & Rosel, 2006).

A média da heterozigosidade observada ( $H_o$ ), que representa o grau de diversidade genética das gerações, foram superiores para a G2 e G3, a geração G0 apresentou valores próximos a estes e G1 teve o menor valor (Tabela 2). Segundo Yu et al., (1999) quando se experimenta uma redução no tamanho efetivo se exhibe uma redução da heterozigosidade. O que pode ser explicado pelo número de famílias formadoras de cada geração que foram 30 para G0, 32 na G1, 58 na G2 e 78 na G3.

**Tabela 2.** Número de alelos por *locus* (N.A), número efetivo de alelos ( $N_e$ ), heterozigose observada ( $H_o$ ), heterozigose esperada ( $H_e$ ), índice de fixação ( $F_{is}$ ) e teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para as quatro gerações G0, G1, G2 e G3.

LOCUS	Pop	G0	G1	G2	G3	Média
	N	90	90	90	90	360
G12292	N.A	4	4	4	4	--
	Ho	0,578	0,432	0,544	0,467	0,505
	He	0,743	0,734	0,745	0,674	0,724
	$F_{is}$	0,224	0,413	0,271	0,308	0,304
	EHW	0,000	0,000	0,000	0,000	--
G12311	N.A	5	5	5	5	--
	Ho	0,678	0,400	0,633	0,644	0,589
	He	0,759	0,731	0,707	0,75	0,737
	$F_{is}$	0,107	0,455	0,105	0,142	0,202
	EHW	0,000	0,000	0,104	0,000	--
G12312	N.A	4	4	4	4	--
	Ho	0,378	0,443	0,233	0,289	0,336
	He	0,419	0,688	0,575	0,701	0,596
	$F_{is}$	0,098	0,358	0,596	0,590	0,410
	EHW	0,117	0,000	0,000	0,000	--
G12314	N.A	3	3(1,92)	3	3	--
	Ho	0,422	0,449	0,567	0,506	0,486
	He	0,466	0,482	0,582	0,652	0,546
	$F_{is}$	0,096	0,069	0,027	0,226	0,104
	EHW	0,556	0,686	0,557	0,000	--
G12315	N.A	5	5	5	5	--
	Ho	0,449	0,23	0,678	0,611	0,492
	He	0,793	0,791	0,798	0,804	0,797
	$F_{is}$	0,435	0,711	0,152	0,241	0,385
	EHW	0,000	0,000	0,000	0,000	--
MEDIA	N.A	4,2	4,2	4,2	4,2	--
	Ho	0,501	0,391	0,531	0,503	0,482
	He	0,636	0,685	0,682	0,716	0,680
	$F_{is}$	0,192	0,401	0,230	0,301	0,281
	EHW	0,135	0,137	0,132	0,000	--

No estudo feito por Romana-Eguia et al. (2004), obtiveram valores médios de  $H_o = 0,683$  e  $H_e = 0,813$  em Tilápia GIFT, maiores aos encontrados no presente trabalho para as gerações de Tilápia GIFT G0 ( $H_o: 0,5009$ ;  $H_e: 0,6360$ ), G1( $H_o: 0,3909$ ;  $H_e: 0,6854$ ), G2( $H_o: 0,5311$ ;  $H_e: 0,6817$ ), G3 ( $H_o: 0,5033$ ;  $H_e: 0,7162$ ). Entretanto, Rutten et al., (2004) encontraram valores mais próximos a este trabalho, com valores médios  $H_e=0,704$  e  $H_o=0,696$  para tilápia GIFT da quinta geração provenientes do instituto Nacional de Aquicultura , Pesquisa e Genética de Tailândia.

Os baixos valores médios de  $H_o$  e  $H_e$  observados nas gerações analisadas no presente trabalho podem ser ocasionados devido à presença de alelos nulos que foram

evidenciados nos *loci* G12292 e G12315, ao sistema reprodutivo preferencial (Aho et al., 2006) nas quatro gerações de tilápia GIFT onde os acasalamentos foram hierárquicos. A seleção que neste trabalho foi feita por ganho em peso, que pode ser corroborado com os resultados obtidos por Romana-Eguia et al., (2005), onde os níveis de heterozigosidade média esperada para uma linhagem seleta de tilápia do Nilo foi reduzido significativamente no processo de seleção ou também a endogamia que é esperada em estoques mantidos em cativeiro (Lopera Barrero et al., 2010) e que, segundo Falconer & Mackay (1996) e Gall & Bakar (2002),. acúmulo de endogamia é uma consequência natural em populações sob seleção.

