

LOCI/SSR POTENCIALMENTE AMPLIFICÁVEIS EM TILÁPIA

MARIA EDUARDA OLIVEIRA DOS ANJOS¹; WELINTON SCHRÖDER REINKE²;
SUZANE FONSECA FREITAS³; NELSON JOSÉ LAURINO DIONELLO³

¹Graduação em Agronomia (UFPEL) – madudaangel@gmail.com

²Graduação em Zootecnia (UFPEL) - welintonreinke19@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (UFPEL) - suzane.ff@hotmail.com;
dionello.nelson@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

LI et al. (2017) descreveu marcadores do tipo SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou microssatélites como sequências repetidas em tandem (2 a 6 nucleotídeos), abundantes e intensamente polimórficos. Eles oferecem vantagens sobre outros marcadores moleculares por serem codominantes, numerosos, de alelos múltiplos, apresentar ampla cobertura do genoma, possuírem herança mendeliana, serem de clara detecção por PCR e também por necessitar de pequena quantidade de DNA para sua análise (LIMA, 1998; MOREIRA, 1999).

FORTE (2015) nos explica que os *Simple Sequence Repeats* têm vasta serventia na aquicultura, sendo um método muito utilizado para o manejo genético de plantéis. Oferecem, inclusive, a oportunidade de estimativas da variabilidade genética, mapeamento de características quantitativas (QTL), caracterização dos reprodutores e seleção assistida por marcadores (MAS).

No Brasil, seis em cada dez peixes cultivados são tilápias (*Oreochromis niloticus*), representando 60,6% da piscicultura brasileira, onde sua produção atingiu 486.155 toneladas em 2020, consolidando o país como o 4º maior produtor desse pescado em termos globais (PEIXEBR, 2021). Esse sucesso dá-se pelo bom crescimento, fácil reprodução, tolerância ao estresse e qualidade de sua carne (RODRIGUEZ et al. 2013).

De acordo com GONÇALVES (2018), o propósito do melhoramento genético para aumento da qualidade e segurança das gerações de tilápia vem ascendendo no país, tendo necessidade do constante estudo visando o aumento na produtividade.

Em razão da importância de novas pesquisas dirigidas ao melhoramento de peixes, esse trabalho tem como objetivo avaliar a distribuição de SSR no genoma da tilápia, com finalidade de verificação e posterior implementação destes em programas de melhoramento genético da espécie.

2. METODOLOGIA

Foi utilizado o software GMATA para identificação de SSR no genoma de *Oreochromis niloticus* contida no banco de dados GenBank (*National Center for Biotechnology Information – NCBI*) (assembly accession GCA_001858045.3, ncbi.nlm.nih.gov).

Após varredura do genoma para posterior desenho de primers, foram estabelecidos os seguintes parâmetros utilizando o software Primer3: temperatura de *melting* (T_m) entre o primer *forward* e *reverse* inferior à 3 °C, conteúdo GC inferior a 60%, tamanho do *primer*, preferencialmente, entre 18 a 24 bases,

repetição da sequência *motif* de no mínimo 5 repetições e amplicon com tamanho inferior a 450 pb.

Foram considerados como potencialmente amplificáveis (PALs) somente SSR simples pertencentes as classes tetra, penta ou hexanucleotídeo com presença de *primers* únicos e realizada e-PCR (*eletronic PCR*) para predição de polimorfismos, ponderando-se marcadores com, no mínimo, dois alelos. Para tal, foram utilizados como critérios: presença de SSR simples, identificação de sequências pertencente somente as classes tetra, penta e hexanucleotídeos com, pelo menos, 5 repetições bem como identificação de suas sequências *motif*, desenho de primers com 18 a 24 nucleotídeos e conteúdo GC de 40-60%.

Após identificação das sequências, as mesmas foram agrupadas em um subdiretório local do *software*, para a avaliação da distribuição dos SSR nos diferentes grupos de ligação da espécie.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise revelou um total de 2228 SSR potencialmente polimórficos, dentre os quais 1689 eram pertencentes a classe 4-mer, 512 a 5-mer e 27 a 6-mer.

A distribuição de SSR nos diferentes grupos de ligação está disposta na Figura 1. O grupo de ligação LG3 apresentou o maior número de marcadores 4-mer e 5-mer, totalizando 223 e 108, respectivamente. Com relação à classe 6-mer, o LG1 obteve maior resultado, 6 SSR. Quanto a distribuição das classes de marcadores por grupo de ligação, SSR 4-mer foram os mais abundantes e SSR 6-mer com menor representatividade.

