

Análise genética de três gerações de tilápia do Nilo (linhagem GIFT) utilizando o marcador RAPD

Sheila Nogueira Oliveira^{1*}, Ricardo Pereira Ribeiro², Nelson Mauricio Lopera²,
Fernanda Braz Candioto², Emiko Kawakami de Resende³ e Angela Puchinik Legat³

¹Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ²Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil. ³Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: she_uem@hotmail.com

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi analisar a diversidade genética de três gerações da tilápia GIFT do Programa de Melhoramento Genético da Universidade Estadual de Maringá, utilizando o marcador RAPD. Foram utilizadas 180 amostras de nadadeira. Os sete primers utilizados produziram 91 fragmentos, dos quais 98,9% foram polimórficos. Observaram-se diferenças ($p < 0,05$) na frequência de 64 fragmentos, dos quais dez foram excluídos na G2. Os resultados de variabilidade genética estimados pelo índice de Shannon (G0: 0,430; G1: 0,469 e G2: 0,420) e pela porcentagem de fragmentos polimórficos (G0: 90,1%; G1: 94,5% e G2: 86,8%) indicaram alta variabilidade genética intrapopulacional. Resultados esses que corroborando com os preceitos de diversidade genética de Nei mostraram a G1 com os maiores valores (G0: 0,281; G1: 0,307 e G2: 0,277). Também foi constatada maior distância genética entre as gerações G0 e G1 (0,108) e maior identidade genética entre G0 e G2 (0,909). Há alta diversidade genética intrapopulacional nas três gerações, com valores maiores na G1, como observado nas análises.

Palavras-chave: diversidade genética, *Genetic Improvement of Farmed Tilapias*, linhagens, melhoramento genético, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT. **Genetic characterization of three Nile tilapia (GIFT strain) generations using the RAPD marker.** The aim of this work was to analyze the genetic diversity in three GIFT tilapia generations from the Genetic Improvement Program of State University of Maringá, using the RAPD marker. One hundred eighty fin samples were used. The seven primers used produced 91 fragments, of which 98.9% were polymorphic. Differences ($p < 0.05$) were observed in the frequency of 64 fragments, of which ten were excluded in G2. The results of genetic variability estimated by the Shannon index (G0: 0.430, G1: 0.469 and G2: 0.420) and by the percentage of polymorphic fragments (G0: 90.1%, G1: 94.5% and G2: 86.8%) indicated a high intrapopulation genetic variability, corroborated by the Nei genetic diversity results that showed G1 with the highest values (G0: 0.281, G1: 0.307 and G2: 0.277). A greater genetic distance between the G0 and G1 generations (0.108) and a greater genetic identity between G0 and G2 (0.909) were verified. Intrapopulation genetic diversity was high in the three generations, with highest values in G1.

Keywords: genetic diversity, *Genetic Improvement of Farmed Tilapias*, strains, genetic improvement, *Oreochromis niloticus*.

Introdução

Atualmente, a aquicultura no Brasil, possui um dos segmentos agrícolas que se encontra em mais elevada expansão. Na última década, esta produção teve crescimento anual médio cinco vezes superior às atividades tradicionais agrícolas, acima da avicultura, suinocultura e produção de bovinos (IBAMA, 2008). Ainda, dados recentes indicam aumento na produção aquícola alcançando um total mundial de 66,7 toneladas em 2006 (FAO, 2008), com rendimento de cerca de 86,2 bilhões de dólares. O Brasil, pela sua privilegiada localização

global, extensão territorial, quantidade e qualidade de água, tem se mostrado um dos países de maior potencial para a aquicultura mundial. Pois o reduzido custo da terra, o clima tropical e a grande produção de grãos são fatores que favorecem a produção de peixes.