Os valores de *Fis* que podem ser interpretados como coeficiente de endogamia (*f*), indicam a ocorrência de excesso de homozigotos que apresentaram valores médios e que estiveram entre (0,192) na G0 e (0,401) na G1, valores que foram superiores ao *Fis* = 0,019 encontrados em Tilápia GIFT (Rutten et al., 2004), Os valores de *Fis* encontrados neste trabalho podem evidenciar uma resposta genética à seleção do programa de melhoramento genético (Pante et al., 2001) onde a endogamia aumentou comparando-se a primeira geração com as seguintes gerações. No entanto, a possível formação de linhagens homozigotas que é esperado em programas de melhoramento genético demonstra aumento no *Fis* (Moreira, 2001)

Houve desvios significativos no Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) nas gerações G0, G1, G2, que pode ser explicado pelo endocruzamento na formação das gerações (Cazerta, 2006) pelo excesso de homozigosis observados nos valores de *Fis* (Romana-Eguia et al., 2005, Morelli, 2008) e pela presença de alelos nulos que foram verificados em alguns *loci* (Beaumont & Hoare, 2003, Benites, 2008).

No teste de desequilíbrio de ligação verificou-se que na geração G0 os *locus* (G12311 – G12314) e (G12312 – G12315), na G1 os *locus* (G12292-G12311),

(G12292-G12312) e (G12312- G12315), na G2 (G12312-G12315) e na G3 os *locus* (G12292-G12312), (G12311-G12312) e (G12314-G12315) apresentaram desequilíbrio de ligação. Segundo Futuyma, (1992), este desequilíbrio pode ocorrer entre *loci* devido ao alto índice de homozigotos (excesso gamético) presente na população e não porque realmente estes *loci* estejam ligados no mesmo cromossomo. Também outro motivo seja a presença de *loci* em desequilíbrio no EHW encontrados na maioria dos *loci*.

Com a análise realizada no programa BOTTLENECK identificou-se um desequilíbrio entre a  $H_e$  = heterozigosidade esperada e  $H_{eq}$  =  $H_e$  em equilíbrio sob equilíbrio entre mutação e deriva, para as quatro gerações. Isto sugere que possivelmente pode estar ocorrendo uma redução do tamanho efetivo nas gerações incrementando o nível do desequilíbrio de ligação (Innes & Elliott, 2006). Segundo Lee et al., (2002), o desequilíbrio de ligação pode estar associado à inclusão de *loci* em desequilíbrio de Hardy-Weinberg, fazendo que populações sem ocorrência de gargalos populacionais pareçam tê-los experimentado recentemente o que pode explicar os resultados de desequilíbrio de ligação encontrados neste trabalho onde foi verificado desequilíbrio no EHW na maioria dos *loci* analisados, esperado numa população submetida à seleção.

Entretanto, os microssatélites mostraram que a variabilidade genética se manteve ao longo das quatro gerações submetidas à seleção o que é bom em programas de melhoramento genético já que baixa variabilidade genética pode se manifestar em termos de crescimento, viabilidade e sobrevivência e a presença de anormalidades (Lovshin, 2000; Pante, et al., 2001a).

## Conclusões

1. Os resultados denotaram que o planejamento e desenvolvimento do programa de melhoramento genético que está implantado nas tilápias GIFT no Brasil, nas primeiras quatro gerações mantiveram a variabilidade genética, no entanto na geração G1 apresentou um valor baixo de ( $H_o=0,391$ ), em comparação com a ( $H_e= 0,685$ ) possivelmente devido ao número de famílias formadoras dessa geração.

## Referências

ADAMS, L.D. & ROSEL, P.E. Population differentiation of the Atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) in the western North Atlantic, including the Gulf of Mexico. **Marine Biology**, v. 148, p. 671-681, 2006

AHO, T., J. RÖNN, J. PIIRONEN and M. BJÖRKLUND M. Impacts of effective population size on genetic diversity in hatchery reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. **Aquaculture** v 253, p244-248. 2006

BASSAM, B.J., CAETANO, A.G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Anal. Biochem.** V 196, p 80-83. 1991.

BEAUMONT, A.R.; HOARE, K. Genetic structure in natural populations. In: BEAUMONT, A.R.; HOARE, K. **Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture**. Oxford: Blackwell Science, p.47-72. 2003.

