

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**

**CAMPUS JATAÍ**

**CURSO DE ZOOTECNIA**

**MARCOS VINÍCIUS ANTUNES DE LEMOS**

**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AO MELHORAMENTO GENÉTICO DE  
PEIXES**

**JATAÍ-GO**

**MARCOS VINÍCIUS ANTUNES DE LEMOS**

**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AO MELHORAMENTO GENÉTICO DE  
PEIXES**

Relatório Final de Estágio Obrigatório  
apresentado ao Colegiado do Curso de  
Zootecnia como parte das exigências  
para a obtenção do título de Bacharel  
em Zootecnia.

Orientador:

Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães

**JATAÍ-GO**

**2011**

*A Deus, por ter me tornado capaz de seguir em frente e atingir meus objetivos.*

*Aos meus pais Devacy e Maronita que sempre estiveram ao meu lado, mesmo distantes, mostrando sempre o que é necessário para lutar, pelo amor, apoio e compreensão. Aos meus irmãos Claudya, Victor e a pequena Lara, pessoas que amo muito e sempre amarei.*

## **AGRADECIMENTO**

Ao Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães, pela orientação, força, amizade, paciência, dedicação, oportunidade e por ser professor da UFG – Jataí.

Ao Prof. Dr. Arthur dos Santos Mascioli, pelos conselhos, orientações e acima de tudo amizade.

A querida Prof<sup>a</sup>. Dra. Carina Ubirajara Faria, hoje na Universidade Federal de Uberlândia, pelos ensinamentos, amizade, conselhos, orientações e por ter me ensinado o que é o melhoramento genético animal.

A todos os Professores da Universidade Federal de Goiás – Jataí, que contribuíram para a minha formação.

Ao Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, pela oportunidade concedida para a realização do estágio e pela atenção e confiança depositada em mim.

A Pilar Rodriguez, coordenadora do Laboratório de Biologia Molecular – PeixeGen, pelo ensino, paciência, amizade e confiança.

A Secretária do Curso de Zootecnia, Evaci Silva, pela constante dedicação, presença e suporte nas horas necessitadas.

A toda minha família que se encontra longe da cidade de Jataí, mesmo assim me ajudando sempre. Amo muito vocês!

A família PeixeGen, que me receberam muito bem, me orientando, divertindo e trabalhando muito. Daniele, Pilar Rodriguez, Tatiani Botini, Fernanda Tanamati, Jéssica Cremonezze, Guilherme Churoff, Yagor Victor, Frederico, Monica Merenda.

A outra parte da família PeixeGen – CODAPAR, Natali Kunita, Graziella Yoshida, Gabriel, Bárbara, Vitão, Geraldo e Cleiton pela amizade, companheirismo e dedicação.

As grandes amizades feitas na cidade de Maringá-PR, Fabrício Rezende, Carlos Barão, Mauro Cezar, Mário Gabriel, Edicarlos Queiroz, Sabrina Chiarelo, Laura Botta.

A toda equipe do grupo GENAQUA, Cris e Hernane, Wesley, Thiago Quirino, Carol, Hugo, Nayara e Carla, pela ajuda, paciência e aprendizado durante todo esse tempo.

A todas amizades que conquistei em Jataí durante estes 5 anos, Dênia Oliveira, Iana Mani, Polyana Furtado e Josenilton, Gustavo Matias, Vanessa Lima, Rogério Cabral, Katilene Moraes, Tania Joaquina, Lorena Rodrigues, Janaína Rodrigues, Larissa Cabral, Amábili Martins, Danilo e Bruno (gêmeos), João Thiago, Arthur, Milton Jr., Vinicius Moraes, Gustavo Pina, Patricia, Eliane, Fábio e a todos aqueles que fizeram parte da minha vida neste período, obrigado de coração por tudo.

Aos amigos, companheiros inseparáveis do Curso de Zootecnia, Dênia Oliveira, Polyana Furtado, Iana Mani, Katilene Moraes e Glênio Campos, pelas horas de estudos, trabalhos, seminários juntos, aulas práticas, festas... Pelos cinco anos de companheirismo.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que estiveram ao meu lado e que sempre acreditaram em mim e no meu trabalho.

## SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS .....	6
1	INTRODUÇÃO .....	8
2	RELATÓRIO DE ESTÁGIO .....	10
2.1	Local do estágio .....	10
2.2	Caracterização da empresa .....	10
2.3	Atividades realizadas durante o estágio .....	10
2.3.1	Monitoramento genético utilizando marcadores moleculares .....	11
2.3.1.1	PRC ( <i>Polimerase Reaction Chain</i> ) .....	11
2.3.1.2	RAP ( <i>Randon Amplified Polymorfic DNA</i> ) .....	14
2.3.1.3	Marcadores <i>microssatélites</i> .....	15
2.3.2	Programa de melhoramento genético da tilápia GIFT .....	16
2.3.2.1	Acasalamento .....	17
2.3.2.2	Hapas de recria .....	20
2.3.2.3	Identificação dos animais .....	20
2.3.2.4	Biometria .....	22
2.3.2.5	Avaliação genética .....	23
2.3.2.6	Consequências da seleção .....	24
2.4	Tilapicultura no Brasil .....	25
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
4	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1	Câmara de fluxo laminar .....	12
Figura 2	Termocicladores.....	13
Figura 3	Pipetagem do DNA em gel de agarose .....	14
Figura 4	Revelação do gel de policrilamida – técnica microssatéltes.....	15
Figura 5	Hapas de acasalamento.....	17
Figura 6	Avaliação da fertilidade das fêmeas.....	18
Figura 7	Retirada do lábio superior dos machos.....	18
Figura 8	Fêmea ferida pelo macho.....	19
Figura 9	Indução.....	19
Figura 10	Incubadoras.....	20
Figura 11	PIT – tag, aplicador e escâner eletrônico.....	21
Figura 12	Aplicação do microchip.....	22
Figura 13	Biometria.....	23

## 1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético animal tem sido impulsionado pela demanda crescente por competitividade das atividades de produção e pela importância cada vez maior, da qualidade do produto e da eficiência da produção nas mais diferentes espécies exploradas comercialmente (Euclides Filho, 1999).