A produção anual de 71.253 toneladas no ano de 2006 permitiu que o Brasil ocupasse o sétimo lugar entre os produtores mundiais de tilápia do Nilo (FAO, 2008), desde a sua introdução no Nordeste brasileiro em 1971, proveniente da Costa do Marfim. O Estado do Ceará ficou em primeiro lugar

na produção nacional, com 18.000 toneladas ano⁻¹, seguido do Estado do Paraná, que ficou em segundo lugar, alcançando um montante de 11.822 toneladas ano⁻¹ (IBAMA, 2007). A excelente combinação desta espécie quanto aos aspectos fisiológicos, biologia reprodutiva, rusticidade plasticidade genética, desenvolvimento de linhagens domesticadas e sua comercialização, colocou-a à frente na aquicultura (FITZSIMMONS, 2000).

A linhagem GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapias*), fruto de um projeto de pesquisa que foi iniciado na Malásia, em abril de 1988, sob a liderança de um órgão não-governamental denominado *Worldfish Center* (GUPTA; ACOSTA, 2004; LI et al., 2006) é composta por quatro linhagens comerciais de tilápias cultivadas na Ásia e outras quatro linhagens silvestres de cultivo Africano (GUPTA; ACOSTA, 2004). Esta combinação de oito linhagens puras possuía a finalidade de aumentar a variabilidade genética, e com o resultado obtido realizou-se a seleção das primeiras gerações desta linhagem. O desenvolvimento desta linhagem chama atenção para o pioneirismo em melhoramento genético de peixes tropicais. Porém, a *Worldfish Center* e parceiros afirmam ser apenas um começo, uma vez que a linhagem deverá ser testada em diferentes ambientes de cultivo e em muitos outros países até que possa se expandir plenamente (GUPTA; ACOSTA, 2004).

Em função disso, no ano de 2005, a Estação Experimental em Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM-CODAPAR) recebeu representantes de 30 famílias da linhagem GIFT a partir um projeto elaborado em parceria com *Worldfish Center* e apoio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP), tornando o Brasil o primeiro na América Latina a receber esta linhagem geneticamente melhorada (LUPCHINSKI JÚNIOR et al., 2008).

A intensificação do cultivo aumenta a necessidade de uma maior profissionalização da atividade, pois, de modo geral, pressupõe um aumento quanto aos riscos de produção e requer conscientização, principalmente no que se refere à variabilidade genética destes animais. A falta de seleção adequada e de informações genéticas das famílias da GIFT pode levar a um quadro de endogamia. Então, não sendo controlada de forma sistemática, a endogamia pode levar ao declínio da produtividade, como baixo ganho de peso, crescimento prejudicado, até mesmo à fixação de genes deletérios dizimando o potencial desta linhagem.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi analisar a variabilidade genética em três gerações

(G0, G1 e G2) de tilápias geneticamente melhoradas (GIFT) provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Universidade Estadual de Maringá, utilizando o marcador RAPD.

Material e métodos

Amostras de nadadeira caudal (300 mg) foram obtidas de 180 indivíduos (60 amostras por geração) de três gerações (G0, G1 e G2) da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem GIFT, provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. A G0 é formada pelos animais provenientes da *World Fish Center* contendo 30 famílias com aproximadamente 20 peixes por família. G1 é formada pelos melhores animais geneticamente da G0, formando 33 famílias e a G2 proveniente dos animais superiores da G1, onde se mantiveram aproximadamente 150 animais por família em cada geração.

Para extração de DNA utilizou-se o protocolo com NaCl descrito por Lopera-Barrero et al. (2008). Em microtubos contendo as nadadeiras, onde se adicionou 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⁻¹). As amostras foram incubadas em banho-maria a 50°C por 12h. O DNA precipitou com 600 µL de solução de NaCl (5M) e centrifugado por 10 min. a 12.000 rpm. O sobrenadante, contendo o DNA, transferido para novos microtubos, precipitado com 700 µL de álcool etílico absoluto e incubado por uma hora a 20°C. O DNA, por meio de centrifugação, lavado com 700 µL de álcool etílico 70%, ressuscitado em 80 µL tampão TE (10 mM Tris pH 8,0 e 1 mM EDTA), e tratado com 7 µL de RNase (30 µg mL⁻¹) em banho-maria a 37°C por 1h, e em seguida estocado no freezer a -20°C e então quantificado em espectrofotômetro Shimadzu com absorvância de 260 nm. As amostras foram diluídas para uma concentração de 10 ng µL⁻¹. Para conferir a qualidade do DNA, realizou-se uma eletroforese em gel de agarose 1%, conduzida em tampão TBE 1X (500 mM Tris-HCl, 60 mM ácido bórico e 83 mM EDTA) por 1h a 70 V.

