

ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE TILÁPIAS CULTIVADAS NO ESTADO DE SANTA CATARINA (BRASIL) UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES*

Rodolfo Luis PETERSEN ¹; Juan Esquivel GARCIA ²; Giovanni MELLO ³; Ana Maria Rubini LIEDKE ⁴; Thais Cristine Marques SINCERO ⁵; Edmundo Carlos GRISARD ⁵

RESUMO

Três variedades de tilápias cultivadas em Santa Catarina pertencentes à estação de piscicultura Panamá-Unisul foram selecionadas para a avaliação da diversidade genética por meio da análise de marcadores microsatélites. Os testes de diferenciação genética e genotípica, assim como o grau de divergência genética entre as populações (F_{ST}), foram estatisticamente significativos ($P < 0,01$). Quando os valores de F_{ST} foram obtidos entre cada par de populações, se observou uma maior divergência genética entre a variedade GIFT e as populações VERMELHA (VERM) ($F_{ST} = 0,11$) e PANAMÁ (PAN) ($F_{ST} = 0,18$). A variedade GIFT ($F_{IS} = 0,16$) apresentou o menor coeficiente de endogamia quando comparadas com as variedades locais PAN ($F_{IS} = 0,33$) e VERM ($F_{IS} = 0,28$) refletindo seu histórico de controle de pedigree. Tendo em vista os resultados obtidos, é possível perceber a importância do controle no manejo dos plantéis para manter a diversidade genética das populações.

Palavras chave: Piscicultura; melhoramento genético, marcadores moleculares

ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF FARM-RAISED TILAPIA STOCKS FROM SANTA CATARINA STATE (BRAZIL) USING MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT

Three varieties of tilapia farmed at Panamá-Unisul Finfish Culture Station in Santa Catarina State were analyzed in order to evaluate the genetic diversity through microsatellites analysis. Genetic and genotypic differentiation, as well as, the degree of genetic divergence from all populations (F_{ST}) were significant ($P < 0.01$). Using F_{ST} pairwise analysis from all populations, it was observed that the GIFT population had the highest divergence when compared to the VERMELHA (VERM) ($F_{ST} = 0.11$) and the PANAMÁ (PAN) ($F_{ST} = 0.18$). The GIFT variety ($F_{IS} = 0.16$) presented the lower inbreeding coefficient when compared to the local varieties PAN ($F_{IS} = 0.33$) and VERM ($F_{IS} = 0.28$), showing that this variety had controlled management. The results obtained in this study evidence the importance of controlled management in farmed tilapias in order to maintain the genetic diversity of populations.

Key words: Finfish culture; genetic improvement; molecular markers

Artigo Científico: Recebido em 02/03/2012 – Aprovado em 19/11/2012

¹ Centro de Estudos do Mar (CEM) Universidade Federal do Paraná – UFPR. Caixa Postal 50.002 – CEP: 83.255-000 – Pontal do Paraná – PR - Brasil. e-mail: rodolfopetersen@ufpr.br (autor correspondente)

² Universidade do Sul de Santa Catarina. Faculdade de Agronomia. e-mail: juan.esquivel@unisul.br

³ Universidade do Estado de Santa Catarina - CERES/UDESC. e-mail: giovannidemello@gmail.com

⁴ Laboratório de Macroecologia e Biogeografia Marinha. Departamento de Ecologia e Zoologia. Universidade Federal de Santa Catarina. e-mail: amrliedke@gmail.com

⁵ Laboratórios de Protozoologia e de Bioinformática. Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Universidade Federal de Santa Catarina. e-mail: thais@ccb.ufsc.br, edmundo.grisard@ufsc.br

* Apoio financeiro: Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE), Ministério de Pesca e Aquicultura, Financiadora de Estudos e Projetos do Ministério de Ciência e Tecnologia (FINEP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (bolsas concedidas)

INTRODUÇÃO

As tilápias são peixes de água doce cultivados mundialmente e tem se tornado economicamente importantes sendo *Oreochromis niloticus* e híbridos interespecíficos vermelhos *Oreochromis* spp. as principais espécies (ROMANA-EGUIA *et al.*, 2004). Diversas variedades foram introduzidas no cultivo no Brasil. Entre as mais recentes podemos destacar a variedade Chitralada (ZIMMERMANN, 1999) e a variedade GIFT ("Genetic Improved Farmed Tilapia"). A variedade GIFT foi introduzida pela Universidade Estadual de Maringá através da importação de 30 famílias do programa GIFT das Filipinas, distribuindo os indivíduos melhorados nas estações de piscicultura no Brasil (RESENDE *et al.*, 2010).

