

***Loci* DE CARACTERES QUANTITATIVOS (QTL) EM PEIXES**

Diones Bender Almeida¹
 Heden Luiz Marques Moreira²
 Marco André Paldês da Costa³
 Bernardo dos Santos Vaz⁴
 Carla Giovane Ávila Moreira⁴
 Plínio Aguiar de Oliveira⁵
 Janaína Camacho da Silva⁶
 Rafael Aldrighi Tavares⁷
 Liane Ney Bassini⁸

ALMEIDA¹, D. B; MOREIRA², H. L. M; COSTA³, M. A. P; VAZ⁴, B. S; MOREIRA⁴, C. G. A; OLIVEIRA⁵, P. A; SILVA⁶, J. C; TAVARES⁷, R. A; BASSINI⁸, L. N. *Loci* de caracteres quantitativos (qtl) em peixes. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 175-186, jul./dez. 2009.

RESUMO: Entre as aplicações do mapeamento genômico está a procura por *loci* de caracteres quantitativos, influenciando características economicamente importantes na produção animal. A metodologia identifica relações entre variações no nível do DNA e valores fenotípicos. Esses dados fenotípicos podem ser referentes à características de herança simples ou quantitativa (herança poligênica). Em anos recentes, análises têm sido focadas, principalmente em caracteres quantitativos, pois são a base das características de produção. No entanto, a natureza poligênica desses caracteres com variação contínua dificulta análises clássicas, por meio de cruzamento para isolamento gênico, principalmente em razão da falta de segregação fenotípica discreta. Nesses casos, regiões do DNA responsáveis pelo fenótipo são definidas como QTL (*Quantitative Trait Loci*). Sua identificação pode ser realizada por varredura genômica ou análise de cromossomos individualmente. Um próximo passo é identificar os genes presentes nas regiões próximas a marcadores ligados ao QTL. O procedimento é realizado por meio de mapeamento fino, com o emprego de um maior número de marcadores próximos a região de localização do QTL. Este refinamento da análise de ligação, ou saturação da região de mapeamento, permite reduzir o tamanho da região mapeada, e, portanto, reduzir o número de possíveis genes relacionados ao QTL. Do ponto de vista estatístico, os métodos para mapear QTL são agrupados em três grandes classes: modelos de regressão (*locus* simples ou haplótipos de dois *loci*), modelos de máxima verossimilhança e modelo bayesiano. Um dos objetivos do estudo de associação marcador-QTL é utilizar marcadores em desequilíbrio de ligação com o QTL na seleção assistida por marcadores (SAM), de forma que maiores incrementos na taxa de resposta possam ser obtido em relação a seleção tradicional. Diversos QTLs ligados a características de crescimento, resistência a doenças e reprodução têm sido identificados em diversas espécies de peixes. Entretanto, seu número é reduzido comparativamente entre táxons. O objetivo desta revisão é apresentar as principais características e aplicações da análise de QTL em peixes.

PALAVRAS-CHAVE: Mapeamento de gene. Seleção assistida por marcadores. Piscicultura.

QUANTITATIVE TRAIT *Loci* (QTL) IN FISHES

ABSTRACT: Among the applications of genome mapping is the search for loci that influence economically important quantitative traits in animal production. The methodology identifies the relationship among variations at DNA level and phenotypic values. These phenotypic data may be referent to traits of simple or quantitative (polygenic) inheritance. In recent years, analyses have been mainly focused in quantitative traits, since these are usually production traits. However, the polygenic nature of these particular characters with continuous variation makes it difficult to employ classical analyses of crosses for gene isolation, mainly due to the lack of discrete phenotypic segregation. In these cases, DNA regions responsible for the phenotype are defined as QTL (*Quantitative Trait Loci*). Its identification can be done by a whole-genome screening or analyzing chromosomes individually. A next step is to identify the genes present in the regions next to markers linked to QTL. The procedure is done by fine mapping, using a larger number of markers next to the region of the QTL position. This refinement of the linkage analysis or saturation of the mapping region allows reducing the size of the mapped region and thus reduce the number of possible genes related to the QTL. From the statistical point of view the methods to map QTL are grouped into three large classes: regression models (simple locus or haplotypes of two loci), maximum likelihood methods,

¹Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Zootecnia e área de Produção Animal. E-mail: dalmeida.faem@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Genética e Morfologia/IB/UFPeI

³Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Zootecnia e área de melhoramento genético

⁴Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia/CENBIOT/IB/UFPeI

⁴Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia/CENBIOT/IB/UFPeI

⁵Universidade Federal de Pelotas. Graduação em Medicina Veterinária/FV/UFPeI

⁶Universidade Federal de Pelotas. Graduação em Biologia/IB/UFPeI

⁷Universidade Federal de Pelotas. Departamento de Zootecnia e área de melhoramento genético

⁸Universidade Federal de Pelotas.

and bayesian analyses. One of the objectives of the study of the association marker-QTL is to use markers in linkage disequilibrium with QTL in marker assisted selection (MAS), so greater increments on the response rate could be obtained in relation to the classical selection. Several QTLs linked to growth traits, disease resistance, and reproduction were identified in many species of fish. Nevertheless, this number is reduced comparatively among taxa. The objective of this review is to present the main characteristics and applications of QTL analysis in fish.

KEYWORDS: Gene mapping. Marker-assisted selection. Aquaculture.

Loci DE CARACTERES CUANTITATIVOS (QTL) EN PECES

RESUMEN: Entre las aplicaciones del mapeo genómico está la búsqueda por *loci* de caracteres cuantitativos, influenciando características económicamente relevantes en la producción animal. La metodología identifica relaciones entre variaciones a nivel del ADN y valores fenotípicos. Esos datos fenotípicos pueden ser referentes a las características de herencia simple o cuantitativa (herencia poligénica). En años recientes, análisis han sido enfocadas, principalmente en caracteres cuantitativos, pues son la base de las características de producción. Sin embargo, la naturaleza poligénica de esos caracteres con variación continua dificulta análisis clásicos, que utiliza cruzamientos para aislamiento génico, principalmente en razón de la falta de segregación fenotípica discreta. En esos casos, regiones del ADN responsables por el fenotipo son definidas como QTL (*Quantitative Trait Loci*). Su identificación puede ser realizada por barradura genómica o por análisis individual de cromosomas. Un próximo paso es identificar los genes presentes en las regiones próximas a los marcadores unidos al QTL. El procedimiento es realizado a través del mapeo fino, con la utilización de un mayor número de marcadores próximos a la región de localización del QTL. Este refinamiento del análisis de unión o saturación de la región del mapeo, permite reducir el tamaño de la región de mapeo, y por lo tanto, reducir el número de posibles genes relacionados al QTL. Del punto de vista estadístico, los métodos para mapeo QTL son agrupados en tres grandes clases: modelos de regresión (*locus* simple o haplotipos de dos *loci*), modelos de máxima verosimilitud y modelo bayesiano. Uno de los objetivos del estudio de la asociación marcador-QTL, es utilizar marcadores en desequilibrio de unión con el QTL en la selección asistida por marcadores (SAM), de manera que mayores incrementos en la tasa de respuesta puedan ser obtenidos en relación a la selección tradicional. Diversos QTLs unidos a características de crecimiento, resistencia a enfermedades y reproducción han sido identificados en diversas especies de peces. No obstante, su número es reducido en comparación a otros taxones. El objetivo de esta revisión es presentar las principales características y aplicaciones del análisis de QTL en peces.