Em espécies terrestres (bovinos de corte e leite, aves de corte e postura e suínos), os programas de melhoramento genético têm proporcionado uma contribuição substancial para a viabilidade e produtividade industrial. Tal fato faz com que o melhoramento genético animal seja considerado como uma ferramenta propulsora do desenvolvimento das atividades pecuárias, visto que o esforço empregado nesta técnica promove mudanças nos genótipos existentes permitindo um aumento na produtividade juntamente com as demais áreas de conhecimento como nutrição, alimentação e sanidade animal (Lôbo et al., 2007).

Entretanto, o Brasil possui um enorme potencial de desenvolvimento para a aqüicultura, possuindo enorme potencial hídrico com 7.048 km de costa marítima, 55.457 km<sup>2</sup> de águas interiores, aliados a uma variedade de peixes nativos de água doce com potencial de exploração econômica. Embora existam muitas iniciativas de criação de organismos aquáticos no Brasil, esta atividade ocupava a modesta 18<sup>a</sup> posição de produção a nível mundial em 2004 (FAO, 2008).

Portanto, um aspecto chave para maximizar a produtividade em peixes, deve ser a obtenção de genótipos que respondam bem a condições ambientais específicas, levando em consideração sua produtividade e sobrevivência por unidade de área. Dentre as principais ferramentas disponíveis para o melhoramento genético destacam-se a seleção e cruzamento.

A seleção, de modo geral, tem o objetivo de melhorar e/ou fixar alguma característica de importância, permitindo que os melhores indivíduos de uma geração sejam pais da geração subsequente. Já o cruzamento é uma forma de acasalamento entre espécies, raças ou linhagens diferentes, ou seja, entre indivíduos menos aparentados que a média da população. A associação dessas duas ferramentas conduz a uma sinergia positiva nos programas de melhoramento genético, proporcionando incrementos de produção e de produtividade (Pereira, 2008).



Os programas de melhoramento genético apresentam atributos altamente desejáveis, entre eles pode-se citar (Resende et al. 2010):

1. A capacidade de modificar o animal para atender a um objetivo ou ao meio ambiente;
2. Melhoria da produtividade, confiança e consistência da produção na medida em que o ganho pode ser permanente;
3. Aumento da tolerância a patógenos existentes ou emergentes e a desafios ambientais;
4. Melhoria do retorno favorável ao investimento;
5. Diminuição da distância entre oferta e demanda sem causar impacto ambiental negativo;
6. Ferramenta para o controle da consangüinidade no sistema de produção.

Desta forma, a Universidade Estadual de Maringá é pioneira no programa de melhoramento genético de tilápias GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilápia). Visto a grande importância do programa e necessidade de dissipação das técnicas realizadas no mesmo é que surgiu a oportunidade da realização do Estágio curricular obrigatório do aluno autor deste relatório.

## **2. RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

### **2.1 Local do estágio**

O estágio curricular obrigatório para a conclusão do curso de Graduação em Zootecnia, pela Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí, foi realizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM), Departamento de Zootecnia.

Em função dos diversos estudos e projetos na área da piscicultura, a UEM conta com o Grupo PeixeGen.

O estágio foi realizado no período de 21 de março a 26 de maio de 2011, totalizando 360 horas. As atividades foram supervisionadas pelo Professor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia, Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, sob a orientação do Professor Dr. Igo Gomes Guimarães.

As atividades práticas de manejo foram realizadas na CODAPAR, localizada no município de Floriano – PR, e as atividades laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular, localizado no bloco G57 na UEM.

### **2.2 Caracterização da empresa – Universidade Estadual de Maringá**

A UEM está localizada no Noroeste do Paraná, região com mais de dois milhões de habitantes. Está organizada nos câmpus de Maringá, Umuarama, Cianorte, Goioerê, Diamante do Norte e Cidade Gaúcha, além da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Base Avançada de Pesquisa em Porto Rico e do Centro de Pesquisa em Piscicultura em Floriano. Foi criada em 1970 e obteve seu reconhecimento em 1976. Atualmente, oferece 52 cursos de graduação, 93 de especialização, 28 de mestrado e 12 de doutorado.

### **2.3 Atividades realizadas durante o estágio**

No dia 21 de março, iniciou-se o estágio com a apresentação e esclarecimento das atividades realizadas pelo Grupo de Pesquisa, juntamente com a apresentação dos locais de trabalho e determinação das atividades a serem realizadas no programa de Melhoramento Genético de Tilápias. As atividades realizadas em ordem cronológica foram: monitoramento genético de peixes utilizando técnicas moleculares como PCR

(Polimerase Chain Reaction), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e Microsatélites; participação no programa de melhoramento genético da tilápia GIFT; identificação e acasalamento dos progenitores; identificação dos alevinos; morfobiometria; avaliação genética.

### **2.3.1 Monitoramento genético utilizando marcadores moleculares**

O monitoramento genético e controle da endogamia em pisciculturas são importantes para a conservação da capacidade de adaptação de uma espécie. Um aumento de 10% na endogamia pode resultar em uma redução da capacidade de sobrevivência em torno de 3 a 15% (Saura et al 2006; Wang et al 2002). Para isto, as técnicas moleculares são importantes ferramentas para a investigação e monitoramento de populações nativas ou de espécies mantidas em cativeiro.