Existe um número significativo de variedades específicas passíveis de cultivo em água salgada, incluindo diferentes espécies e seus híbridos vermelhos (TAYAMEN *et al.*, 2002; ABU HENA e MAIR, 2005). Na região do Complexo lagunar Sul do estado de Santa Catarina, variedades de tilápia foram introduzidas como alternativa de aproveitamento dos viveiros de água salgada, antes destinados à carcinicultura marinha, que ficaram ociosos devido à grande mortalidade de camarões causada com o aparecimento do vírus da mancha branca ("White Spot Syndrome Virus" - WWSV).

As populações das variedades a serem utilizadas nos cultivos precisam apresentar elevada diversidade genética em função da variação ambiental que serão expostas suas progênes. Segundo KIRPICHNIKOV *et al.*, (1992), a capacidade de adaptação a ambientes heterogêneos está relacionada à variabilidade genética presente nas espécies de peixes.

Diversas técnicas têm sido utilizadas para estimar a diversidade genética em *O. niloticus*, incluindo análises de aloenzimas (MACARANAS *et al.*, 1995); análise dos fragmentos de restrição do DNA mitocondrial (mtDNA-RFLP) (AGNESSE *et al.*, 1997; ROGNON e GUYOMARD, 1997); amplificação randômica de DNA polimórfico (RAPD) (BARDAKCI e SKIBINSKI, 1994; HASSANIEN *et al.*, 2004; POVH, *et al.*, 2005); e análise de microssatélites (MELO *et al.*, 2006; ESPÍNDOLA, 2007; MOREIRA *et al.*, 2007; BHASSU *et al.*, 2004; RUTTEN *et al.*, 2004).

O monitoramento da diversidade genética das matrizes é imprescindível nas estações de piscicultura responsáveis pela distribuição de alevinos ao setor de engorda, tanto para determinar se existem efeitos devido à deriva genética, como efeitos da endogamia ou seleção. Os programas de melhoramento genético se caracterizam pela formação da população base através do cruzamento de populações de diferentes origens e pelo controle da variabilidade genética e da endogamia por meio do registro de pedigrees. A partir do momento que as variedades melhoradas são transferidas do centro de melhoramento genético, onde existe estrito controle dos cruzamentos, para as estações de reprodução, as populações reprodutoras podem sofrer profundas modificações na variabilidade genética. As alterações na diversidade genética são o resultado de manejos reprodutivos sem planejamento (KOCHER *et al.*, 1998), principalmente o cruzamento de indivíduos com estreitas relações de parentesco, aplicações de fortes intensidades de seleção individual e a diminuição do número efetivo de reprodutores de geração em geração (FALCONER, 1996). O cruzamento entre parentes permite que alelos recessivos ligados a características indesejadas entrem em homozigose e, por conseguinte, que estas características fenotípicas sejam expressas, levando a uma queda generalizada do desempenho zootécnico (APPLEYARD e MATHER, 2000). Trabalhos científicos foram publicados descrevendo o efeito negativo de diferentes coeficientes de endogamia em moluscos (LANNAN, 1980; MALLET e HALEY, 1983; BEAUMONT e BUDD, 1983; BEATTIE *et al.*, 1987), em camarões (KEYS *et al.*, 2004; MOSS e ARCE, 2007), e em diferentes espécies de peixes (SU *et al.*, 1996; RYE e MAO, 1998). FESSEHAYE *et al.* (2009) demonstraram o efeito negativo da endogamia na fecundidade das fêmeas e no sucesso reprodutivo de machos de *O. niloticus*. Somado a isto, a alta fecundidade dos animais aquáticos possibilita a obtenção de ganhos genéticos através de fortes intensidades de seleção. A seleção intencional nos centros de produção de alevinos pode determinar problemas sérios, uma vez que um pequeno número de indivíduos pode carregar uma proporção significativa de genes que serão transferidos para as gerações subsequentes, resultando numa queda acentuada no

desempenho e na variabilidade genética (GJEDREM, 1997). Estudos comprovaram diferenças no comportamento dos índices zootécnicos de populações de cultivo (DAN e LITTLE, 2000; DEY *et al.*, 2000; TACHIBANA *et al.*, 2004; RIDHA, 2006). Para entender estas diferenças, além da análise da componente ambiental, é fundamental conhecer a diversidade genética das populações.