PALABRAS CLAVE: Mapeo de gene. Selección asistida por marcadores. Piscicultura.

1. Introdução

Atualmente, os diversos programas de sequenciamento genômico em desenvolvimento estão gerando informações sobre genes que podem ser utilizados para identificar animais geneticamente superiores, de uma forma mais direta. Esses genes, funcionais, constituem uma pequena parte (menos de 5%) do genoma de um indivíduo, e a maioria dos demais não se conhece, ainda, as suas funções.

Dentre os mapas genéticos mais adiantados estão os de bovinos, suínos e aves. Mapas de outras espécies, dentre elas caprinos, ovinos, felinos, caninos, equinos, e peixes (*zebrafish*, fúgus, *catfish*, salmão e tilápias), estão em desenvolvimento. Embora, o *zebrafish* e fúgus não sejam espécies comerciais, a utilização em análise de sintenia pode conduzir a localização de genes em outras espécies. Diferentemente de humanos, o principal objetivo dos projetos de mapeamento em animais, não é apenas a identificação de regiões genômicas relacionadas com enfermidades, mas também a localização de genes envolvidos com a variação genética em fenótipos economicamente importantes, que possam ser diagnosticados diretamente, ou por meio de marcadores genômicos (GUIMARÃES, 2004).

Com o crescente desenvolvimento da biotecnologia e da biologia molecular, vários métodos de análise de DNA têm possibilitado a localização de marcadores moleculares ao longo do genoma de muitos organismos. Esses marcadores constituem uma importante ferramenta para a pesquisa de características de produção ligadas a *loci* de caracteres quantitativos (QTL) (ROTHSCHILD; SOLLER, 1999). Por definição, QTL – “*quantitative trait loci*” – são regiões cro-

mossômicas relacionadas com a variação fenotípica de características quantitativas. Como poucos *loci* economicamente importantes (ETL – *Economic Trait Loci*) são conhecidos, e QTLs não têm suas bases moleculares definidas, esses, atualmente, têm sido referidos mais como uma associação estatística do que propriamente como uma entidade biológica, sendo a herança acompanhada pelos marcadores. Portanto, QTLs têm sido identificados como associações estatísticas significativas entre os valores genotípicos e a variabilidade fenotípica na progênie segregante (WILLIAM, 1998).

Os fundamentos da teoria do mapeamento de QTL foram entendidos a partir do trabalho de Thoday (1961). Esse autor sugeriu que se um oligogene (herança complexa) estiver ligado a um monogene (herança simples), os efeitos fenotípicos do oligogene podem ser indiretamente estudados com base nos efeitos do gene vizinho. Com o advento dos marcadores moleculares fundamentados em DNA, o número de associações entre esses marcadores e caracteres de herança poligênica de importância econômica foram ampliados significativamente.

Experimentos usando mapeamento de QTL são conduzidos visando três objetivos básicos: 1) localizar genes responsáveis pela variação genética em fenótipos economicamente importantes, como ponto inicial para a seleção assistida por marcadores no melhoramento animal; 2) em longo prazo, realizar a clonagem molecular dos genes de fenótipos específicos; e 3) responder questões básicas sobre os processos evolutivos (PATERSON, 1998).

Excluindo as espécies mais tradicionais utilizadas na aquicultura, entre elas tilápias, carpas, salmão, truta arco-íris, *catfish*, *yellowtail*, *seabass asiático*, etc., as demais

não possuem mapas de ligação que suportem uma análise de QTL. Questões relacionadas a custos e dificuldades de criação de um grande número de peixes sob as mesmas condições, bem como a falta de mapas de ligação tem limitado estudos genéticos em muitas espécies de peixes (WANG et al., 2006). Para a grande maioria das espécies, nem genes clonados ou marcadores do tipo microssatélites estão disponíveis para emprego na análise de ligação. Recentemente no Brasil tem sido desenvolvidos marcadores do tipo microssatélites para algumas espécies nativas, entre elas, matrinhã, pacu, curimba, pirarucu e jundiá. Entretanto, são poucos marcadores, e estudos de ligação ainda não foram realizados, nem mesmo suportam uma análise de varredura genômica de baixa resolução.

Os estudos de QTL podem ser específicos a um cromossomo ou grupo de ligação ou por meio de uma varredura genômica, para posterior refinamento da região ao redor do QTL identificado por intermédio do uso de mais marcadores nesta região, o qual é chamado de saturação. Essa averiguação utiliza informações dos eventos de recombinação que ocorrem entre os marcadores genéticos, quando os gametas são formados, e os transmitem dos pais para a progênie (LUND et al., 2003).

Entre as aplicações do mapeamento genético, a busca por QTLs, que influenciam características de importância econômica na produção animal tem sido muito explorada. Seu objetivo principal é identificar se existem relações entre polimorfismo de DNA e os valores de fenótipos. Os valores fenotípicos observados podem ser referentes a características de herança simples (qualitativa) ou quantitativas. No entanto, as últimas, vem recebendo maior atenção pelo interesse direto na aplicação em melhoramento genético. Em face ao potencial de melhoramento genético que pode ser realizado com a aplicação da análise de QTL, esta revisão tem como objetivo apresentar as principais características e aplicações em peixes.

2. Desenvolvimento

2.1. Mapeamento de QTL

A construção dos mapas de ligações baseados em distâncias genéticas permite avaliar a arquitetura genética de características quantitativas, ou seja, identificar, medir e mapear a magnitude dos efeitos dos principais fatores genéticos envolvidos no controle destas características. Esse tipo de mapeamento é importante quanto a ligação gênica, desequilíbrio de ligação, eventos de recombinação e análise estatística empregada (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

Em espécies aquáticas, muitos esforços são dedicados ao mapeamento de QTL. Marcadores ligados a QTLs para características de crescimento, eficiência de conversão alimentar, idade a maturação sexual, tolerância de doença bacteriana, intervalo entre gerações e taxas de desenvolvimento embrionárias, foram identificados em *catfish*, salmão, truta arco-íris e tilápias (MARTYNIUK et al., 2003; O'MALLEY et al., 2003; WORAM et al., 2004; REID et al., 2005; JANSSEN, 2006; MOGHADAM et al., 2007). Para peixes cultivados, o primeiro mapeamento importante de QTLs foi relatado em 1998 (JACKSON et al., 1998).