O processo consiste inicialmente, na coleta de amostras das nadadeiras dos progenitores que participam do programa de Melhoramento Genético de tilápias GIFT, as quais posteriormente serão submetidas aos diferentes procedimentos para realização das técnicas moleculares.

#### **2.3.1.1 PCR (*Polimerase Chain Reaction*)**

Descoberta em meados da década de 80, a técnica de PCR consiste em um processo simples e eficiente de multiplicar, *in vitro*, em escala exponencial, a quantidade de DNA de uma amostra (Mulis e Falona, 1987). Esta reação se baseia em ciclos repetidos de replicação *in vitro* da molécula de DNA. Cada nova molécula sintetizada em um ciclo é utilizada como molde no ciclo seguinte.

Inicialmente é realizada a extração de DNA das nadadeiras dos animais e diluição do material (DNA), o mesmo é colocado em um tubo juntamente com os reagentes que caracterizam o Mix da reação que realizará a amplificação do material. Os reagentes são eles: DNA que se deseja multiplicar (DNA-molde ou DNA-alvo); os desoxirribonucleotídeos (dNTPs), que irão formar as novas fitas de DNA; os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), que norteiam a região do DNA que será amplificada; a enzima que polimeriza o DNA – Taq DNA-polimerase; e os agentes tamponantes e co-fatores que garantirão a atividade da enzima. Na técnica de PCR, o fragmento de DNA a ser amplificado deve apresentar dois sítios complementares ao

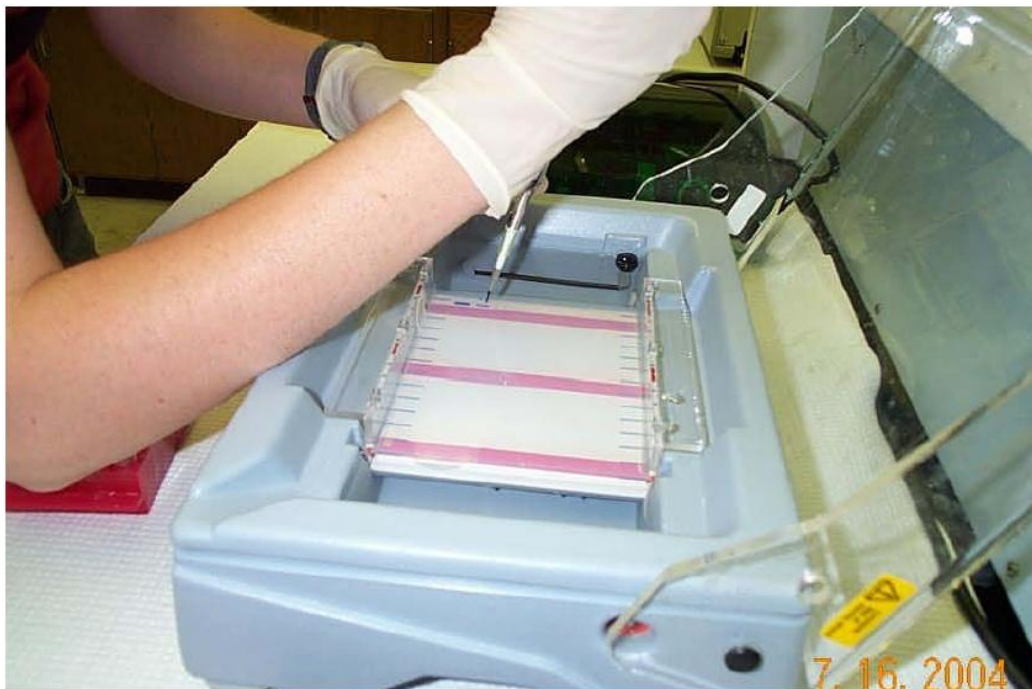
*primer* utilizado na reação. Estes sítios devem estar presentes em fitas opostas do DNA, a uma distancia compatível com a capacidade de extensão de um *primer* até a cópia completa do sítio ao outro *primer* e vice-versa.

A adição do DNA molde é realizada dentro de uma câmara de fluxo laminar para evitar contaminação da amostra (Figura 1)



Figura 1. Câmara de Fluxo Laminar

Após o término da amplificação, o material é submetido à eletroforese em gel de agarose a 1,7%. O DNA amplificado é diluído em uma solução de azul de bromofenol, a qual serve como um inativador da reação (*STOP*), além de aumentar a densidade do DNA para ser depositado nos poços do gel de agarose (Figura 3), com o auxílio de uma micropipeta.



<http://www.stolaf.edu/people/muth/7-16-04%20007.jpg>

Figura 3. Eletroforese de DNA em gel de agarose

Depois de pipetar todo o material no gel de agarose, que se encontra dentro de uma cuba, imerso em solução Tris-borato-EDTA, o mesmo é submetido a uma fonte de eletroforese que serve para separar macromoléculas pelo seu tamanho, carga ou conformação. Quando as moléculas são submetidas a um campo elétrico, migram para o pólo positivo ou negativo, lembrando que o DNA sempre terá carga negativa por possuir fostato em sua composição, migrando portanto em direção ao pólo positivo.

O gel permanece por um período de 4 horas até que todo o DNA tenha se deslocado. Posteriormente, deve-se realizar o procedimento de coloração do gel em solução de brometo de etídeo por 30 minutos, o que permite a visualização dos fragmentos de DNA amplificados em luz ultravioleta.