O monitoramento da variabilidade genética dos estoques reprodutivos que estão sendo utilizados é de vital importância para a sustentabilidade da qualidade dos alevinos produzidos. As populações PANAMÁ (PAN) e VERMELHA (VERM) reproduzidas na estação da piscicultura PANAMÁ-UNISUL, ao contrário da variedade GIFT, não foram submetidas a programas de seleção e controle de cruzamentos. Considerando o importante aspecto econômico-social do cultivo de tilápia no Estado de Santa Catarina, o presente trabalho visou avaliar e comparar a diversidade genética das três variedades de tilápias por meio do uso de marcadores microssatélites.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem dos plânteis

Foram analisadas três variedades pertencentes à estação de alevinagem da Piscicultura Panamá - Universidade do Sul de Santa Catarina (PANAMÁ-UNISUL), localizada no Município de Paulo Lopes (SC). A variedade GIFT foi adquirida da Universidade Estadual de Maringá (UEM, Paraná, Brasil) recebendo três grupos genéticos. Cada grupo está representado por 10 famílias do programa de melhoramento. Os animais foram recebidos na fase de alevino (aproximadamente 5 cm de comprimento total) e engordados até tamanho de reprodutor formando o plantel GIFT. As populações denominadas "PANAMÁ" (PAN), pertencente a variedade nilótica comum, e "VERMELHA" (VERM) do centro de reprodução PANAMÁ-UNISUL não possuem um histórico definido. As amostras dos estoques reprodutivos das variedades analisadas foram escolhidas aleatoriamente, sem seleção de sexo dos animais. As amostras de tecido foram coletadas em microtubos estéreis contendo etanol absoluto na proporção de nove partes de álcool

para uma parte de tecido, sendo armazenadas a -20 °C.

Extração e amplificação de DNA

A extração de DNA foi realizada conforme protocolo de extração salina publicado por ALJANABI e MARTINEZ (1997). A análise da integridade do DNA foi visualizada através de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio e a concentração determinada através de espectrofotometria a 260/280 nm em um Biophotometer® (Eppendorf, Hamburg). Os *loci* selecionados (utilizando-se os seguintes iniciadores: UNH 104 - GenBank G12257, UNH 108 - GenBank G12261, UNH 136 - GenBank G12288, UNH 160 - GenBank G12312) foram amplificados no termociclador Biocycler modelo MJ96. O programa de amplificação consistiu das seguintes etapas: um ciclo de desnaturação a 95 °C por 5 minutos, 35 ciclos de um minuto a 94 °C, um minuto à temperatura de ligação específica para cada par de iniciadores (UNH 104 = 52 °C, UNH 108 = 50,2 °C, UNH 136 = 52,4 °C, UNH 160 = 50 °C), um minuto a 72 °C e, por fim, um último ciclo de extensão a 72 °C por cinco minutos. Para a genotipagem dos indivíduos amostrados o oligonucleotídeo *sense* de cada par de iniciadores foi marcado com o fluoróforo FAM na extremidade 5'. Os produtos de amplificação foram verificados através de eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio e foram fotodocumentados. A genotipagem dos produtos de PCR obtidos foi conduzida com o marcador interno ET-ROX 400 (MegaBACE™ ET Size Standards - GE Healthcare), conforme instruções do fabricante (GE Healthcare). As amostras foram eletroinjetadas a 3 Kv por 80 seg e eletroiluídas por 80 min a 10 Kv em sequenciador automático MegaBace™ 1000 DNA Analysis System (GE Healthcare). Os resultados foram processados com o programa Fragment Profiler (GE Healthcare).

Análise dos dados

Os programas GENEPOP v 3.4 (RAYMOND e ROUSSET, 1995) e FSTAT (RAYMOND e ROUSSET, 1995; GOUDET, 1995) foram utilizados para as análises estatísticas na obtenção de dados como frequência alélica e número de alelos por *locus*, heterozigosidade observada (H_o) e esperada

(H_e), teste de diferenciação alélica e genotípica entre populações e os coeficiente de endogamia (F_{IS}) e de divergência genética (F_{ST}) de WRIGHT (1922) como proposto por WEIR e COCKERHAM (1984), sendo os valores de probabilidades testados por meio do teste de Fisher. O número de alelos efetivos (A_e) foi calculado através da seguinte fórmula: $A_e = 1/\sum x_i^2$, onde o x_i é a frequência de cada alelo por *locus* (WEIR, 1990). Para avaliação da significância entre a diferença no número médio de alelos (A) e na heterozigosidade observada (H_o) foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com o auxílio do programa Statview (Versão 5.0, SAS Institute).

RESULTADOS

Os quatro *loci* apresentaram-se polimórficos, com um total de 83 alelos genotipados, sendo 22 alelos no *locus* UNH104, 23 alelos no UNH108, sete alelos no UNH136 e 31 alelos no UNH160. Considerando as três variedades amostradas, a média do número total de alelos por *locus* foi de

10,46 e o número médio de alelos por população apresentaram-se muito próximos (9,2 e 11,7) não havendo diferenças significativas entre as variedades ($P>0,05$). O número total de alelos nas populações PAN, GIFT e VERM foi de 47, 35 e 42, respectivamente. O número médio de alelos efetivos variou entre 2,89 e 4,69, com o menor valor apresentado na variedade PAN (Tabela 1).