O mapeamento de QTLs possibilita mensurar o nú-

mero de *loci* quantitativos envolvidos na herança complexa, bem como suas localizações cromossômicas, modo de ação gênica (aditividade, dominância, heterose e epistasia), estimar a proporção da variância fenotípica, além de possibilitar a decomposição da interação genótipos x ambientes a nível de cada QTL (JANSEN et al., 1995; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995; AUSTIN; LEE, 1998; CNAANI et al., 2003; WANG et al., 2007). Por exemplo, o salmão do Atlântico e a truta arco-íris, dentre outros, foram recentemente estudados quanto a regiões cromossômicas contendo *loci* de caracteres quantitativos associados à várias características de crescimento (MARTYNIUK et al., 2003; NICHOLS; WHEELER; THORGAARD, 2004; REID et al., 2005), e histórico de vida (taxa de desenvolvimento e idade a maturação) (O'MALLEY et al., 2003; SUNDIN et al., 2005; LEDER et al., 2006). Estes estudos identificaram muitos QTL, sendo alguns com efeitos maiores. Resultados iniciais sugerem que, ao menos em parte, alguns QTLs podem ter sido conservados não somente entre cromossomos homólogos, mas também entre cromossomos homeólogos (O'MALLEY et al., 2003).

2.1.1. Fatores influenciando o mapeamento

Muitos fatores influenciam o mapeamento experimental de QTL, tais como: a finalidade do estudo, o organismo usado, a população segregante e, é claro, o recurso disponível. O cálculo do tamanho da amostra requerido para detectar QTL depende da herdabilidade total do mesmo, da possível interação entre QTLs (múltiplos), e também do método estatístico empregado na análise de mapeamento. Portanto, a magnitude do efeito de QTL (quanto da variação é explicada pelo QTL), tamanho da população segregante avaliada e a frequência de recombinação entre o marcador e o QTL afetam a capacidade de detecção de QTL (PATERSON et al., 1991; TANKSLEY, 1993). O mapeamento de QTLs também é afetado por diferenças nas estruturas de populações, devido a diferenças em termos de homozigosidade, frequências genotípicas, e desequilíbrio de ligação (WEIR, 1996).

A principal dificuldade em encontrar evidências de que alguns *loci* gênicos estão associados com determinado caráter quantitativo, estava relacionada com as deficiências na precisão da localização dos marcadores (THODAY, 1961; NEIMANN-SORENSEN; ROBERTSON, 1961). Outras dificuldades para identificar genes e mutações fundamentando os QTLs estavam relacionadas ao fato de que a maioria dos QTLs possuíam um efeito fenotípico pequeno e estavam localizados em regiões regulatórias (ANDERSON; GEORGES, 2004), ou de baixa recombinação (SUNDIN et al., 2005).

2.1.2 Métodos empregados para mapear QTL

A detecção de QTLs, segundo Camp e Cox (2002), requer 3 estágios essenciais: (1) uma coleção de dados fenotípicos de populações com pedigrees conhecidos e adequadamente desenvolvidos; (2) uma coleção de dados genotípicos acurados (marcadores de DNA); e (3) uma análise estatística correlacionando os dados fenotípicos e genotípicos que reflita a organização e estrutura do pedigree.

O requerimento de uma população com *pedigrees* conhecidos causa uma dificuldade para a aplicação deste tipo

de análise em populações nativas, devido a falta desta informação. Também neste mesmo contexto, um mapa genético de marcadores variáveis pode não estar disponível, mesmo embora a existência ou não de um mapa genético não seja uma condição essencial para a análise de QTL (SLATE, 2005). Alternativamente, populações ou cruzamentos orientados podem ser realizados para produzir uma população segregante a fim de coletar dados fenotípicos e genotípicos.

O QTL pode ser identificado por meio de uma varredura do genoma em que a segregação de um grande número de marcadores, distribuído sobre o genoma inteiro, é testado para associações com os fenótipos observados. A busca de QTL pode ser mais específica, restringindo-a apenas a um cromossomo. Idealmente, os marcadores devem ser co-dominantes e ter heterozigosidade elevada. Marcadores microssatélites cumprem estes critérios, entretanto, a obtenção desses é um processo exigente em recursos, e que, para muitas espécies, mapas de alta densidade não estão disponíveis (JACKSON et al., 1998; OZAKI,; SAKAMOTO; KHOO, 2001).

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1995) a determinação da ligação genética entre marcadores e QTL, depende da existência de desequilíbrio de ligação entre alelos no *locus* marcador e alelos dos QTLs. O desequilíbrio de ligação gera efeitos quantitativos associados ao marcador, que podem ser detectados e estimados por meio de análises estatísticas apropriadas.

O desequilíbrio de ligação é decorrente de efeitos de ligação ou epistáticos entre os *loci*, resultando em desvios das frequências gaméticas em relação às de equilíbrio. Uma importante constatação é que, os QTLs, na maioria das vezes, não são coincidentes entre populações constituídas por diferentes parentais. Essas variações detectadas pela análise de QTL, segundo Huang et al. (1996), ocorrem em virtude de: 1) falta de expressão gênica em algumas populações devido aos diferentes conjuntos de genes; 2) não existir variação entre os dois parentais para alguns QTL, assim, não há segregação para eles; 3) equívoco da expressão de alguns QTL causado por efeitos ambientais, especialmente para populações F2 onde o QTL com efeitos muito pequenos não podem ser detectados sem experimentos replicados. Os resultados de Eknath (1995) demonstraram forte influência do ambiente no crescimento de machos e fêmeas das diferentes linhagens de *O. niloticus*, evidenciando diferença de expressão do potencial genético em 19 ambientes avaliados.

O posicionamento do gene que controla a característica dentro do cromossomo também pode trazer dificuldade para localização do QTL. Oliveira (1999) verificou que as regiões ricas em sequências satélites nos cromossomos de *O. niloticus* localizam-se principalmente nos centrômeros e regiões pericentroméricas de todos os cromossomos, com exceção de regiões intersticiais em dois braços curtos de 2 pares de cromossomos. QTLs próximos ao centrômero dificultam a análise, uma vez que, para o refinamento da localização do QTL, altos níveis de recombinação são requeridos (SUNDIN et al., 2005).

Embora um grande número de métodos estatísticos avançados tenham sido desenvolvidos para melhorar a localização de QTL, o número limitado de eventos de recombinação, disponível em pedigrees usados habitualmente para mapeamento de QTLs levam, essencialmente, para uma

aproximação do QTL. Isso é principalmente devido a algumas gerações de acasalamento e um número restringido de indivíduos testados (CNAANI et al., 2004).