### **2.3.1.2 RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

Devido à alta especificidade e sensibilidade, o PCR se transformou na principal técnica de diagnóstico molecular e uma ferramenta indispensável nos mais diversos campos de pesquisas genéticas. Entretanto, a aplicação dos marcadores moleculares se tornou mais acessível com o desenvolvimento dos marcadores RAPD, descobertos por dois grupos de pesquisadores Williams *et al.* (1990) e Welsh & McClelland (1990).

Esta técnica é semelhante à PCR, entretanto utiliza apenas um *primer*, de modo que é capaz de detectar o polimorfismo do DNA em uma mesma espécie

Para a amplificação, o marcador RAPD utiliza um único *primer* mais curto, normalmente de dez nucleotídeos com sequência arbitrária. Dessa forma, não há necessidade de conhecimento prévio do DNA da espécie a ser investigada (Bártfai, 2003). Esse *primer*, se ligará em vários pontos do DNA alvo que apresentem sequência complementar a ele, de modo que um grande número de bandas será visualizado no gel de agarose. Portanto, o procedimento de extração, quantificação, diluição e amplificação do material genético são semelhantes ao utilizado no PCR. A detecção dos produtos de amplificação é feita em gel de agarose com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta (Borowsky, 2001).

O número de bandas geradas por um marcador RAPD é ilimitado. Vários *primers* podem ser utilizados de formas simultâneas e as seqüências dos segmentos amplificados variam entre DNA de cópia única e DNA altamente repetido, o que proporciona aumento na variabilidade genética detectada (Oliveira et al., 2002).

Apesar do menor custo e menor tempo para obtenção de resultados, comparado a outras técnicas moleculares, RAPD possui algumas desvantagens (Milach, 1998): 1) apresentam como característica básica a dominância, não permitindo distinguir indivíduos homozigotos dominantes de heterozigotos em uma população; 2) sensibilidade a pequenas alterações nas concentrações dos reagentes, podendo gerar alterações nos produtos; 3) baixo grau de reprodução dos resultados (Pérez *et al.*, 1998).

### **Marcador microssatélites**

Os genomas eucarióticos são densamente povoados por seqüências simples repetidas, as quais consistem em um a seis nucleotídeos repetidos em tandem. Estas repetições são denominadas microssatélites, SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou STR (*Short Tandem Repeat*). Seu alto conteúdo polimórfico é uma importante característica para o estudo de indivíduos dentro e entre populações. Desta forma, são utilizados em estudos filogenéticos e em construções de mapas genéticos/genealógicos de alta precisão (Yan et al., 2005).

Os marcadores microssatélites são os que possuem o mais elevado número de informação de polimorfismo por *locus*, sendo úteis na detecção de altos níveis de variação e de alelos raros (Alam & Islam, 2005). Estes marcadores estão substituindo

rapidamente outras técnicas em vários tipos de estudos genéticos, principalmente, devido à sua reprodutibilidade e simplicidade metodológica, bem como à pequena quantidade de DNA requerida, baixo custo, grande poder de resolução e aos altos níveis de polimorfismo.

Os produtos da amplificação (via PCR), que permitem a utilização de *primers* específicos, devido ao fato das seqüências de DNA que flanqueiam os microssatélites serem geralmente conservadas entre os indivíduos da mesma espécie, foram observados em policrilamida desnaturante ou não-desnaturante, por terem alta capacidade de resolução permitindo assim melhor visualização do material amplificado. A visualização das bandas no gel foi realizada por coloração com nitrato de prata (Figura 4).



Figura 4. Revelação do Gel de policrilamida na técnica de microssatélites

### 2.3.2 Programa de melhoramento genético da tilápia GIFT

O surgimento do programa de melhoramento genético se deu com o convênio firmado entre a Universidade Estadual de Maringá com o órgão não governamental na Malásia, denominado “WorldFish Center”, no ano de 2005, resultando na importação pela UEM de 30 famílias melhoradas da linhagem GIFT de tilápia-do-nilo (Oliveira et al.,2011).

O foco de seleção deste programa é a taxa de crescimento, medida a partir do ganho médio diário, entretanto, outros parâmetros corporais e de porcentagem de mortalidade à idade comercial, têm sido coletadas para incrementar o número de informação por animal. Com um sistema de coleta de informações eficiente é possível identificar fatores ambientais que causam variação no desempenho dos animais, e que se desconsiderados, poderiam conduzir a predições viciadas dos valores genéticos, interferindo na classificação dos animais, reduzindo a resposta à seleção.

### 2.3.1. Acasalamento

Os animais selecionados para serem progenitores das próximas gerações, são selecionados em função de avaliações genéticas, que identificam os animais geneticamente superiores.

O programa conta inicialmente com a constituição das famílias, sendo cada uma formada por um macho e duas fêmeas, os quais constituirão uma família de irmãos completos e meio irmãos. Os reprodutores são colocados em um tanque escavado, dentro das hapas de acasalamento (Figura 5).



Figura 5 – Hapas de acasalamento

Quando as fêmeas se encontram no seu período fértil, o macho é colocado na hapa das mesmas. A detecção da fertilidade das fêmeas é realizada por pequena pressão



abdominal e observação da cavidade reprodutiva, quanto à liberação ou não de ovos. A fêmea somente estará apta para o acasalamento se houver a liberação de ovos com coloração amarelada e sem a presença de sangue. Na observação da cavidade reprodutiva analisa-se sua cor, sendo favorável apresentar uma coloração mais rósea (Figura 6).