A média de heterozigosidade observada na variedade PAN (0,53) e na VERM (0,59) foram mais próximas do que a observada para a variedade GIFT (0,66), porém, não houve diferenças significativas desta em relação às variedades locais. Os resultados obtidos permitiram determinar que as populações não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg em nenhum dos *loci* analisados. Os valores do coeficiente de endogamia (F_{IS}) foram variáveis e significativamente diferentes de zero ($P<0,01$). Os resultados por população, considerando todos os *loci*, apresentaram-se significativos, assim como quando foram considerados todos os *loci* e todas as populações ($P<0,01$) (Tabela 1).

Tabela 1. Número de alelos totais e efetivos por *locus* por população (A e A_e), número de indivíduos genotipados (N), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e), probabilidade da população se encontrar em equilíbrio de Hardy-Weinberg (p) e coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada população. PAN: variedade PANAMA. GIFT: variedade GIFT. VERM: variedade Vermelha.

População		UNH104	UNH108	UNH 136	UNH160	Média
PAN	A (N)	11(43)	14 (41)	7(71)	15(66)	11,7
	A_e	2,00	5,26	1,21	3,20	2,89
	H_o	0,39	0,804	0,056	0,890	0,53
	H_e	0,74	0,832	0,135	0,681	0,59
	P	0,0007	0,0000	0,0000	0,0000	
	F_{IS}^*	0,21	0,03	0,58	-0,31	0,33
VERM	A (N)	9(40)	11(42)	2(43)	20(44)	10,5
	A_e	4,78	6,60	1,13	6,25	4,69
	H_o	0,575	0,904	0,000	0,909	0,59
	H_e	0,800	0,856	0,045	0,820	0,62
	P	0,0000	0,0000	0,0128	0,0000	
	F_{IS}^*	0,28	-0,05	1,0	-0,10	0,28
GIFT	A (N)	12(51)	12(47)	1(63)	12(54)	9,2
	A_e	6,25	4,90	1,04	5,34	4,38
	H_o	0,862	0,808	0,0	0,981	0,66
	H_e	0,847	0,765	0,0	0,819	0,60
	P	0,007	0,0000	-	0,0000	
	F_{IS}^*	-0,010	-0,13	1,0	-0,20	0,16

(*) Valores negativos expressam excesso de heterozigosidade.

O teste de diferenciação alélica e genotípica entre as variedades foi estatisticamente significativo ($P < 0,01$) para cada par de populações, considerando os quatro *loci* analisados e para todos os *loci* individualmente, com exceção do UNH136. O *locus* UNH136 apresentou um único alelo na linhagem GIFT, dois na VERM e sete na PAN. Neste último plantel, a frequência do alelo 173 foi de 0,93, com mais seis alelos de baixa frequência. A análise revelou a existência de um número significativo de alelos exclusivos nos quatro *loci* estudados, com 14 alelos na variedade PAN, 15 alelos na variedade VERM e 12 alelos na GIFT (Tabela 2).

O valor de divergência genética total (F_{ST}) foi de 0,13 considerando todos os *loci* e todas as populações, sendo significativamente diferente de zero ($P < 0,01$). Quando os valores de F_{ST} foram obtidos par a par entre as populações observou-se uma maior divergência genética entre a variedade PAN e GIFT ($F_{ST} = 0,18$) sendo este valor aproximado à divergência observada entre a variedade GIFT e VERM ($F_{ST} = 0,11$). Já entre a variedade PAN e VERM, o valor do F_{ST} foi de 0,08. Significâncias em nível de 1% foram observadas em todas as comparações entre pares de populações.

Tabela 2. Frequência alélica dos alelos mais frequentes e alelos exclusivos para cada variedade amostrada. PAN: linhagem PANAMA. GIFT: Linhagem GIFT. VERM: Linhagem Vermelha.

<i>Locus</i>	Variedades	Alelos frequentes	Frequência alélica	Alelos exclusivos
UNH104	PAN	136	0,69	113-126
	VERM	130 / 132 / 136	0,26 / 0,21 / 0,28	175-177-195-197
	GIFT	134 / 152	0,17 / 0,26	116-142-148-150-152-155-185-187
UNH108	PAN	132 / 138	0,34 / 0,18	110-114-115-116
	VERM	138 / 142	0,17 / 0,20	175-177-195-197
	GIFT	132 / 142	0,18 / 0,36	119-141
UNH136	PAN	173 / 174	0,93 / 0,02	147-167-169-170-171
	VERM	173	0,97	-
	GIFT	173	1,00	-
UNH160	PAN	188 / 186	0,45 / 0,33	142-160-165
	VERM	188 / 186	0,33 / 0,18	128-136-150-174-175-176-177-178 167-168
	GIFT	170 / 166 / 168	0,33 / 0,14 / 0,15	-