Dentre os métodos propostos para a localização de QTL encontram-se os modelos lineares (ANOVA e regressão linear), mapeamento por intervalo (“interval mapping” ou “flanking-marker analysis”), mapeamento por intervalo composto (“composite interval mapping”) (ZENG, 1994; JANSEN, 1993) e mapeamento multiponto (“multipoint mapping”) (KEARSEY; HYNE, 1994). Mais recentemente, o uso de modelos bayesianos tem sido amplamente explorados para mapeamento de QTLs (SATAGOPAN et al., 1996; UIMARI; HOESCHELE, 1997; SEN; CHURCHILL, 2001; XU, 2003; BOGDAN; GHOSH; DOE, 2004; WANG et al., 2005). Porém, esses últimos não foram extensamente aplicados na prática, principalmente devido à dificuldade de escolher distribuições *apriori*, complexidade de computação e, necessidade de softwares sofisticados.

Um dos procedimentos mais simples para detecção de QTL são os modelos lineares, que analisam separadamente a diferença entre os valores fenotípicos médios para cada marcador, não sendo necessária a construção de mapas de ligação (EDWARDS; STUBER; WENDEL, 1987). Como limitação, há o fato de que quanto maior for a distância entre o QTL e o marcador, menor será a probabilidade de detectá-los em vista da possibilidade de recombinação entre o gene marcador e os QTLs (LYNCH; WALSH, 1998).

Segundo Knott e Haley (1992) os princípios do mapeamento por intervalo podem ser aplicados na análise de dados de famílias de irmãos completos. O uso desses dados é muito menor em gerações F2 para a detecção de um QTL de tamanho equivalente. Métodos de estimação por máxima verossimilhança são indicados para a detecção de QTLs usando marcadores flanqueantes em famílias de irmãos completos. Os efeitos aleatórios das famílias que podem ser usadas tanto para detecção de QTL como para calcular o efeito de sua frequência. Com um número total fixo de irmãos completos o poder de detecção diminui substancialmente com a diminuição do tamanho da família. Aumentando o número de alelos por *loci* marcadores e diminuindo o intervalo sobre o QTL, faz com que aumente a sua eficácia. Portanto, para obter adequadamente sua importância é necessário criar um mapa bastante denso com marcadores altamente informativos.

Gonçalves et al. (2008) apontam como vantagens do método bayesiano a incorporação de informações de *pedigree*, de parâmetros adicionais de perturbação (efeitos fixos, componentes de variância) e a incerteza associada às informações de marcadores genéticos (frequência alélica, distância genética). Um modelo bayesiano de estimação baseado no método Monte Carlo via Cadeias de Markov foi aplicada para mapear QTL em uma população de mapeamento duplo haplóide de truta arco-íris (MARTINEZ et al., 2005). Foram encontrados QTLs para tempo de eclosão, comprimento embrionário e peso a primeira nadada. A posição acurada do QTL neste estudo foi obtida pela combinação de todas as informações disponíveis utilizadas pelo método bayesiano.

Embora uma considerável redução da localização dos *loci* fundamentando o QTL possa ser realizada com o mapeamento, as acurácias destas estimativas são da ordem de dezenas de centimorgans, o que não é suficiente para a localização dos genes (BALL, 2007).

A dissecação da base molecular de características quantitativas pode ser realizada empregando linhas congênicas. As linhas congênicas podem ser produzidas por meio da seleção assistida por marcadores e estratégia AB-QTL (*Advanced Backcross – QTL*). A estratégia AB-QTL nada mais é do que sucessivos retrocruzamentos de uma linhagem contendo o QTL com outra linhagem onde QTLs não estão presentes (*background* genético diferente). Para tanto, é necessário que os marcadores flanqueantes aos QTL estejam fortemente ligados, de forma a minimizar o arraste gênico ao redor dos QTLs sendo retrocruzado. Sundin et al. (2005) utilizaram essa estratégia para refinar o mapeamento para taxa rápida de desenvolvimento embrionário em truta arco-iris. Esses pesquisadores empregaram ginogênicos, baseado nos resultados de Sakamoto et al. (2000) que identificaram que taxas de recombinação em regiões centroméricas de fêmeas são 10 vezes maiores do que as de machos. Checagens com marcadores não ligados aos QTLs confirmaram a redução dos estoques nos retrocruzamentos realizados.

2.2 Marcadores moleculares x QTL

A hipótese empregada para o mapeamento de QTL, é de que alguns marcadores moleculares polimórficos estarão próximos e, portanto suficientemente ligados aos QTLs. Na maioria das progênes de um indivíduo heterozigoto para um marcador, será possível associar as variações em características quantitativas de interesse com o genótipo do marcador, que será indicativo do genótipo de QTL.

A habilidade para realizar estudos de QTL em grande escala seguiu o desenvolvimento de marcadores moleculares, que são assim chamados porque suas diferenças no DNA não afetam (ou não deveriam) a função do gene e, conseqüentemente, do fenótipo do indivíduo. Os mapas de ligação que definem a ordem e a distância entre marcadores e genes em um cromossomo, a partir das taxas de recombinação, são constituídos, em sua maioria, por marcadores microssatélites, devido ao seu amplo polimorfismo, facilidade de amplificação por PCR, e identificação de alelos (LYNCH; ALSH, 1998; MONTGOMERY, 2000).

Um importante aspecto a considerar é o tipo de marcador a ser escolhido, que deve apresentar a maior probabilidade possível de localizar-se próximo ou fazer parte dos genes responsáveis pelos QTL desejados. Os polimorfismos de DNA, como os observados em microssatélites, têm sido amplamente utilizados para aferição de diversidade genética em organismos aquáticos (SHIKANO; TANIGUCHI, 2002), e também para identificar novos QTLs. Mais recentemente, marcadores SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphisms*) e SNPs (*single-nucleotide polymorphisms*) também estão sendo empregados para análise de QTLs ou mesmo *locus* individuais.

As associações estabelecidas entre marcadores e QTL de um indivíduo, são acompanhadas por diversas gerações subsequentes de melhoramento (GRATTAPAGLIA; SEDEROFF, 1994). Zhang e Smith (1992) afirmaram que a detecção de marcadores próximos ao QTL aumenta o desequilíbrio de ligação disponível para seleção, sendo que, para ligações muito próximas, a seleção de alelos marcadores corresponde à seleção para os QTLs (EDWARDS; PAGE, 1994).

Os estudos de ligação entre marcador e gene de interesse podem ser empregados para as mais diferentes características, tais como: taxa de crescimento, peso corporal e qualidade da carne, as quais são importantes economicamente, apresentam variação contínua, e são controlados por muitos genes dispersos ao longo do genoma (DEKKERS; HOSPITAL, 2002).

Desta forma, pode-se verificar que, o que é identificado como QTL é um segmento cromossômico, onde podem estar situados um ou mais genes relacionados com expressão de uma característica, e não necessariamente um único *locus* (FALCONER; MACKAY, 1995).