Figura 6 – Avaliação da fertilidade das fêmeas

Para evitar que o macho machuque e até mesmo mate as fêmeas, faz-se o procedimento de retirada do seu lábio superior (Figura 7). O procedimento é realizado com os machos anestesiados e todo o material esterilizado.



Figura 7. Retirada do lábio superior dos machos

Apesar deste procedimento, alguns machos são tão agressivos que conseguem ferir (Figura 8) ou até matar as fêmeas, comprometendo o sucesso da reprodução do programa.



Figura 8. Fêmea ferida pelo macho

Após a desova o macho é retirado da hapa da fêmea, a qual permanece com as ovas, até o momento da retirada e transferência das pós-larvas para as hapas de recria.

Quando o acasalamento natural não atinge os índices esperados durante a estação de reprodução, a opção passa a ser a indução dos animais utilizando hormônio hipofisário (Figura 9). As dosagens hormonais são calculadas de acordo com o peso dos animais. Após monitoramento das fêmeas, no momento certo é realizada a extrusão dos ovos e após a fecundação externa, são levados para incubadora (Figura 10).



Figura 9. Indução

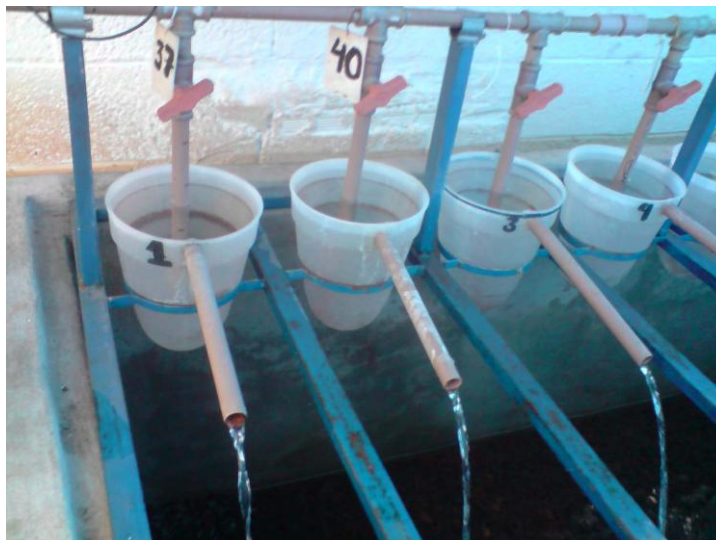


Figura 10. Incubadoras

### 2.3.2.2 Hapas de recria

Provenientes das hapas de acasalamento, os alevinos que já perderam o saco vitelínico e podem nadar, são transferidos para as hapas de recria de alevinos, previamente identificadas.

As hapas de recria devem ser instaladas no mesmo viveiro, com densidade similar de alevinos, e grupos de uma mesma família devem ser alocados aleatoriamente no viveiro, para reduzir as diferenças ambientais entre famílias (Oliveira et al., 2011).

Os alevinos são mantidos nas hapas de recrias até atingirem o tamanho ideal para a identificação.

### 2.3.2.3 Identificação dos animais

Os animais selecionados para participarem do programa de melhoramento genético são colocados em um tanque de cimento, onde são identificados. O método de identificação sugerido para os programas de melhoramento genético em peixes e utilizado no programa da UEM, é o uso de *microchips* implantáveis na cavidade abdominal (*Passive Integrated Transponder – PIT-tag*) (Figura 11), pois apresentam pequena porcentagem de perda, são de fácil aplicação e manipulação, fornecem informações seguras e individuais. Esses *microchips* apresentam numeração internacional única, e possuem um leitor eletrônico.





Figura 11. PIT-tag, aplicador e escâner eletrônico.

A geração de informações, por meio da identificação, permite a construção da matriz de parentesco, necessária para a predição dos valores genéticos de cada reprodutor e auxilia na determinação dos acasalamentos, diminuindo a ocorrência de acasalamentos consangüíneos, potencializando os ganhos genéticos a partir dos acasalamentos entre indivíduos superiores (Oliveira et al, 2011).

A fase escolhida para a identificação utilizando *microchips*, sem maiores prejuízos para os animais é quando estão com peso superior a 15 gramas. Para realizar a identificação dos animais, os mesmos são insensibilizados com imersão em solução de eugenol. O aplicador do *microchip* é então imerso em solução de iodo e posteriormente imerso em álcool 70%. A aplicação do *microchip* é realizada na cavidade abdominal, logo acima do ânus em direção à cabeça (Figura 12).



Figura 12. Aplicação do *microchip*

Após a implantação do *microchip* coloca-se uma pequena quantidade de pomada, (Bactoderm<sup>®</sup>), para ajudar na cicatrização e impedir o sangramento. Em seguida os animais podem ser transferidos para tanques de produção coletiva.

#### **2.3.2.4 Biometria**

As diferentes medidas morfométricas são realizadas em intervalos de 30 dias, quando são coletados os dados de peso dos animais, o tamanho da cabeça (início da boca até a abertura do opérculo), largura (medida na inserção da nadadeira dorsal), altura (distância entre nadadeiras dorsal e peitoral), comprimento total e comprimento padrão (correspondente a distância do início da boca até a inserção da nadadeira caudal) (Figura 13). São anotadas também as informações de sexo, idade à pesagem, além das informações de identificação individual.