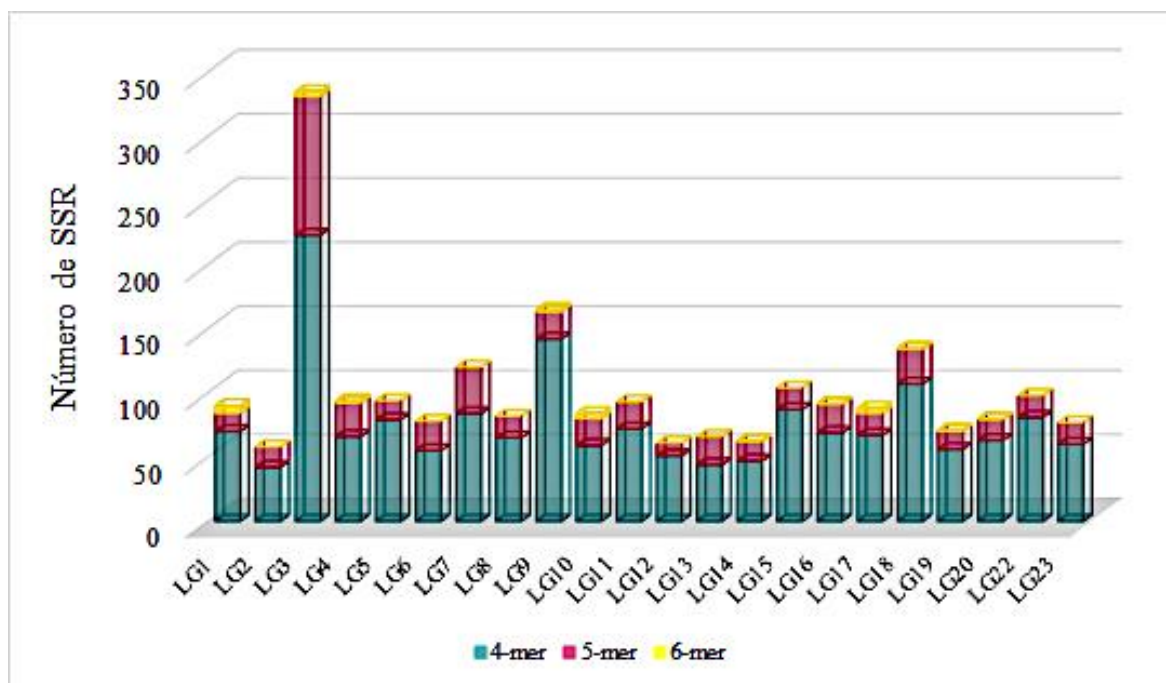


Figura 1 - Distribuição de PALs nos diferentes grupos de ligação da tilápia.

Em seu estudo, LI et al. (2017) caracterizaram marcadores SSR no genoma completo da enguia do pântano (*Monopterus albus*) e obtiveram um total de 6.097 marcadores, sendo 4.755 4-mer, 1.257 5-mer e 85 6-mer. Os resultados das

classes de marcadores apresentam valores superiores aos obtidos neste estudo, fato este provavelmente relacionado com o tamanho do genoma das espécies.

Discorrendo sobre os marcadores para a carpa comum (*Cyprinus carpio*), Ji et al. (2012) obtiveram um total de 15.466 SSR, resultado superior ao obtido no presente trabalho, com distribuição em 4-mer, 5-mer e 6-mer com valores de 12.222, 3.070 e 174, respectivamente, todavia os autores mencionados não inferiram acerca do polimorfismo predito para estes.

Já LU et al. (2015) ao identificar SSR para camarão (*Marsupenaeus japonicus*), obtiveram uma totalidade de 23.833 marcadores, sendo tetranucleotídeos (18.505), pentanucleotídeos (1.830) e hexanucleotídeo (3.498).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, os marcadores SSR analisados apresentam potencial aplicabilidade em estudos genéticos da tilápia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FORTE, J.M. **Aplicações de marcadores moleculares nas principais espécies da aquicultura do nordeste brasileiro**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará.

GONÇALVES, L.J.A. **Tilapicultura brasileira e o uso de melhoramento genético para aperfeiçoamento das linhagens**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) - Curso de Graduação em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

JI, P., ZHANG, Y.; LI, C.; ZHAO, Z.; WANG, J.; LI, J.; XU, P.; SUN, X. **High throughput mining and characterization of microsatellites from common carp genome**. International journal of molecular sciences, v.13, n.8, p.9798-9807, 2012.

LI, Z.; CHEN, F.; HUANG, C.; ZHENG, W.; YU, C.; CHENG, H.; ZHOU, R. **Genome-wide mapping and characterization of microsatellites in the swam peel genome**. Scientific reports, v.7, n.1, p.1-9, 2017.

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

LU, X.; LUAN, S.; KONG, J.; HU, L.; MAO, Y.; ZHONG, S. **Genome-wide mining, characterization, and development of microsatellite markers in *Marsupenaeus japonicus* by genome survey sequencing**. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, v.35, n.1, p.203-214, 2015.

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 em Ciências)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

PEIXE BR 2021, **Anuário Brasileiro da Piscicultura-** Veículo oficial da
Associação Brasileira da Piscicultura. São Paulo/SP, Brasil. Acessado em 08 ago.
2021. Online. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021/>

RODRIGUEZ, M.D.P.R.; BARRERO, N.M.L.; VARGAS, L.; ALBUQUERQUE, D.M.;
GOES, E.S.D.R.; DO PRADO, O.P.P.; RIBEIRO, R.P. **Caracterização Genética
de Gerações de Tilápia Gift por Meio de Marcadores Microssatélites.** Pesquisa
Agropecuária Brasília. Brasília, v.48, n.10, p.1385-1393, 2013.