As condições de amplificação se basearam na metodologia descrita por Williams et al. (1990). DNA, amplificado em um volume de reação de 15 µL, no qual se utilizou tampão 1X Tris-KCl, 2,5 mM de MgCl₂, 0,46 µM de *primer*, 0,2 mM de cada dNTP, uma unidade de Platinum *Taq* DNA polimerase e 10 ng de DNA. Inicialmente, o DNA foi desnaturado a 94°C por 4 min. e, em seguida, realizados 40 ciclos, cada um consistindo de 1 min. de desnaturação a

94°C, 90 segundos de anelamento a 40°C e 2 min. de extensão a 72°C. Posteriormente, realizou-se uma extensão final a 72°C por 7 min. As reações, amplificadas em termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient, sendo avaliados 60 *primers* do Kit OPA, OPX e OPW da Operon Technologies (USA), dos quais se selecionaram os que produziram fragmentos consistentes e reproduzíveis, utilizando a prova de reproducibilidade.

A eletroforese, realizada em tampão 0,5X TBE (45 mM de Tris-Borato e 1 mM de EDTA) por 4h a 70 volts. O gel de quantificação e dos produtos de amplificação, visualizados sob radiação UV, depois da sua exposição com brometo de etídio (0,5 µg mL⁻¹) por 1h. Posteriormente, a imagem foi fotografada utilizando o programa Kodak EDAS (Kodak 1D Image Analysis 3.5). O tamanho estimado dos fragmentos ocorreu pela comparação com o padrão DNA Ladder de 100 pb (15 bandas com tamanho entre 100 e 2072 pb - Invitrogen® USA). A presença ou ausência de fragmentos de tamanhos moleculares idênticos foi usada para a construção de uma matriz de similaridade com base no cálculo do coeficiente de similaridade de Jaccard, codificando “1” como presença de fragmento e “0” como a sua ausência. A obtenção do índice de diversidade genética de Shannon (LEWONTIN, 1972) ocorreu por meio do programa PopGene 1.31 (YEH et al., 1999). Utilizou-se o programa TFPGA 1.3 (MILLER, 1997) para determinar a porcentagem de fragmentos polimórficos (critério de 95%), distância e identidade genética (NEI, 1978) entre as gerações e a frequência dos fragmentos pelo teste exato (RAYMOND; ROUSSET, 1995).

Resultados e discussões

Dos 60 *primers* testados, sete foram escolhidos para amplificar o DNA genômico. A amplificação dos sete *primers*, produziu 91 fragmentos, com tamanho entre 290 e 2.020 pb. O número total de fragmentos que foram selecionados para serem usados nas análises variou de 10 (OPA13 e OPA14) a 17 (OPA10). O maior fragmento (2.020 pb) foi obtido pela amplificação dos *primers* OPA10 e OPA11 e o menor (290 pb) foi obtido pela amplificação dos *primers* OPA04 e OPA11. Dos 91 fragmentos obtidos 90 (98,9%) foram polimórficos (Tabela 1).

Pela análise da integridade do DNA, não foi observada degradação nem excesso de proteína que pudesse prejudicar a amplificação. Desta forma, a extração de DNA a partir de amostras de nadadeiras se mostrou eficiente, concordando com os resultados obtidos por Lopera-Barrero et al. (2008). Foram observadas diferenças ($p < 0,05$) na

frequência de 64 dos 91 fragmentos, com a presença de dez fragmentos excluídos na G2 (Tabela 2).

Tabela 1. Sequências de nucleotídeos dos *primers*, porcentagem de G+C, número de fragmentos e número de pares de bases dos fragmentos amplificados para as gerações da tilápia GIFT.