DISCUSSÃO

A utilização de marcadores moleculares para estudos populacionais, programas de melhoramento, monitoramento da diversidade genética de espécies cultivadas e conservação do patrimônio genético tem se expandido muito na última década, tanto no Brasil (MELO *et al.*, 2006; ESPÍNDOLA, 2007; MOREIRA *et al.*, 2007) quanto em outros países do mundo (CARLETON *et al.*, 2002; BHASSU *et al.*, 2004; RUTTEN *et al.*, 2004; HASSANIEN e GILBEY, 2005; ROMANA-EGUÍA *et al.*, 2005; NYINGI *et al.*, 2009).

A média no número total de alelos por *locus* foi similar aos 11 alelos observados por BHASSU *et al.* (2004) estudando cinco populações de cultivo. Outros autores observaram um número menor de alelos por *locus*, destacando-se o

trabalho de ROMANA-EGUÍA *et al.* (2004) que, em um estudo com onze populações de cultivo (tilápia NIFI, tilápia de Israel, quatro populações provenientes de programas de melhoramento - GIFT, GMT, FAC e a SEAFDEC, e cinco populações híbridas) observou uma média de 7,8 alelos. RUTTEN *et al.* (2004) observaram 5,8 alelos por *locus* em um estudo analisando quatro variedades. No entanto, HASSANIEN e GILBEY (2005), estudando populações naturais de *O. niloticus*, observaram um número médio de alelos por *locus* de 12,3. MELO *et al.* (2006) relatam, ao analisar os mesmos *loci* utilizados no presente trabalho, um número médio de alelos por *locus* de 8,25 analisando seis populações da região sudeste do país (Ceará, Chitralada, Israel, Nilótica, Taiwan e Vermelha). Analisando especificamente o *locus* UNH136,

HASSANIEN e GILBEY (2005) observaram média de 13 alelos/variedade em cinco populações selvagens da região do Rio Nilo. MELO *et al.* (2006) descreveram sete alelos para o mesmo locus, resultando numa média de 1,16 alelos/variedade, inferior à média de 3,3 alelos das variedades catarinenses analisadas. A perda de alelos nas populações cultivadas quando comparadas com populações naturais é esperada, pelos efeitos de deriva genética e seleção. ROMANA-EGUÍA *et al.* (2005) observaram um declínio no número médio de alelos e da heterozigosidade analisando cinco loci microssatélites em gerações sucessivas de *O. niloticus*, tanto em população controle como na que foi aplicada seleção massal. Quando se analisa o número de alelos em populações de cultivo, as diferenças existentes podem ser devido aos diferentes históricos de manejo que aconteceram na reprodução das mesmas. Dependendo do número efetivo de reprodutores utilizados em cada geração, assim como a ausência de um sistema de registro de *pedigrees*, a deriva gênica pode ocasionar uma perda diferencial de alelos nas populações (MOREIRA *et al.*, 2007). No presente estudo se observou um número significativo de alelos quando comparados com outras populações cultivadas do Brasil e do mundo, indicando que não houve uma perda significativa da diversidade genética. O desequilíbrio observado nas frequências alélicas com relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg é sempre esperado em populações de cativeiro devido aos efeitos de deriva genética, seleção intencional e presença de alelos nulos. Um reduzido número de matrizes na população fundadora das variedades também pode ter contribuído para o desequilíbrio por um aumento da endogamia (ROMANA-EGUÍA *et al.*, 2004).

Além da variação nos tamanhos e composição dos alelos é importante analisar a heterozigosidade de uma população para avaliar a diversidade genética. ROMANA-EGUÍA *et al.* (2004) obtiveram valores médios de $H_o = 0,68$ para seis variedades cinzas de *O. niloticus* e $H_o = 0,42$ para cinco variedades híbridas vermelhas (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivadas na Ásia. MELO *et al.* (2006) observaram valores semelhantes, apresentando uma média de $H_o = 0,61$ em populações de pisciculturas brasileiras.

