

LOCI SSR POTENCIALMENTE AMPLIFICÁVEIS EM TILÁPIA

MARIA EDUARDA OLIVEIRA DOS ANJOS¹; WELINTON SCHRÖDER REINKE²;
FERNANDA BRUNNER HAMMES³; 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) – nanda5517@hotmail.com; suzane.ff@hotmail.com; dionello.nelson@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Foi descrito por LI et al. (2017), que marcadores do tipo SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou microssatélites com sequências repetidas em tandem (2 a 6 nucleotídeos), são abundantes e altamente polimórficos. Oferecem vantagens sobre outros marcadores moleculares por serem codominantes, numerosos, de alelos múltiplos, apresentam ampla cobertura do genoma, possuem herança mendeliana, são de clara detecção por PCR e também por necessitarem de pequena quantidade de DNA para sua análise (LIMA, 1998; MOREIRA, 1999).

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

Em 2021, a piscicultura brasileira produziu 534.005 toneladas de tilápia (*Oreochromis niloticus*), com crescimento de 9,8% sobre o ano anterior (486.155t). A espécie representou 63,5% da produção de peixes de cultivo como um todo, comprovando sua viabilidade para as condições brasileiras e consolidando o país como o 4º maior produtor desse pescado em termos globais (PEIXEBR, 2022). É a espécie mais exportada, onde totalizou US\$ 18,2 milhões em 2021, o que representa 88% do total em dólar. Ela também apresentou importante crescimento de 77%, em 2021. Esse sucesso dá-se pelo bom crescimento, fácil reprodução, tolerância ao estresse e qualidade de sua carne (RODRIGUEZ et al. 2013).

Conforme GONÇALVES (2018) já descreveu, o propósito do melhoramento genético é para o aumento da qualidade e da segurança das gerações de tilápia que vem ascendendo no país, portando a necessidade do constante estudo visando o aumento da 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 o *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 e pentanucleotídeos 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 e pentanucleotídeos 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 155 SSR potencialmente polimórficos, pertencentes as classes 4-mer e 5-mer dos grupos de ligação LG16 e LG17.

O grupo de ligação LG16 apresentou o maior número de marcadores 4-mer e 5-mer, totalizando 59 e 19, respectivamente. Já o grupo de ligação LG17 apresentou maior abundância na classe 4-mer (61) e em menor número, a classe 5-mer (16).

A distribuição das sequências *motif* nas classes 4-mer e 5-mer estão dispostas na Figura 1. A sequência *motif* com maior abundância em 4-mer foi “GATG” apresentando 12 marcadores moleculares, enquanto que a 5-mer foi representada pela sequência “AATTG”, em sua maior abundância com 5 marcadores moleculares.

Sequências <i>motif</i>	4-mer	Sequências <i>motif</i>	5-mer
GATG	12	AATTG	5
ATGG	8	ATAGA	3
GGAT	8	TAAGA	3
CATC	7	TATTC	3
TGGA	6	ACTAT	2
AGAC	4	ATTCT	2
AGAT	4	AAGAT	2
CAAA	4	TGTTA	2
ATCC	3	TTTCC	1
GTAT	3	ATAAA	1
GTGC	3	TTATC	1
TCCA	2	TAAAA	1
ATCT	2	TTTTA	1
ATCA	2	TGAAT	1
AGGA	1	TCAAT	1
TGTA	1	TCTAT	1
TTTA	1	AAACA	1
GGAC	1	TAGTT	1
TCAT	1	CAAAA	1
		AATAG	1

Figura 1 - Distribuição das sequências *motif* nas classes 4-mer e 5-mer da tilápia.

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 e 1.257 5-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 e 5-mer com valores de 12.222 e 3.070, 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) e pentanucleotídeos (1.830).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, os marcadores SSR analisados e suas respectivas sequências *motif*, 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.

PEIXE BR 2022, **Anuário Brasileiro da Piscicultura** - Veículo oficial da Associação Brasileira da Piscicultura. São Paulo/SP, Brasil. Acessado em 22 ago. 2022. Online. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>

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.

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

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.

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.

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.