Primer	Sequência	G + C	No. Fragmentos	pb
OPA01	CAG GCC CTT C	70	14	350 – 1800
OPA04	AAT CGG GCT G	60	14	290 – 1700
OPA09	GGG TAA CGC C	70	12	380 – 1800
OPA10	GTG ATC GCA G	60	17	300 – 2020
OPA11	CAA TCG CCG T	60	14	290 – 2020
OPA13	CAG CAC CCA C	70	10	320 – 1700
OPA14	TCT GTG CTG G	60	10	550 – 1800
Total	---	---	91	290 – 2020

A presença dos fragmentos excluídos na G2 (OPA01: 1250 pb; OPA04: 290 e 730 pb; OPA09: 1300 pb; OPA10: 1280 pb; OPA11: 850, 1290 e 1350 pb; OPA13: 550 pb e OPA14: 1080 pb), pode ser explicada pelo efeito gargalo (*bottleneck*). Este perfil pode ter sido provocado pelos acasalamentos intencionais realizados durante o melhoramento, que segundo Desvignes et al. (2001), pode influir na exclusão de muitos alelos com baixas frequências.

Foram observados quatro fragmentos limitantes (G0: OPA11 – 290 pb; G0: OPA11 – 1800 pb; G1: OPA13 – 550 pb e G2: OPA11 – 290 pb). A presença de fragmentos limitantes (fragmentos com frequência 1,0000) demonstra a presença de alta variabilidade genética dentro de cada geração. Por outro lado, fragmentos com baixa frequência (menor que 0,1000) foram observados em todas as gerações (Tabela 2). Se qualquer dos alelos está numa frequência muito menor (G0: OPA01 – 350 pb; G1: OPA01 – 400 pb; G2: OPA01 – 400 pb, OPA04 – 1200 pb, OPA04 – 1700 pb e OPA14 – 1400 pb), então a sua perda é mais provável quando existe um processo de endogamia (probabilidade de que dois genes de qualquer loco em um indivíduo sejam idênticos por descendência), quando existe seleção intencional ou quando está presente o processo de deriva genética. A perda de alelos foi observada em maior frequência na G2 o que demonstra uma perda de variabilidade genética nessa geração.

Os valores do índice de diversidade genética de Shannon (IS), porcentagem de fragmentos polimórficos (%FP) e da diversidade genética de Nei (1972) indicaram altos valores intrapopulacionais em todas as gerações, corroborando os fragmentos limitantes observados nas frequências gênicas. Os maiores valores de variabilidade genética e de diversidade genética foram observados na G1 (Tabela 3). Foi constatada maior distância genética entre as gerações G0 e G1 (0,108) e maior identidade genética entre G0 e G2 (0,909) (Tabela 4).

Tabela 2. Caracterização, pares de bases e frequência dos fragmentos com valores significativos pelo teste exato ($p < 0,05$) para as gerações da tilápia GIFT.