2.2.1 Características de resistência à doenças

A propagação de doenças é um dos principais problemas para a produção na aquicultura, e determinar a arquitetura genética de características de resistência a doenças é de grande interesse aos melhoristas. O mapeamento de QTLs para a resistência a doenças é uma aproximação que pode fornecer informações sobre posição e efeitos de genes que influenciam essa característica.

Abordagens genômicas têm sido conduzidas principalmente para características relacionadas ao desempenho em produção, e pouco tem sido explorado para resistência a doenças. Estudos com genes candidatos foram mais direcionados a explorar doenças bacterianas e víricas. Para doenças parasitárias, estudos de populações para investigação de animais resistentes também foram conduzidos.

Uma recente busca complexa por ligações genéticas entre marcadores de DNA e QTLs para imunidade, resposta ao estresse, parâmetros bioquímicos do sangue e tamanho dos indivíduos, foi conduzido em híbridos de tilápia, e revelaram 35 associações significativas da característica com o marcador, envolvendo 26 marcadores microssatélites em 16 grupos de ligação (CNAANI et al., 2004).

Um dos objetivos do trabalho Moen et al. (2004) foi propor uma estratégia de detecção de QTLs para a resistência da doença em espécies aquícolas, enquanto o mapa genético não está disponível. Isso representa um atalho comparativo de estratégias de mapeamento de QTLs atualmente usadas em criações de animais terrestres.

Estratégias para detecção de QTLs para resistência a doenças têm sido desenvolvidas e aplicadas contra a Síndrome da anemia infecciosa (ISA) em salmão do Atlântico (*Salmo salar*). A ISA causa vários problemas no cultivo de salmão para a indústria da Noruega, Canadá e Estados Unidos (THORUD; DJUPVIK, 1988; MULLINS; GRO-MAN; WADOWSKA, 1998; BOUCHARD et al., 2001). O agente causal pertence à família orthomyxoviridae de vírus de RNA (FALK et al., 1997), e mudanças patológicas típicas incluem várias anemias, leucopenias, ascites e necroses hemorrágicas no fígado (THORUD; DJUPVIK, 1988; EVENSEN; THORUD; OLSEN, 1991).

Um QTL associado a resistência ao vírus IHN (*Infectious Hematopoietic Necrosis*) foi encontrados em retrocruzamentos entre espécies de truta (PALTÍ; PARSONS; THORGAARD, 1999; PALTÍ et al., 2001). Em tilápia, marcadores associados com genes com deleção de alelos (PALTÍ, et al. 2002) e taxas de distorções sexuais (SHIRAK et al., 2002) foram encontrados em linhagens geneticamente

congênitas.

A identificação de genes responsáveis por diferentes respostas a resistência a doenças é extremamente importante, pois permitiria a seleção de animais mais resistentes e que respondam melhor, ou mais homogêneos aos tratamentos. O desenvolvimento de técnicas moleculares tem possibilitado estudos para identificação de genes responsáveis por essa característica, e o melhor entendimento de suas funções nesse processo, entretanto, nenhum trabalho para dissecação de suas bases genéticas tem sido empregado em peixes.

2.2.2 Características reprodutivas

Estudos analisando o efeito de diversos QTLs relacionados ao fotoperíodo na desova têm sido conduzidos em muitas espécies de peixes (BROMAGE; PORTES; RANDALL, 2001), com importantes funções para reprodução, incluindo maturação e crescimento somático (NORBERG et al., 2001; RODRIGUEZ; ZANUY; CARRILLOM, 2001), crescimento folicular e tamanho dos ovos (BERRIL, et al. 2003), período de desova, fecundidade e tamanho dos ovos (CAMPOS-MENDOZA et al., 2004).

Apesar da enorme quantidade de pesquisas relacionadas ao fotoperíodo e da importância dos eventos reprodutivos para a evolução da aquicultura, sua base molecular é pouco conhecida. Recentes avanços na biologia molecular começaram a esclarecer as funções biológicas em seu cotidiano (ROENNEBERG; MERROW, 2003).

Leder et al. (2006) mapearam genes candidatos próximos a um QTL, para gerar dados em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) que poderiam indicar se estes genes estariam relacionados com os efeitos dos QTLs identificados. Vários genes foram escolhidos para a análise de seus papéis na reprodução e circulação, incluindo o hormônio de liberação da gonadotrofina 3A e 3B em salmão (GnRH3A e GnRH3B), *clock*, *Period 1* e AANAT-I e AANAT-II (*Arylalkaline N-acetyltransferase I e II*). Esses genes foram sequenciados, e identificados polimorfismos em duas famílias de truta arco-íris, uma das quais foi detectado efeito dos QTLs para o peso a desova.

Segundo Martyniuk et al. (2003), a herdabilidade e as correlações genéticas entre características relacionadas ao crescimento de duas linhagens cultivadas (*Rainbow Springs* e *Spring Valley*) de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foram calculados usando métodos de probabilidade de máxima verossimilhança com uma genealogia de três-gerações. A herdabilidade foi alta para massa corporal e moderada para idade a maturidade sexual em machos. Isso indica que, aqueles indivíduos que cresceram mais rápido foram provavelmente os que apresentaram maturidade aos 2 anos de idade, em relação aos indivíduos que cresceram mais lento nas duas linhagens investigadas. Três sugestivos QTLs para precocidade foram encontrados para massa corporal em *Rainbow Springs*, enquanto nenhuma associação foi evidenciada para *Spring Valley*. Os resultados sugerem que essas regiões podem apresentar um papel importante para a correlação genética e fenotípica entre massa corporal e precocidade nestas espécies.

2.2.3 Características de produção

Em bovinos, suínos e aves, vários estudos localizaram QTLs que afetam características economicamente importantes, como produção de leite, depósito de gordura, peso de carcaça, coloração carne do peito (ROHRER; KEELE, 1998; RON et al., 1994; VAN KAAM et al., 1999; DI STASIO et al., 2003; CASAS et al., 2004), entre outras. Na aquicultura, no entanto, o número de estudos semelhantes são reduzidos, provavelmente como reflexo da pequena quantidade de programas de seleção que têm sido implementados, para poucas espécies. De fato, muitas das espécies exploradas economicamente na aquicultura comercial são ainda essencialmente selvagens (GJEDREM, 2000). Embora, os peixes possuam algumas vantagens, no tocante a populações para mapeamento, relacionadas com a prolificidade dos reprodutores, por outro lado, a dificuldade da marcação em idade precoce e a manutenção de registros de pedigrees contribuem para a menor frequência atual de estudos de QTLs em peixes.