Da mesma forma, MOREIRA *et al.* (2007) observaram uma média de heterozigosidade de 0,72 para a variedade Chitralada e de 0,76 para a linhagem vermelha "Red Stirling". Em populações selvagens capturadas no Rio Nilo, HASSANIEN e GILBEY (2005) estimaram um valor médio muito próximo ($H_o = 0,702$) dos obtidos em populações cultivadas. Os valores de heterozigosidade das variedades catarinenses se apresentaram semelhantes a dos outros autores, porém, quando comparados entre elas, houve uma tendência da GIFT apresentar os maiores valores de heterozigosidades nos loci analisados. Esta tendência pode dever-se à origem e seu histórico, já que a mesma foi iniciada a partir de quatro populações selvagens de tilápias capturadas entre 1988 e 1989 no Egito, Gana, Quênia e Senegal, e quatro populações cultivadas nas Filipinas, Israel, Singapura, Tailândia e Taiwan (BENTSEN *et al.*, 1988) com um estrito controle dos cruzamentos realizados de geração em geração. As diferenças relatadas nas heterozigosidades poderiam ter sido mais distantes. A variedade GIFT provavelmente sofreu uma importante perda de variação pela mortalidade de um dos grupos genéticos no transporte entre a estação de melhoramento (UEM) e a piscicultura PANAMÁ-UNISUL. O controle dos cruzamentos é muito importante quando se adquire uma variedade oriunda de um programa genético controlado já que em uma geração de reprodução pode ser perdida uma quantidade significativa de variação. Apesar da importância da heterozigosidade como parâmetro de variabilidade, APPLEYARD *et al.* (2001) não observaram correlações significativas entre na heterozigosidade de oito loci microssatélites com as variáveis peso e comprimento total estudando a variedade chitralada de *O. niloticus*.

RUTTEN *et al.* (2004) relatam um índice de endocruzamento (F_{IS}) de 0,019 na quinta geração na população da variedade GIFT mantida no "National Aquaculture Genetics Research Institute" (Tailândia). A variedade GIFT introduzida na piscicultura PANAMÁ-UNISUL apresentou um coeficiente de endogamia superior, decorrente do número maior de gerações que a população tem atravessado. As linhagens PAN e VERM não tiveram, no seu histórico zootécnico, controle de cruzamentos

através de formação de famílias, resultando em um aumento dos cruzamentos consanguíneos e maiores valores no coeficiente de endogamia. O F_{IS} apresentado pela variedade PAN foi superior aos valores encontrados para a variedade cinza chitralada por MOREIRA *et al.* (2007) ($F_{IS} = -0,07$) e MELO *et al.*, 2006 ($F_{IS} = 0,15$), o que reforça a hipótese da alta frequência de cruzamentos entre indivíduos com alto grau de parentesco. MOREIRA *et al.* (2007) relatam um excesso de heterozigotos ($F_{IS} = -0,21$) na variedade vermelha "Red Stirling", cuja causa poderia ser explicada pelo predomínio da frequência relativa sobre o número de alelos nos *loci*. O elevado valor de F_{IS} da variedade VERM da estação de piscicultura PANAMÁ-UNISUL pode ser resultante do fato da variedade ser mantida sem os cuidados necessários na formação dos lotes de reprodutores. Esta prática leva à manutenção de um reduzido número total de matrizes, aumentando a probabilidade de cruzamentos consanguíneos. A manutenção de reprodutores sem transferências sucessivas para retirada de indivíduos nascidos no próprio tanque pode levar a uma elevada frequência de retrocruzamentos entre progênes e parentais.

A análise interpopulacional revelou que houve moderada diferenciação genética entre as três populações de tilápia estudadas e os testes de diferenciação alélica e genotípica foram significativos. Valores de F_{ST} entre 0 a 0,05 indicam baixa estruturação das populações; valores entre 0,05 a 0,15 evidenciam uma moderada estruturação e valores entre 0,15 a 0,25 caracterizam alta estruturação (WRIGHT, 1978). A elevada presença de alelos exclusivos pode ter contribuído para a diferenciação. Quando analisadas as populações das variedades par a par, os maiores valores de divergência genética foram obtidos entre a população da variedade GIFT com as populações das variedades PAN e VERM. No entanto, quando comparada a população da variedade PAN com VERM a divergência foi menor. Como as populações conviveram na estação de reprodução por, no mínimo, dez gerações, existe a probabilidade de migração acidental de indivíduos de uma população para a outra, resultando numa menor divergência genética entre ambas.

CONCLUSÕES

As populações das variedades estudadas se encontram moderadamente estruturadas e suas frequências gênicas e genotípicas apresentaram-se significativamente diferentes. A variedade GIFT apresentou moderada diversidade genética, com valores próximos de heterozigosidade e número de alelos, assim como o menor coeficiente de endogamia quando comparada com as variedades locais PAN e VERM, refletindo seu histórico de controle do pedigree. Os planteis PAN e VERM apresentaram elevados valores de F_{IS} , recomendando-se a incorporação de novos indivíduos, assim como maiores cuidados na formação dos estoques reprodutivos.