OPA01					OPA04				
pb	G0	G1	G2	p	pb	G0	G1	G2	p
350	0,0000	0,3362	0,0963	0,0000	290	0,2635	0,1437	----	0,0063
400	0,0441	0,0000	0,0000	0,0013	380	0,2869	0,0780	0,2869	0,0000
550	0,8687	0,8698	0,6127	0,0016	500	0,6556	0,8709	0,6556	0,0032
730	0,0262	0,1075	0,7764	0,0000	600	0,2929	0,7745	0,7745	0,0000
950	0,3983	0,0433	0,5918	0,0059	730	0,8709	0,7745	----	0,0000
1150	0,1192	0,3756	0,1437	0,0000	850	0,7764	0,2298	0,6349	0,0000
1250	0,2989	0,1244	----	0,0013	950	0,2042	0,3622	0,1938	0,0020
1350	0,1800	0,4034	0,0253	0,0005	1200	0,6584	0,7745	0,0000	0,0000
1450	0,4128	0,2869	0,0513	0,0000	1300	0,0339	0,3491	0,5528	0,0000
1600	0,4748	0,2869	0,7764	0,0029	1350	0,6127	0,3756	0,0168	0,0008
					1500	0,3809	0,1075	0,7764	0,0000
					1700	0,0601	0,0522	0,0000	0,0012
OPA09					OPA10				
pb	G0	G1	G2	p	pb	G0	G1	G2	p
410	0,3169	0,3809	0,3809	0,0045	980	0,8709	0,3292	0,4084	0,0000
780	0,4226	0,1633	0,1633	0,0004	1150	0,8709	0,6349	0,3945	0,0023
900	0,5345	0,3545	0,5345	0,0000	1200	0,0253	0,0691	0,0691	0,0000
1150	0,7418	0,3809	0,3809	0,0000	1280	0,8174	0,6534	----	0,0000
1250	0,4677	0,1633	0,1633	0,0000	1350	0,7418	0,1534	0,1534	0,0000
1300	0,4226	0,2254	----	0,0009	1500	0,0691	0,1534	0,1534	0,0000
1400	0,1835	0,0253	0,1056	0,0001	1900	0,7418	0,2929	0,2929	0,0000
					2010	0,8709	0,4084	0,7113	0,0000
					2020	0,3945	0,1244	0,4523	0,0000
OPA11					OPA13				
pb	G0	G1	G2	p	pb	G0	G1	G2	p
290	1,0000	0,2812	1,0000	0,0000	320	0,0084	0,2362	0,0168	0,0000
710	0,1149	0,4373	0,0513	0,0000	400	0,0168	0,1835	0,3809	0,0000
850	0,2472	0,1437	----	0,0035	550	0,6584	1,0000	----	0,0018
1050	0,2362	0,1056	0,0963	0,0003	600	0,7764	0,2254	0,6127	0,0000
1100	0,4523	0,4836	0,7113	0,0016	900	0,5718	0,5918	0,3048	0,0004
1290	0,1633	0,0513	----	0,0016	1000	0,1734	0,1340	0,3048	0,0068
1350	0,2472	0,0963	----	0,0000	1110	0,1056	0,1835	0,1835	0,0000
1580	0,0871	0,2472	0,0426	0,0003	1500	0,3545	0,1534	0,2812	0,0015
1800	1,0000	0,0871	0,4226	0,0000					
2010	0,6838	0,3169	0,3048	0,0000					
2020	0,6127	0,0780	0,4373	0,0000					
OPA14									
pb	G0	G1	G2	p					
700		0,0253	0,1734	0,0339	0,0000				
850		0,4677	0,2929	0,0601	0,0032				
900		0,4084	0,2254	0,2042	0,0025				
1080		0,3417	0,1835	----	0,0030				
1200		0,0780	0,1056	0,2812	0,0000				
1290		0,3048	0,4226	0,8709	0,0000				
1400		0,4226	0,1534	0,0000	0,0002				

Tabela 3. Porcentagem de fragmentos polimórficos (%FP), índice de diversidade genética de Shannon (IS) e diversidade genética de Nei (DG) para as gerações da tilápia GIFT (G0, G1 e G2).

Gerações	%FP	IS	DG
G0	90,1	0,430	0,281
G1	94,5	0,469	0,307
G2	86,8	0,420	0,277

Tabela 4. Valores de identidade genética (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) para as gerações da tilápia GIFT (G0, G1 e G2).

Gerações	G0	G1	G2
G0	----	0,903	0,909
G1	0,108	----	0,908
G2	0,096	0,096	----

Os valores encontrados para a G1 podem ser pelo aumento da heterozigose em função do cruzamento das linhagens puras (G0) das diferentes famílias (30), ou seja, os genes de um determinado

loco são de origens diferentes, permitindo que as ações gênicas não-aditivas se expressem de maneira mais evidente (SHIKANO; TANIGUCHI, 2003).