O desenvolvimento de recursos genômicos na tilápia facilitou a busca por genes envolvidos em características fenotípicas de importância comercial. QTLs para a cor vermelha do corpo, o qual está relacionado com a cor da carne, foram identificados em um cruzamento *Oreochromis niloticus* e a híbrida *Oreochromis aureus* usando métodos categóricos e quantitativos. Para ambos os métodos, QTLs idênticos foram identificados. Uma diferente linhagem híbrida foi usada para a detecção de QTLs, por meio de métodos categóricos e quantitativos, que controlam a cor vermelha do corpo (HOWE; KOCHER, 2003). Também foram encontrados QTL relacionados a determinação do sexo, em que foram identificados dez marcadores microssatélites pertencentes a 8 grupos de ligação para o fenótipo sexo (LEE; PENMEN; KOCHER, 2003), e onze marcadores microssatélites em 3 grupos de ligação também relacionados a essa característica (LEE; HULATA; KOCHER, 2004).

A busca de ligações genéticas entre marcadores de DNA microssatélites e QTLs para tolerância ao frio e tamanho do peixe (peso corporal e comprimento padrão) em duas famílias F2 de tilápias híbridas interspecíficas (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis aureus*) foram os objetivos do trabalho de Cnaani et al. (2003). Em ambas as famílias, foram encontradas associações significativas para dois loci dentro do mesmo grupo de ligação. Os dois QTLs, um perto de UNH879 para tolerância fria, e outro perto de UNH130 para tamanho corporal, foram estimados estando 22 cM um em relação ao outro, sem interação entre as duas características. Um destes loci, o UNH879, também estava associado com a determinação do sexo.

QTLs para peso e comprimento corporal foram mapeados em dois grupos de ligação de uma família F1 de Barramundi (*Lates calcarifer*) (WANG et al., 2006), sendo confirmados posteriormente o QTL do segundo grupo de ligação em duas populações com diferentes grupos genéticos. Entretanto, os QTLs para peso e comprimento corporal mapeados nos grupos de ligação 3 e 23 foram detectados em apenas uma das famílias dos diferentes grupos genéticos analisados. Outro QTL para peso e comprimento corporal foi mapeado no grupo de ligação 10, somente em uma família, próximo aos genes do fator de crescimento semelhante a insulina 2 (*igf2*) e tirosina hidroxilase 1 (*th1*). A fixação de QTL e mar-

cadros adjacentes em algumas famílias com a influência de epistasia no QTL, ou a ruptura de QTL com efeitos maiores em diferentes famílias, são algumas das causas prováveis da observação de QTL família-específica observadas neste estudo de Wang et al. (2007).

Dois QTLs significantes para peso corporal estavam distribuídos em 2 grupos de ligação, e 4 QTLs significantes para índice de condição corporal estavam distribuídos em 4 grupos de ligação em 3 famílias de irmãos-completos em salmão (REID et al., 2005). QTLs para ambas as características estavam distribuídos em 5 grupos de ligação. Os maiores efeitos do QTL para peso corporal e fator de condição corporal explicaram 20,1 e 24,9% da variação da característica, respectivamente. Uma aparente conservação de mais fortes QTL para peso corporal foi observada. Um dos marcadores detectando o QTL para peso corporal foi localizado na região proximal ao gene do hormônio do crescimento (*gh*) (REID et al., 2005). Resultado semelhante também foi observado para efeitos de um QTL para peso mapeado próximo ao *gh* em trutas (MARTYNIUK et al., 2003).

QTLs para peso corporal parecem estar distribuídos em diferentes grupos de ligação. No trabalho de O'Malley et al. (2003), em trutas, foram encontrados QTLs em 7 grupos de ligação, e em *Asian seabass* (WANG et al., 2006) foram encontrados em 5 grupos de ligação. A proporção da variação explicada do peso corporal pelos QTLs nestes 5 grupos de ligação variou de 6,4% a 28%. Moghadam et al. (2007), estudando *Salvelinus alpinus*, encontraram um QTL explicando 34% da variação fenotípica do peso corporal.

Embora tenham sido encontradas diferenças genéticas para ganho de peso, conversão alimentar e densidade de estocagem entre linhagens de tilápias criadas no Brasil (BOSCOLO et al., 2001; WAGNER, 2002), não há, até o momento, estudos de QTLs para esses caracteres no Brasil. Novamente, a deficiência de um programa de melhoramento genético para esta espécie, e mesmo espécies nativas do Brasil, pode ser apontada como a causa da inexistência de estudos de mapeamento. Entretanto, essa não é uma condição estritamente essencial para que estudos de QTL, pois populações para mapeamento utilizando cruzamentos para trilhar a segregação dos genes e marcadores, podem ser estabelecidas.

2.3 Seleção assistida por marcadores (SAM)

Para que um programa de melhoramento seja desenvolvido com sucesso são necessários alguns pré-requisitos, como, por exemplo, conhecer o sistema de acasalamento das espécies a serem melhoradas, assim como a estrutura genética das populações; detectar a existência ou não de variabilidade genética no germoplasma disponível, com relação às características de interesse; conhecer a ação gênica destas características, entre outros fatores.

À medida que os projetos de sequenciamento dos genomas avançam, mais loci marcadores são disponibilizados, e, conseqüentemente, um estudo mais amplo destes marcadores na busca de ligação com loci de interesse pode ser realizada. O estabelecimento dessa relação permite identificar animais com a característica desejada ainda jovem, facilitando a tomada de decisão quanto ao manejo adequado, e também obter um maior progresso genético pela redução do

intervalo entre gerações.

Uma vez detectados os marcadores ligados a uma determinada característica de interesse, é possível selecionar os indivíduos com base no "fenótipo" do marcador, sem que haja a necessidade de avaliar o fenótipo da característica. Essa abordagem é conhecida como seleção assistida por marcadores (SAM) (SOUZA, 2001).

A SAM consiste de dois passos principais: identificação de associações entre locus marcadores e QTLs e o uso destas associações para o desenvolvimento de populações melhoradas (DUDLEY, 1993). Entretanto, a SAM deve ser encarada como uma ferramenta auxiliar e não substitutiva dos métodos tradicionais de melhoramento (LANDE; THOMPSON, 1990).

Koning e Weller (1994) destacaram que o uso da SAM estava restrito àquelas culturas ou animais de grande interesse econômico, e que possuíam grande quantidade de informação em termos genômicos, com marcadores genéticos segregantes conhecidos. Sua utilização pode auxiliar o progresso genético de um programa de melhoramento (1) aumentando a intensidade de seleção, (2) reduzindo o intervalo de gerações, (3) aumentando a eficiência de avaliação, e (4) direcionando os cruzamentos complementares entre os indivíduos (WELLER; FERNANDO, 1991).

Na aquicultura, no entanto, programas de seleção têm sido implementados apenas em poucas espécies. Muitas das espécies exploradas economicamente são ainda essencialmente selvagens (GJEDREM, 2000).