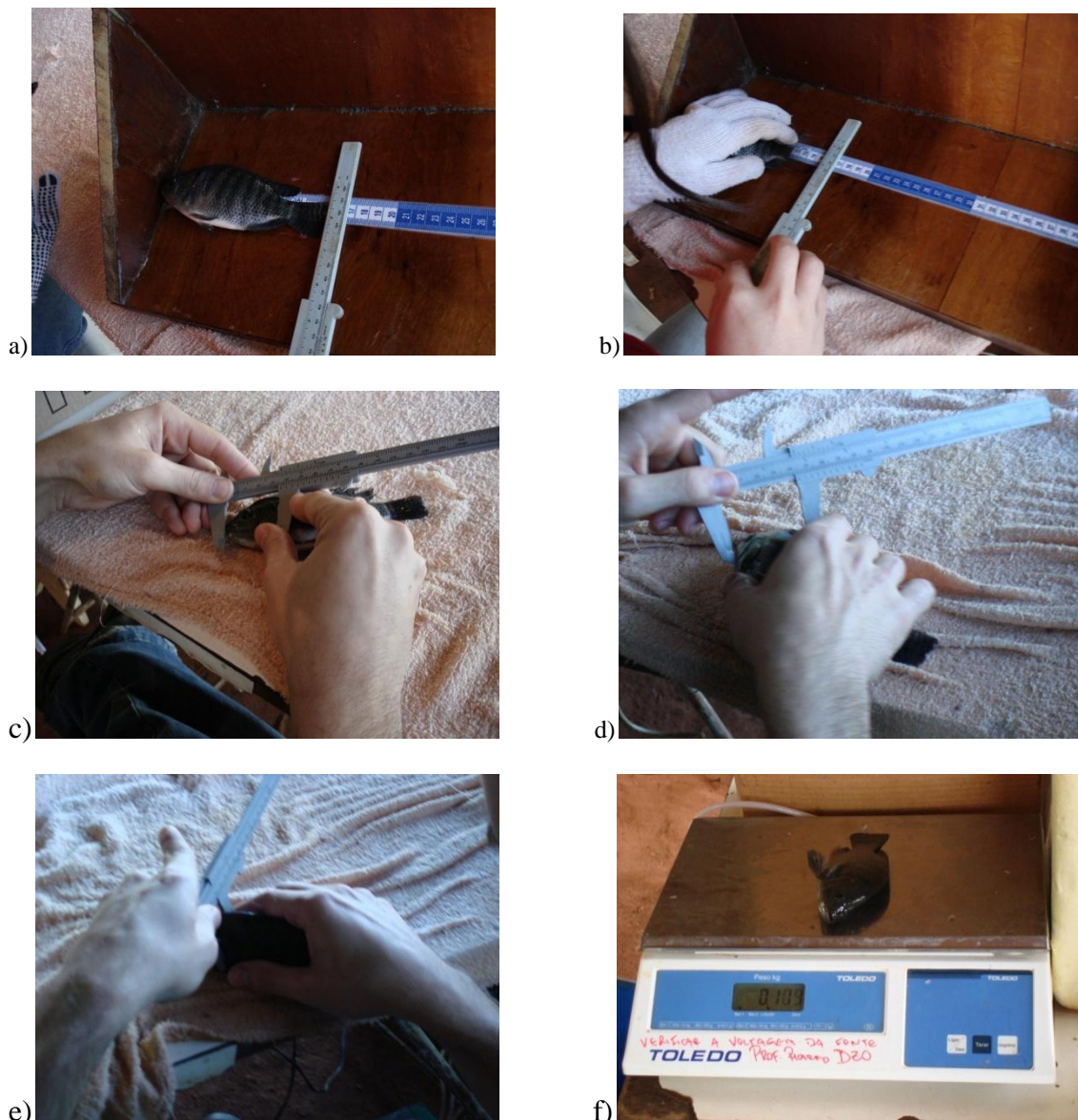


Figura 13. Biometria- a: comprimento total; b: comprimento padrão; c: tamanho da cabeça; d: altura; e: largura; f: peso.

### 2.3.2.5 Avaliação genética

A partir dos dados coletados para as diferentes características em estudo é possível proceder à avaliação genética dos animais, por meio de metodologia específica, e conseqüentemente a identificação dos indivíduos geneticamente superiores.

O modelo estatístico utilizado no programa de melhoramento genético é denominado de modelo animal, no qual para cada observação se descreve o valor genético do animal que a produz. Esta abordagem permite a predição dos valores

genéticos e estimação dos efeitos ambientais, de forma simultânea, com propriedades estatísticas ótimas, a partir das informações das medidas das características, do parentesco entre os indivíduos avaliados e dos efeitos ambientais sistemáticos e das estimativas dos componentes de (co) variância e parâmetros genéticos da população avaliada. (Oliveira et. al., 2011).

### **2.3.2.6 Conseqüências da seleção**

Em melhoramento genético animal, a seleção caracteriza-se pela escolha dos pais da próxima geração visando aumentar a frequência dos genes favoráveis, e conseqüentemente, reduzindo a frequência dos genes de efeito desfavorável. Portanto, a resultados da seleção dependem da variabilidade genética entre os indivíduos, da frequência gênica na característica e da intensidade de seleção, exercida sobre a característica (Pereira, 2008).

A geração de populações mais homogêneas, resultantes da seleção, aumenta a probabilidade do acasalamento de indivíduos aparentados, principalmente quando ocorre redução no tamanho efetivo da população (Oliveira et al. 2011).

Em peixes, em função do grande número de filhos gerados pelos reprodutores, a seleção de indivíduos aparentados tem maior probabilidade de ocorrência. Os acasalamentos endogâmicos aumentam a ocorrência de indivíduos homozigotos, sendo os alelos originários do mesmo ancestral comum, aumentando assim, as chances de aparecimento de genes deletérios em homozigose, além de diminuição do vigor híbrido para as características reprodutivas e adaptativas (Oliveira et al. 2011)

Considerando-se que nas espécies aquícolas, o processo produtivo pode ser conduzido a partir de um número pequeno de reprodutores, a separação dos indivíduos que serão pais da próxima geração pode intensificar a seleção de animais aparentados, o que conduz à redução da variabilidade genética, ao incremento da consanguinidade, à diminuição das taxas reprodutivas e da adaptação dos animais, bem como da resposta à seleção (Bentsen e Olesen, 2002).