REFERÊNCIAS

- ABU HENA, M.K. e MAIR, G.C. 2005 Salinity tolerance in superior genotypes of tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus* and their hybrids. *Aquaculture*, 247: 189-201.
- AGNESSE, J.; ADEPO GOURENE, B.; ABBAN, E.K.; FERMOSEN, B. 1997 Genetic differentiation among natural populations of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei Cichlidae). *Heredity*, 79: 88-96.
- ALJANABI, S.M. e MARTINEZ, I. 1997 Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25: 4692-4693.
- APPLEYARD, S.A. e MATHER, P.B. 2000 Investigation into the mode of inheritance of allozyme and random amplified polymorphic DNA markers in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Research*, 31: 435-445.
- APPLEYARD, S.A.; RENWICK, J. M.; MATHER, P.B. 2001 Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. *Aquaculture Research*, 32: 287-296.
- BARDAKCI, F. e SKIBINSKI, D.O.F. 1994 Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity*, 73: 117-123.
- BEATTIE, J.H.; PERDUE, J.; HERSHBERGER, W.; CHEW, K. 1987 Effects of inbreeding on growth

- in the Pacific oyster (*Crasostrea gigas*). *Journal of Shellfish Research*, 6: 25-28.
- BEAUMONT, A.R. e BUDD, M.D. 1983 Effects of self-fertilization and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus*. *Marine Biology*, 76: 285-289.
- BENTSEN, H.B.; EKNATH, A.E.; VERA, M.S.P.; DANTING, J.C.; BOLIVAR, H.L.; REYES, R.A.; DIONISIO, E.E.; LONGALONG, F.M.; CIRCA, A.V.; TAYAMEN, M.M.; GJERD, B. 1988 Genetic improvement of farmed tilápias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 160: 145-173.
- BHASSU, S.; YUSOFF, K.; PANANDAM, M.; EMBONG, W.K.; OYYAN, S.; TAN, S.G. 2004 The genetic structure of *Oreochromis* spp. (tilapia) populations in Malaysia as revealed by microsatellite DNA analysis. *Biochemical Genetics*, 42: 217-229.
- CARLETON, K.L.; STREELMAN, J.T.; LEE, B.Y.; GARNHART, N.; KIDD, M.; KOCHER, T.D. 2002 Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome International Society for Animal Genetics. *Animal Genetic*, 33: 140-144.
- DAN, N.C. e LITTLE, D.C. 2000 The culture performance of monosex and mixed-sex newseason and overwintered fry in three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in northern Vietnam. *Aquaculture*, 184: 221-231.
- DEY, M.; EKNATH, A.E.; SIFA, L.; HUSSAIN, M.G.; THIEN, T.M.; HAO, N.V.; AYPAN, S.; PONGTHANA, N. 2000 Performance and nature of genetically improved farmed tilapia: a bioeconomic analysis. *Aquaculture Economics and Management*, 4: 85-108.
- ESPÍNDOLA, M. 2007 *Caracterização genética de reprodutores de tilápia: estratégias para a manutenção da variabilidade*. Recife. 77p. (Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco). Disponível em: <<http://www.pgpa.ufrpe.br/Trabalhos/2007/T2007mes.pdf>>
- FALCONER, D.S. e MACKAY, T.F.C. 1996 *Introduction to quantitative genetics*, 4ª ed. Edinburgh: Longman Group Limited. 464p.
- FESSEHAYE, Y.; BOUVENHUIS, H.; REZK, M.A.; CROOIJMANS, R.; VAN ARENDONK, J.; KOMEN, H. 2009 Effects of relatedness and inbreeding on reproductive success of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 294: 180-186.
- GJEDREM, T. 1997 Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquaculture*, 22: 33-45.
- GOUDET, T. 1995 FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F- statistic. *Journal of Heredity*, 86: 485-486.
- HASSANIEN, H.A. e GILBEY, J. 2005 Genetic diversity and differentiation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by DNA microsatellites. *Aquaculture Research*, 36: 1450-1457.
- HASSANIEN H.A.; ELNADY M.; OBEIDA A.; ITRIBY H. 2004 Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). *Aquaculture Research*, 35: 587-593.
- KEYS S.J.; CROCOS P.; BURRIDGE, C.Y.; COMAN, G.; DAVIS, G.; PRESTON, N. 2004 Comparative growth and survival of inbred and outbred *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*, reared under controlled environment conditions: indications of inbreeding depression. *Aquaculture*, 241: 151-168.
- KIRPICHNIKOV, V.S. 1992 Adaptive nature of intrapopulation biochemical polymorphism in fish. *Journal of Fish Biology*, 40:1-16.
- KOCHER, T.D.; LEE, W.J.; SOBELEWSKA, H.; PENMAM, D.; McANDREW, B.J. 1998 A genetic linkage map of cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetic*, 148: 1225-1232.
- LANNAN, J. 1980 Broodstock management of *Crassostrea gigas*. IV. Inbreeding and larval survival. *Aquaculture*, 21: 353-356.
- MACARANAS, J.M.; AGUSTIN, L.Q.; ABLAN, M.C.A.; PANTE, M.J.R.; EKNATH, A.E.; PULLIN R.S.V. 1995 Genetic improvement of farmed tilapias: biochemical characterization of strain difference in Nile tilapia. *Aquaculture International*, 3: 43-54.
- MALLET, A.L. e HALEY, L.E. 1983 Effects of inbreeding on larval and spat performance in the American oyster. *Aquaculture*, 33: 29-235.
- MELO, D.C.; OLIVERA, D.A.; RIBEIRO, L.P.; TEIXEIRA, C.S.; SOUZA, A.B.; COELHO, E.G.A.; CREPALDI, D.V.; TEIXEIRA, E.A. 2006

- Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis* sp.) utilizando marcadores microssatélites. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58: 87-93.
- MOREIRA, A. A.; HILSDORF, A.N.; SILVA, J.V.; SOUZA, U.R. 2007 Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 4: 521-526.
- MOSS, S.M. e ARCE, S.M. 2007 Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *Aquaculture*, 272: 30-37.
- NYINGI, D.; DE VOS, L.; AMAN, R.; AGNÈSE, J. 2009 Genetic characterization of an unknown and endangered native population of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae; Teleostei) in the Lobo Swamp (Kenya). *Aquaculture*, 297: 57-63.
- POVH, J.A.; MOREIRA, H.L.M.; RIBEIRO, R.P.; PRIOLI, A.J.; BLANCK, D.V.; GASPARINO, E.; STREIT, D.P. 2005 Estimativa da variabilidade genética em linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de RAPD. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 27: 1-10.
- RAYMOND, M. e ROUSSET, F. 1995 Genepop: population genetics software for exact tests and ecumenism, Ver. 3.4. *Journal of Heredity*, 86: 248-249.
- RIDHA, M. 2006 Comparative study of growth performance of three strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L. at two stocking densities. *Aquaculture Research*, 37: 172-179.
- RESENDE, E.K.; LEGAT, A.P.; OLIVEIRA, C.A.L.; RIBEIRO, R.P. 2010 Melhoria Animal no Brasil: uma visão crítica. Espécies Aquáticas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., Maringá, 2010. *Anais...* Sociedade Brasileira de melhoramento Animal. v.1., p.1-20.
- ROGNON, X. e GUYOMARD R. 1997 Mitochondrial DNA differentiation among East and West African Nile tilapia populations. *Journal of Fish Biology*, 50: 204-207.
- ROMANA-EGUIA, M.R.R.; IKEDAB, M.; BASIAOA, Z.U.; TANIGUCHI, N. 2004 Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA. *Aquaculture*, 236: 131-150.
- ROMANA-EGUIA, M.R.R.; IKEDA M.; BASIAO, Z.; TANIGUCHI, N. 2005 Genetic changes during mass selection for growth in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), assessed by microsatellites. *Aquaculture Research*, 36: 69-78.
- ROUSSET, F. e RAYMOND, M. 1995 Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics*, 140: 1413-1419.
- RUTTEN, M.J.M.; KOMEN, H.; DEEREMBERG, R.M.; SIWEK M.; BOVENHUIS, H. 2004 Genetic characterization of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using microsatellite markers. *Animal Genetics*, 35: 93-97.
- RYE, M. e MAO, I.L. 1998 Nonadditive genetic effects and inbreeding depression for body weight in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Livestock Production Science*, 57: 15-22.
- SU, G.S.; LIELJEDAHN, L.; GALL, G.A. 1996 Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 142: 139-142.
- TACHIBANA, L.; CASTAGNOLLI, N.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; VALLE, J.B.; SIQUEIRA, M.R. 2004 Desempenho de diferentes linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 26(3): 305-311.
- TAYAMEN, M.M.; REYES, R.A.; DANTING, M.J.; MENDOZA, A.M.; MARQUEZ, E.B.; SALGUET, A.C.; GONZALES, R.C.; ABELLA, T.A.; VERA-CRUZ, E.M. 2002 Tilapia broodstock development for saline waters in the Philippines. *Naga-Iclarm Quarterly*, 25: 32-36.
- WEIR, B.S. 1990 *Genetic data analysis: methods of discrete population genetic data*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. 337p.
- WEIR, B.S. e COCKERHAM, C.C. 1984 Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- WRIGHT, S. 1922 Coefficient of inbreeding and relationship. *American Naturalist*, 56: 330-338.
- WRIGHT, S. 1978 *Evolution and genetic population. Variability within and among natural populations*. Chicago III: University of Chicago Press. v.4, 590p.
- ZIMMERMANN, S. 1999 Incubação artificial. Técnica permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores. *Panorama da Aquicultura*, 9: 5-21.