A aplicação de um regime de seleção organizado e intensivo a qualquer espécie cultivável de peixe pode produzir maiores ganhos que os obtidos na piscicultura tradicional (JACKSON; MARTIN-ROBICHAUD; REITH, 2003). Tal regime de seleção deverá incorporar instrumentos de SAM, verificando correlações entre a ocorrência de bandas específicas com uma manifestação fenotípica de interesse. Esta ferramenta é particularmente útil quando a característica desejada é do tipo contínuo ou quantitativo (QTL), e dependente de mais de um gene ou bloco de genes. Os reprodutores podem ser precocemente selecionados pela presença da(s) banda(s) ligada(s) aos QTLs, independentemente de sua manifestação fenotípica, em programas de melhoramento genético (MOORE, 1999).

Na SAM procura-se aumentar a frequência gênica de marcadores que estejam ligados a genes ou bloco de genes responsáveis por características de interesse, utilizando-se da seleção de indivíduos portadores destes alelos. Por outro lado, também é possível tentar eliminar indivíduos portadores de marcadores moleculares ligados a características patológicas e/ou indesejáveis por qualquer motivo.

A utilização de marcadores moleculares na análise de QTL e na seleção assistida deve ser vista com algumas ressalvas, apesar de alguns resultados serem bastante promissores. Isto decorre do fato que, o assinalamento do QTL é uma aproximação, pois marcadores espaçados entre 10-20 cM seriam a exigência mínima para mapear um QTL em uma análise preliminar usando varredura genômica (BECKMANN; SOLLER, 1988). Isso pode ser resultante da perda de associação entre o marcador e a característica durante o processo de melhoramento, ou que características negativas podem estar ligadas fortemente ao QTL e não serão separadas na seleção (PELEMAN et al., 2005). Porém, mesmo dentro

de uma região menor do que 10 cM pode haver múltiplos QTLs afetando uma determinada característica (LEE; VAN DER WERF, 2006). Isso pode ser constatado no trabalho de Wang et al. (2006), na qual foram identificados QTLs controlando mais de uma característica. Esses autores não puderam identificar se era um efeito pleiotrópico do QTL, o qual estava afetando mais de uma característica, ou se eram dois QTL próximos, cada um afetando uma característica. Entretanto, segundo Lund et al. (2003) a metodologia de desequilíbrio de ligação e análise de ligação permitiria distinguir um modelo postulando um efeito pleiotrópico dos QTLs.

Estudos posteriores, visando à identificação dos principais genes influenciando QTLs e o ambiente específico onde estes são expressos, são necessários. No caso de cruzamentos amplos, a genotipagem de cada indivíduo da progênie com marcadores moleculares é extremamente útil na identificação dos fragmentos genômicos provenientes de espécies não adaptadas, as quais podem ter sido incorporados no genoma de uma linhagem superior, com o propósito de selecionar os indivíduos que possuam alelos que aumentem o valor fenotípico de uma característica.

3. Considerações Finais

É possível verificar, por meio dos diversos trabalhos consultados, que a contribuição do mapeamento de QTLs ao melhoramento genético de peixes ainda esteja por ser alcançada. A aplicação da biologia molecular para esses fins depende do desenvolvimento de quatro áreas distintas: da genética molecular, da detecção de QTLs, da avaliação genética e da seleção assistida por marcadores. O sucesso da implementação de estratégias para a seleção assistida por marcadores (seleção baseada em marcadores ligados a QTLs) é dependente da ação conjunta dessas áreas. A associação entre marcadores moleculares e caracteres quantitativos (QTL) foi detectada em uma série de pesquisas já realizadas, porém, é preciso refletir sobre aqueles que apresentam baixas herdabilidades. A construção de mapas genéticos da espécie candidata ao melhoramento, nos ambientes de interesse, com alto nível de saturação de marcadores, deve ser, portanto, a primeira meta de programas de melhoramento que pretendam utilizar marcadores moleculares na seleção. Embora, o número de genes ou marcadores disponíveis seja reduzido em muitas espécies utilizadas na aquicultura, esses podem crescer a partir das informações de genes clonados e seqüenciados em outras espécies, mesmo se tratando de espécies não utilizadas na aquicultura, como é o caso do *zebrafish*, o qual já possui o seu genoma seqüenciado.

4. Referências

ANDERSSON, L.; GEORGES, M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 5, n. 3, p. 202-212, mar. 2004.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nonstress environments. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1296-1308, set./out. 1998.

BALL, R. D. Quantifying evidence for candidate gene poly-

morphisms: Bayesian analysis combining sequence-specific and quantitative trait loci collocation information. **Genetics**, Baltimore, v. 177, n. 4, p. 2399-2416, dez. 2007.

BECKMANN, J. S. et al. Detection of linkage between marker loci and loci affecting quantitative traits in crosses between segregating populations. **Theoretical Applied Genetics**, Stuttgart, v. 76, n. 2, p. 228-236, ago. 1988.

BERRILL, I. K. et al. Photoperiodic effects on precocious maturation, growth and smoltification in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v. 222, n. 1-4, p. 239-252, maio, 2003.

BOGDAN, M.; GHOSH, J. K.; DOE, W. Modifying the Schwarz Bayesian Information Criterion to Locate Multiple Interacting Quantitative Trait Loci. **Genetics**, Baltimore, v. 167, n. 2, p. 989-999, mar. 2004.

BOSCOLO, W. R. et al. Farinhas de peixe, carne e ossos, vísceras e crisálida como atráctantes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 1397-1402, maio, 2001.

BOUCHARD, D. et al. First report of infectious salmon anemia (ISA) in the United States. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**. Saskatoon, v. 21, p. 86-88, out. 2001.

BROMAGE, N.; PORTER, M.; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197, n. 1-4, p. 63-98, jun. 2001.

CAMP, N. J. COX, A. Quantitative Trait Loci: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) (Hardcover). Totowa, NJ. **Humana Press**, New Jersey, v. 195, p. 1-376, dez. 2002.

CAMPOS-MENDOZA, A. et al. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 231, n. 1-4, p. 299-314, jan. 2004.

CASAS, E. et al. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. **Journal of Animal Science**, Storrs, v. 81, n. 12, p. 2976-2783, ago. 2004.

CNAANI, A. et al. Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F2 tilapia hybrid. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 223, n. 1-4, p. 117-128, abr. 2003.

CNAANI, A. et al. Genome-scan analysis for quantitative trait loci in an F(2) tilapia hybrid. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 272, n. 2, p. 162-172, set. 2004.

DEKKERS, J. C. M.; HOSPITAL, F. Multifactoral genetics:

The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 3, n. 1, p. 22-32, jan. 2002.

DI STASIO, L. et al. *GHI* as candidate gene for variability of meat production traits in Piemontese cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 120, n. 5, p. 358-361, out. 2003.

DUDLEY, J. W. Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 660-668, ago. 1993.

EDWARDS, M. D.; STUBER, C. W.; WENDEL, J. F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution, and types of gene action. **Genetics**, Baltimore, v. 116, n. 1, p. 113-125, jan. 1987.