Dessa forma, cuidados devem ser tomados com o objetivo de reduzir os impactos negativos da seleção, como por exemplo:

- Iniciar programas de melhoramento genético a partir de um número elevado de famílias (Bentsem e Olesen (2002), indicam pelo menos 50 famílias);

- Na avaliação genética, manter pelo menos 50 representantes de cada família (Bentsem e Olesen, 2002);
- Estabelecer sistemas de acasalamentos que aumentem o número de famílias nos programas de melhoramento. Os acasalamentos fatoriais (todos os machos com todas as fêmeas) ou de subconjuntos fatoriais, tem apresentado melhores resultados que os acasalamentos hierárquicos (um macho com um grupo exclusivo de fêmeas) ou simples (cada macho com uma fêmea);
- Manutenção da taxa de incremento da endogamia abaixo de 1% por geração;

## 2.4 Tilapicultura no Brasil

Tilápia é o nome comum de aproximadamente 70 espécies de peixes pertencente a família Cichlidae. É nativa da África tropical (Watanabe et al., 2002), do vale Jordan e da costa do Rio Palestina (Herbst, 2002), porém, apenas quatro conquistaram destaque na aquicultura mundial, a saber: tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*; tilápia de Moçambique, *O. mossambicus*; tilápia azul, *O. aureus* e tilápia de Zanzibar, *O. urolepis hornorum* (Kubitza, 2000).

Várias introduções de tilápias foram realizadas no Brasil para a consolidação da tilapicultura, destacando-se a *Tilapia rendalli*, no ano de 1952 (Godoy, 1959), a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, no ano de 1971, e a tilápia Zanzibar, *Oreochromis hornorum*, em 1971 (Da Silva et al., 1975). As introduções mais recentes constituíram-se de linhagens da tilápia Nilótica, a tilápia Chitralada em 1996, e mais recentemente a tilápia Supreme e a tilápia GIFT (Zimmermann, 1999, 2003).

Com o desenvolvimento científico, difusão das técnicas de cultivo e aperfeiçoamento da metodologia de inversão sexual, a tilapicultura ganhou impulso e desenvolvimento no Brasil na década de noventa, sendo o estado do Paraná considerado o maior produtor até meados de 2003, quando foi ultrapassado pelo estado do Ceará (SEBRAE, 2008).

A tilapicultura é hoje uma das principais atividades aquícolas do Brasil e apesar do potencial de criação e aceitação da carne de inúmeras espécies nativas, o melhoramento genético, os conhecimentos científicos relacionado às exigências nutricionais e seu hábito alimentar entre outras qualidades, a tornaram a espécie mais cultivada no Brasil



A tilápia do Nilo apresenta bom desempenho em diversos sistemas de cultivo, com os maiores índices de crescimento, podendo destacar também o seu alto valor econômico, principalmente pelo excelente sabor da carne. É uma espécie extremamente rústica ao manejo, fácil reprodução e adaptação as diferentes condições físicas e químicas da água.

### **2.5.1 Tilápia GIFT no Brasil**

A tilápia GIFT é uma espécie da Malásia que chegou ao Brasil em 2005 e é um bom exemplo do programa de melhoramento genético na piscicultura brasileira. Ela foi originada por cruzamentos entre diferentes linhagens, pela ONG World Fish Center, e recebeu o nome GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilápia). No Brasil, os animais já estão na 4ª geração geneticamente modificada e têm ganho 5% de peso a cada geração, animando os pesquisadores da Universidade Estadual de Maringá, que lideram este programa de melhoramento.

A Universidade Estadual de Maringá também possui um banco genético das 30 famílias iniciais.

Atualmente, a tilápia GIFT é distribuída para 92 produtores em todo o Brasil, fora os núcleos internacionais. Segundo um levantamento feito pela Universidade Estadual de Maringá, com 14 produtores no Paraná, entre os principais produtores de peixe para engorda, a GIFT já representa cerca de 58,18% da produção de tilápias no Estado do Paraná.

### 3. Considerações finais

No Brasil ainda são incipientes as informações e tecnologias para suportar o desenvolvimento de uma aqüicultura sustentável, capaz de atender às demandas do mercado nacional e para exportação. A massa crítica de pesquisadores ainda é pequena e insuficiente para responder adequadamente as necessidades da atividade, considerando a grande gama de espécies nativas passíveis de cultivo. Desta forma, para que remova os entraves relacionados ao desenvolvimento do setor, é necessária a criação de projetos, explorando as ferramentas já existentes, bem como novas técnicas, que visem contribuir para o seu desenvolvimento. Visto que o melhoramento genético de peixes no Brasil encontra-se em fase inicial de implantação, e de resultados preliminares, esforços devem ser feitos para estimular a formação de recursos humanos capazes de conduzir programas de melhoramento genético, aptos a disseminar material genético melhorado e produzir animais geneticamente superiores.