BENITES, C. **Caracterização genética do pintado *Pseudoplatystoma corruscans*, (Spix & Agassiz,1829) (Siluriformes: Pimelodidae) da Bacia Paraná-Paraguai, por marcadores moleculares do tipo microssatélite**. 65p, 2008 Tese (doutorado) UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Jaboticabal

BENGTSSON, B.O.; WEIBULL, P.; GHATNEKAR, L. The loss of alleles by sampling: a study of the common outbreeding grass *Festuca ovina* over three geographic scales. **Hereditas**, v.122, p.221-238, 1995.

BOROWSKY, R.L. Estimating nucleotide diversity from random amplified polymorphic DNA and Amplified fragment length polymorphism data. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v 18, n 1, p 143-148. 2001.

CALLEN, D.F.; THOMPSON, A.D.; SHEN, Y.; PHILLIPS, H.A.; RICHARDS, R.I.; MULLEY, J.C.; SUTHERLAND, G.R.. Incidence and Origin of "Null" Alleles in the (AC)<sub>n</sub> Microsatellite Markers. **American Journals of Human Genetics**, v 52, p. 922-927. 1993.

CARLSSON, J. Effects of Microsatellite Null Alleles on Assignment Testing.. **Journal of Heredity**. V 99, n 6, p 616–623. 2008.

CAZERTA, A.P.F. **Variabilidade genética de golfinhos rotadores (*Stenella longirostris*) a partir de marcadores microssatélites**.2006,94p. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Botocatu.

ESPÍNDOLA, M.S. **Caracterização genética de reprodutores de tilápia:estratégias para a manutenção da variabilidade**.2007, 48p. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural De Pernambuco, Recife.

EXCOFFIER, L.G; SCHNEIDER, S. **Arlequin ver. 3.0 an integrated software package for population genetics data analysis**. Evolutionary Bioinformatics Online 1: 47-50p, 2005.

FALCONER D.S. & MACKAY, T.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4th edn. Longman, Harlow, UK. 1996.

FUTUYMA, D. J. **Biologia Evolutiva**. 2 ed. Tradução M. Vivo. Ribeirão Preto, 1992. 631p. Sociedade Brasileira de Genética / CNPq.

GALL G.A.E. & BAKAR Y. Application of mixed-model techniques to fish breed improvement: analysis of breeding value selection to increase 98-day body weight in tilapia. **Aquaculture** v 212, p 93-113, 2002.

GUPTA, M.V.; ACOSTA, B.O. From drawing board to dining table: the success story of the GIFT project. Naga: The ICLARM **Quarterly**, Yaounde, v. 27, n. 2-3, p. 4-14, 2004.

HALLERMAN, E.M. Population genetics: Principles and practices for fisheries scientists. **American Fisheries Society**, Bethesda, MD. 458 p. 2003.

INNES, B.H.; ELLIOTT, N.G. Genetic diversity in a Tasmanian hatchery population of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) compared with its Canadian progenitor population. **Aquaculture Research**, v.37, p.563-569, 2006.

LEE B-Y. & KOCHER T.D. (2002) Sequencing of BAC library for comparative mapping sex determination genes in tilapia. Proceedings of the international conference on the status of Plant Animal and Microbe Genomes X, <http://www.intl-pag.org/10/> accessed in: 25 July 2003.

LIMA RMG. **Polimorfismos de microssatélites em DNA de eqüinos e seu uso na determinação de parentesco em animais da raça mangalarga machador**. 1998, 91p. Tese (Doutorado)-Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LOPERA-BARRERO, N.M. et al. Comparison of DNA extraction protocols from preserved fish fins and larva for pcr amplification: modified salt extraction. **Genet. Mol. Biol.**, Ribeirão Preto, 2007.

LOPERA, B.N.M.; POVH, J.A; RIBEIRO, R.P; GOMES, P.C; JACOMETO, C.B; LOPES T.S.. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con sal (NaCl). **Cien. Inv. Agr.** 35.: 2008

LOPERA BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; VARGAS,L.; POVH, J.A.; LOPES, T.S.; OLIVEIRA, S.N.; GOMES, P.C. Diversidad genética de *Piaractus mesopotamicus* utilizado em programas de repoblación. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.51-62, 2010.

LOVSHIN L.L. Criteria for selecting Nile tilapia and red tilapia for culture. In: **Tilapia Aquaculture in the 21st Century. Proceedings from the Fifth International Symposium on Tilapia in Aquaculture**, Vol. 1, Rio de Janeiro, Brazil (ed. by K. Fitzsimmons & J. Carvalho Filho), 2000. pp. 49^57.