Por outro lado, foi observada diminuição da variabilidade genética na G2 corroborando com a presença de fragmentos de baixa frequência e com menor distância genética ao ser comparada com G0. Esta diminuição da variabilidade pode ser pelo processo de melhoramento genético ao qual os animais foram submetidos (G1 e G2), que pode indiretamente gerar perda de alelos, também observado para esta mesma geração. Esta situação é bastante comum em pisciculturas, já que o método mais utilizado na formação de novos estoques é a seleção de indivíduos com características visuais favoráveis.

Normalmente, os reprodutores com melhores características reprodutivas são selecionados,

podendo promover o efeito gargalo (*bottleneck*) pela seleção intencional e deriva genética. Esta prática favorece a endogamia, pelo grande relacionamento parental, ocasionando perda de variabilidade genética nos reprodutores (AHO et al., 2006) e consequentemente em suas progênes. Segundo Li et al. (2006), uma maneira de mitigar o efeito da diminuição da variabilidade em estoques de cultivo é realizar o processo de seleção com grande número efetivo de reprodutores, em torno de 1.000 exemplares por geração de seleção. Igualmente, o cruzamento de diferentes famílias, como é o caso da GIFT analisada neste trabalho, pode contribuir com a heterozigose e preservar a variabilidade genética nas próximas gerações.

Analisando as gerações G0 e G1 da GIFT, Lupchinski Júnior et al. (2008) encontraram igualmente altos valores intrapopulacionais de variabilidade genética (%FP = G0: 69,6% e G1: 60%; IS = G0: 0,367 e G1: 0,317) porém, inferiores aos encontrados neste estudo. Por outro lado, observou redução da variabilidade genética na G1, o que foi atribuído, em especial, a um inadequado processo reprodutivo utilizado e não à influência da endogamia. Shikano e Taniguchi (2002), avaliando linhagens de guppy (*Poecilia reticulata*), concluíram que o efeito da heterose depende do nível de variabilidade genética entre as linhagens usadas no acasalamento, sugerindo a utilização do marcador RAPD para obter resultados confiáveis. Essa afirmação concorda com os resultados observados no presente estudo, em que foi observada uma alta variabilidade genética intrapopulacional na G1 utilizando esse mesmo marcador.

Segundo Li et al. (2006), a necessidade de melhorar a qualidade genética da tilápia do Nilo é amplamente reconhecida e fundamental para assegurar o futuro da tilapicultura. Para isso, os marcadores moleculares RAPD podem ser utilizados para indicar aos produtores a redução da diversidade genética, ou seja, para o monitoramento genético das gerações de cultivo (MELO et al., 2006) e para estimar a heterose em linhagens (SHIKANO; TANIGUCHI, 2003). Por serem inéditos no Brasil, os resultados observados neste estudo vão permitir obter um perfil genético das gerações de GIFT utilizadas em programas de melhoramento, podendo ser uma ferramenta importante para aumentar a variabilidade genética (MATHER, 2001). Pesquisas genéticas que determinem a variabilidade genética de estoques (HASSANIEN et al., 2004; MELO et al., 2006; MOREIRA et al., 2007; POVH et al., 2005) coincidem em concluir que tanto a endogamia e a heterose (SHIKANO; TANIGUCHI, 2003) devem ser realizadas constantemente em

tilapicultura, já que são fatores que influenciam a produção econômica da aquicultura.

Conclusão

A variabilidade genética intrapopulacional foi alta nas três gerações, mesmo levando-se em consideração o processo de seleção ao qual foi submetida à linhagem. Foram encontrados valores maiores de variabilidade genética e de diversidade genética na G1, possivelmente, pelo cruzamento de linhagens puras. Contudo, foi verificada a redução da variabilidade na G2. Estes resultados indicaram que a linhagem não sofreu efeitos genéticos prejudiciais de estabelecimento, sendo o “status” genético favorável para a continuidade do Programa de Melhoramento Genético.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Estadual de Maringá – Codapar e o Núcleo de Pesquisa PeixeGen, por prover os materiais para este estudo e aos estudantes e técnicos que contribuíram com a pesquisa.