A UEM, em parceria com a EMBRAPA Pantanal, tem desenvolvido atividades de grande importância para a evolução do melhoramento genético de organismos aquáticos no Brasil. Juntas, as instituições são integrantes do projeto “Melhoramento de espécies aquícolas no Brasil”, componente da Rede AquaBrasil – Bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aqüicultura no Brasil, cujo os objetivos são: estabelecer e consolidar um programa nacional de reprodução seletiva de espécies aquáticas, programar estratégias de disseminação e uso de material genético superior, em condições de produção, sujeitas às boas práticas de manejo, considerando a nutrição, biossegurança, preservação ambiental e desenvolvimento de produtos de alto valor agregado (Oliveira et al. 2011).

Atualmente, as espécies que participam do programa são a tilápia, devido a sua grande importância para a produção de peixes de água doce no Brasil; duas espécies nativas sendo elas: o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e o camarão branco. Os esforços do programa estão concentrados na organização do primeiro plantel de reprodutores de Cachara e Tambaqui, o que se torna possível a partir da troca de material genético dos estoques de reprodutores dos diversos parceiros, com o objetivo de formar cerca de 60 famílias de irmãos completos.

Logo, o trabalho desempenhado pela equipe da Universidade Estadual de Maringá, juntamente com seus parceiros, sob a coordenação do Prof. Dr. Ricardo P. Ribeiro, têm desempenhado papel fundamental para o desenvolvimento do setor aquícola, onde capacitam profissionais para desenvolver todas as funções necessárias para a boa condução de um programa de melhoramento genético em peixes, produzindo assim animais de ótima qualidade.

#### 4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M.S. & SLAM, M.S. I. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. **Aquaculture**, 246:151-160, 2005.

BÁRTFAI, R.; EGEDI S.; YUE, G.H.; KOVÁCS, B.; URBÁNYI, B.; TAMÁS G.; HORVÁTH, L.; ORBÁN, L. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. **Aquaculture** 219:157-167, 2003.

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

BORGHETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A. ; BORGHETTI, J.R. Aquicultura. Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. **Curitiba: Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos ambientais**. 128p, 2003.

BOROWSKY, R.L. Estimating nucleotide diversity from Random Amplified Polymorphic DNA and Amplified Fragment Length Polymorphism data. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 18:143-148 2001.

DA SILVA, A. B., MELO, F. R., LOVSHIN, L. L. Observações preliminares sobre a cultura monossexo da *Tilapia nilótica* Linnaeus (macho) em viveiro, em comparação com híbridos machos de *Tilapia*, com o uso de ração suplementar e fertilizantes. Fortaleza: DNOCS, pp 8, 1975.

EUCLIDES FILHO, K. Melhoramento genético animal no Brasil: fundamentos, história e importância. Campo Grande, MS: **Embrapa Gado de Corte**. 63 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 75). 1999.

GODOY, M. P. Criação de Peixe. Pirassununga: Estacao Experimental de Biologia e Piscicultura. 2a ed. Sao Paulo. pp 24, 1959.

HERBST, E.C. Induction of tetraploidy in zebrafish, *Danio rerio* and Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Carolina do Norte. 48p. Dissertação de Mestrado. Universidade de North Carolina at Charlotte. 2002.

KUBITZA, F. *Tilápia*: tecnologia e planejamento na produção comercial. Jundiaí: Kubitza. F. pp.289, 2000.

LYNCH, M. & MILLIGAN, B.G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. **Molecular Ecology** 3:91-99, 1994.

LÔBO, R. N. B.; LÔBO, A. M. B. O. Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 247-253, 2007.

MILACH, S. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. **Marcadores moleculares em plantas**, pg 17-28, UFRGS, Porto Alegre, Brasil, 1998.

- OLIVEIRA, A.V.; PRIOLI, J.A.; PRIOLI, S.M.A.P.; PAVANELLI, C.S.; JÚLIO Jr, H.F.; PANARARI, R.S. Diversity and genetic distance in populations of *Steindachnerina* in the Upper Paraná river floodplain. **Genetica** 115:259-257, 2002.
- PÉREZ, T.; ALBORNOZ, J.; DOMÍNGUEZ, A. An evaluation of RAPD fragment reproducibility and nature. **Molecular Ecology** 7:1347-1357, 1998.
- RIBEIRO, R. P.; LEGAT, A. P. **Delimitação de programas de melhoramento genético de espécies aquícolas no Brasil**. Teresina:Embrapa Meio-Norte, 25p, 2008.
- SAURA, M.; CABALLERO, P.; CABALLERO, A.; MORÁN, P. Genetic variation in restored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations in the Ulla and Lerez rivers, Galicia, Spain. **ICES Journal of Marine Science** 63:1290-1296, 2006.
- SEBRAE – Serviço de Apoio a Micro e Pequenas Empresas. Aquicultura e Pesca: Tilapias. SEBRAE. p. 137, 2008.
- YAN, J.S.; LIU, Y.; SUN, C.; ZHANG, K.; LUO, Y. LIU. RAPD and microsatellite analysis of diploid gynogens from allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus*) X common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture** 243:49-60, 2005.
- WANG, S.; HARD, J.J.; UTTER, F. Salmonid inbreeding: a review. **Reviews in Fisheries Biology and Fisheries** 11:301-319, 2002.
- WATANABE, O. W., LOSORDO, T. M., FITZSIMMONS, K., HANLEY, F. Tilapia production systems in the Americas: technological advances, trends and challenges. **Reviews in Fisheries Science**, 10: 465-498, 2002.
- WELSH, J. & MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research** 18:7213-7218, 1990.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research** 18:6531-6535, 1990.
- ZIMMERMANN, S. Incubação artificial. Técnica permite a produção de tilapias do Nilo geneticamente superiores. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, 9: 15-21, 1999.
- ZIMMERMANN, S. Um moderno instrumental genético no melhoramento e na rastreabilidade de tilapias nilóticas. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, 13: pp 69, 2003.