LUPCHINSKI, E.J.; VARGAS L.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; MANGOLIN,C.A.;LOPERA N.M.B. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Sci. Anim. Sci**, v. 30, n. 2, p. 233-240, 2008.

MCCONNELL, S.K.J; BEYNON, C; LEAMON, J, SKIBINSKI, D.O. Microsatellite marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. **AnimGenet**, v.31, p.214-218, 2000.

MELO, D.C., D.A.A. OLIVEIRA, L.P. RIBEIRO, C.S. TEIXEIRA, A.B. SOUZA, E.G.A. COELHO, D.V. CREPALDI e E.A. TEIXEIRA. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 58: 87-93. 2006.

MELO, D.C., D.A.A. OLIVEIRA, SEERIG A., CARVALHO D.C. de. Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, n.4, p.220-224, 2008.

MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA. **Biotecnol Ciênc Des**, n.5, p.14-17, 1998.

MOREIRA, H.L.M. **Análise da estrutura de populações e diversidade genética e estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélite.** 1999 112 p. Tese (doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MOREIRA, H.L.M. Genética e Melhoramento de Peixes. *In*: Fundamentos da moderna aqüicultura. Moreira, H.L.M., L. Vargas, R.P. Ribeiro e S. Zimmermann (eds). **ULBRA**, Canoas. p. 135-147, 2001.

MORELLI, K.A.2008. **Migração do curimatá (*Prochilodus lineatus* Prochilodontidae, Characiformes) no Rio Mogi Guaçu: aspectos genético populacionais**. Botucatu Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista.

PANTE M.J.R., GJERDE B. & MACMILLAN I. Effect of inbreeding on body weight at harvest in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. **Aquaculture** 192, 201-211.2001a.

PINEDA-SANTIS HR. Estudio genético de las cachamas (subfamilia Serrasalminae) en poblaciones naturales y en cautiverio en Colombia. **Rev Col Cienc Pec.** 17(S):62-63, 2004.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. Genepop (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, v.86, p.248-249, 1995.

ROMANA-EGUIA, M.R.R.; IKEDAB, M; BASIAOA, Z.U; TANIGUCHIB, N. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA. **Aquaculture**, v 236, p 131-150 2004.

ROMANA-EGUIA, M.R.R.; IKEDAB, M; BASIAOA, Z.U; TANIGUCHIB, N. Genetic changes during mass selection for growth in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), assessed by microsatellites. **aquaculture research**, v.36, p 69 - 78, 2005.

RUTTEN, M.J.M.; KOMEN, H.; DEERENBERG, R.M.; SIWEK, M.; BOVENHUIS, H. Genetic characterization of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using microsatellite markers. **Animal Genetics**, v.35, p.93-97, 2004.

SAURA, M.; CABALLERO, P.; CABALLERO, A.; Morán, P. 2006. Genetic variation in restored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations in the Ulla and Lérez rivers, Galicia, Spain. **ICES J. Mar. Sci.** 63, 1290-1296.

SHINDE, D, LAI YL, SUN FZ, ARNHEIM N.. Taq DNA polymerase slippage mutation rates measured by PCR and quasi-likelihood analysis: (CA/GT)(n) and (A/T)(n) microsatellites. **Nucleic Acids Research** 31:974–980, 2003

SILVA, A.L.N.; CHAMMAS, M.A. Current status of tilapia culture in Brazil. **World Aquaculture Society**, p350-351, 1997.

VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H. C. Structure of allozyme variation in Nordic *Silene nutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, Oxford, v.81, n. 3, p. 357-371, Mar. 2004.

YEH, F.C., BOYLE T.Y.Z., XIYAN J.M. PopGene Version 131: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Center for International Forestry Research. Alberta. 29 p. 1999.

YU , Y.; NIE, L.; HE, Z.Q.; WEN, J.K.; JIAN, C.S.;ZHANG, Y.P. Mitochondrial DNA variation in cattle of south China: Origin and introgression. **Animal Genetics**, v.30, p 245-250. 1999.

ZIMMERMANN, S. Um moderno instrumental genético no melhoramento e na rastreabilidade de tilapias nilóticas. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v.13, p69 ,2003.



#### IV. APÊNDICE

**Apêndice A.** Análise dos alelos de microsatélite produzidos a partir da amplificação com o loco G12314, separados em gel de poliacrilamida desnaturante (10%).