Referências

- AHO, T.; RÖNN, J.; PIIRONEN, J.; BJÖRKLUND, M. Impacts of effective population size on genetic diversity in hatchery reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 244-248, 2006.
- DESIGNES, J. F.; LAROCHE, J.; DURAND, S. D.; BOUVET, Y. Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio*) based on allozymes and microsatellites. **Aquaculture**, v. 194, n. 3-4, p. 231-291, 2001.
- FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. **State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: FAO Fisheries Department, 2008.
- 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 Aquicultura, 2000. p. 3-8.
- GUPTA, M. V.; ACOSTA, B. O. From drawing board to dining table: The success story of the GIFT project. **NAGA - Worldfish Center Quarterly**, v. 27, p. 4-14, 2004.
- HASSANIEN, H. A.; ELNADY, M.; OBEIDA, A.; ITRIBY, H. Genetic diversity of Nile tilapia populations revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). **Aquaculture Research**, v. 35, n. 6, p. 587-593, 2004.
- IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estatística da Pesca 2007 – Brasil: grandes regiões e unidades da federação**. Brasília: Ibama, 2007.
- IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estatística da Pesca 2008 – Brasil: grandes regiões e unidades da federação**. Brasília: Ibama, 2008.

- LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, v. 6, p. 381-398, 1972.
- LI, S. F.; HE, X. J.; HU, G. C.; CAI, W. Q.; DENG, X. W.; ZHOU, P. Y. Improving growth performance and caudal fin stripe pattern in selected F6-F8 generations of gift Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using mass selection. **Aquaculture Research**, v. 37, n. 12, p. 1165-1171, 2006.
- LOPERA-BARRERO, 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 cloruro de sodio. **Ciência e Investigación Agraria**, v. 35, n. 1, p. 77-86, 2008.
- LUPCHINSKI JÚNIOR, E.; VARGAS, L.; POVH, J. A.; RIBEIRO, R. P.; MANGOLIM, C. A.; LOPERA-BARRERO, N. M. Avaliação da variabilidade das gerações G0 e F1 da linhagem GIFT de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Science**, 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**. Brisbane: ICLARM, 2001. p. 133-139.
- MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; RIBEIRO, R. P.; TEIXEIRA, C. S.; SOUZA, A. B.; COELHO, E. G. A.; CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilapia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 87-93, 2006.
- MILLER, M. P. **TFPGA**: tools for population genetic analysis of allozyme and molecular population genetic data. Logan, 1997. Disponível: <<http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>>. Acesso em: 21 mar. 2007.
- MOREIRA, A. A.; HILSDORF, A. W. S.; DA SILVA, J. V.; DE SOUZA, V. R. Variabilidade genética de duas variedades de tilapia nilotica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 521-526, 2007.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist**, v. 106, p. 283-292, 1972.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.
- POVH, J. A.; MOREIRA, H. L. M.; RIBEIRO, R. P.; PRIOLI, A. J.; VARGAS, L.; BLANCK, D. V.; GASPARINO, E.; STREIT JÚNIOR, D. P. Estimativa da variabilidade genética em linhagens de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de RAPD. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 1-10, 2005.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. An exact test for population differentiation. **Evolution**, v. 49, n. 6, p. 1280-1283, 1995.
- SHIKANO, T.; TANIGUCHI, N. Using microsatellite and RAPD markers to estimate the amount of heterosis in various strain combinations in the guppy (*Poecilia reticulata*) as a fish model. **Aquaculture**, v. 204, n. 3-4, p. 271-281, 2002.
- SHIKANO, T.; TANIGUCHI, N. DNA markers for estimation of inbreeding depression and heterosis in the guppy *Poecilia reticulata*. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 11, p. 905-911, 2003.
- WILLIAMS, J. G. K.; RAFALSKI, J. A.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; TINGEY, S. V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.
- YEH, F. C.; BOYLE, T. Y. Z.; XIYAN, J. M. **PopGene Version 131**: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. Alberta: University of Alberta and Center for International Forestry Research, 1999.

Received on January 13, 2010.

Accepted on October 20, 2010.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.