EDWARDS, M. D.; PAGE, N. J. Evaluation of marker-assisted selection through computer simulation. **Theoretical and Applied Genetics**, Stuttgart, v. 88, n. 3-4, p. 376-82, jun. 1994.

EKNATH, A. E. Managing aquatic genetic resources. Management example 4: The Nile tilapia. In: THORPE, J. et al. (Ed.). Conservation of fish and shellfish resources: managing diversity. **Academic Press**, London: Harcourt Brace Company, 1995. p. 176-194.

EVENSEN, O.; THORUD, K. E.; OLSEN, Y. A. A morphological study of the gross and light microscopic lesions of infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Research in Veterinary Science**, Saskatoon, v. 51, n. 2, p. 215-222, set. 1991.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Harlow, UK: Longman, 1995. 480 p.

FALK, K. et al. Characterization of infectious salmon anaemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Journal of Virology**, Washington, v. 71, n. 12, p. 9016-9023, dez. 1997.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genética**. Brasília, 1995. 220 p.

GONÇALVES, T. M. et al. Detecção de locos de características quantitativas (QTL) afetando o crescimento e a carcaça de suínos: um enfoque Bayesiano com o uso de diferentes prioris. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 261-272, fev. 2008.

GJEDREM, T. Genetic improvement of cold-water fish species. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 25-33, jan. 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-tescross mapping strategy and RAPD markers. **Ge-**

netics, Baltimore, v.137, p. 1121-1137, ago. 1994.

GUIMARAES, S. E. F. Análise de marcadores genômicos e detecção de QTL e genes candidatos em melhoramento animal. In: PEREIRA, J. C. C. (Org.). **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 491-524, abr. 2004.

GUPTA, M.; ACOSTA, B. Networking in fish genetics research. p. 1-5. In M.V. Gupta and B. O. Acosta. fish Genetics Research in Member Countries and Institutions of the International Network on Genetics in Aquaculture. CLARM Conf. **Proceedings... ICLARM – the World Fish Center**, Penang, Malaysia, v. 64, p. 174, ago. 2001.

HOWE, A.; KOCHER, T. Comparative mapping of QTL for red body color in tilapia. In: Plant and Animal Genome XI Conference, Janeiro 2003, San Diego, CA. **Abstracts...** San Diego, janeiro 2003.

HUANG, N. et al. Association of quantitative trait loci for plant height with major dwarfing genes in rice. **Heredity**, London, v. 77, n. 2, p. 130-137, ago. 1996.

JACKSON, T. R. et al. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. **Heredity**, London, v. 80, n. 1, p.143-151, fev. 1998.

JACKSON, T. R.; MARTIN-ROBICHAUD, D. J.; REITH, M. E. Application of DNA markers to the management of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) broodstock. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 220, n. 1, p. 245-259, abr. 2003.

JANSEN, R. C. Interval mapping of multiple quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 135, n. 1, p. 205-211, set. 1993.

JANSEN, R. C. et al. Genotype-by-environment interaction in genetic mapping of multiple quantitative trait loci. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 91, n. 1, p. 33-37, jul. 1995.

JANSEN, J. **The identification of chromosomal regions influencing body weight, condition factor, and maturation timing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. In: Department of Integrative Biology. MSc Thesis, University of Guelph, Guelph, v. 277, n. 6, p. 647-661, jul. 2006.

KEARSEY, M. J.; HYNNE, V. QTL analysis: a simple 'marker regression' approach. **Theoretical Applied Genetics**, New York, v. 89, n. 6, p. 698-702, nov. 1994.

KNOTT, S. A.; HALEYT, C. S. Maximum Likelihood Mapping of Quantitative Trait Loci Using Full-Sib Families. **Genetics**, Baltimore, v. 132, n. 4, p. 1211-1222, dez. 1992.

KONING, G. J.; WELLER, J. I. Efficiency of direct selection on quantitative trait loci for a two-trait breeding objective. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 88, n.

- 6-7, p. 669-677, ago. 1994.
- LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, Baltimore, v. 124, n. 3, p. 743-756, mar. 1990.
- LEDER, E. H.; DANZMANN, R. G.; FERGUSON, M. M. The candidate gene, clock, localizes to a strong spawning time quantitative trait locus region in rainbow trout. **Journal of Heredity**, London, v. 97, n. 1, p. 74-80, jan. 2006.
- LEE, B.-Y.; PENMAN, D. J.; KOCHER, T. D. Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. **Animal Genetics**, Midlothian v. 34, n. 5, p. 379-383, set. 2003.
- LEE, B.-Y.; HULATA, G.; KOCHER, T. D. Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*). **Heredity**, London, v. 92, n. 6, p. 543-549, abr. 2004.
- LEE, S. H.; VAN DER WERF, J. H. J. Simultaneous fine mapping of multiple closely linked quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage with a general pedigree. **Genetics**, Baltimore, v. 173, n. 4, p. 2329-2337, ago. 2006.
- LUND, M. S. et al. Multitrait fine mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibria and linkage analysis. **Genetics**, Baltimore, v. 163, n. 1, p. 405-410, jan. 2003
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1998. 980 p.
- MARTINEZ, V. et al. An application of Bayesian QTL mapping to early development in Double haploid lines of rainbow trout environmental effects. **Genetics Research**, New York, v. 86, n. 1, p. 209-221, set. 2005.
- MARTYNIUK, C. J. et al. The genetic architecture of correlations among growth related traits and male age at maturation in rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, Dumfries, v. 63, n. 3, p. 746-764, set. 2003.
- MOEN, T. et al. A Multistage Testing Strategy for Detection of Quantitative Trait Loci Affecting Disease Resistance in Atlantic Salmon. **Genetics**, Baltimore, v. 167, n. 2, p. 851-858, jun. 2004.
- MOGHADAM, H. K. et al. Quantitative trait loci for body weight, condition factor and age at sexual maturation in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): comparative analysis with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 277, n. 6, p. 647-661, ago. 2007.
- MONTGOMERY, G. W. Genome mapping in ruminants and map locations for genes influencing reproduction. **Reviews of Reproduction**, Southampton v. 5, n. 1, p. 25-37, jan. 2000.
- MOORE, S. S. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 173, n. 1-4, p. 19-32, mar. 1999.
- MULLINS, J. E.; GROMAN, D.; WADOWSKA, D. Infectious salmon anemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick, Canada. **Bulletin of the European Association of Fish Pathologists**. v. 18, n.1, p. 110-114, abr. 1998.
- NEIMANN-SORENSEN, A.; ROBERTSON, A. The association between blood groups and several production characteristics in three Danish cattle breeds. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 11, n. 11, p. 163-196, jun. 1961.
- NICHOLS, K. M.; WHEELER, P. A.; THORGAARD, G. H. Quantitative trait loci analyses for meristic traits in *Oncorhynchus mykiss*. **Environmental Biology of Fishes**, Corvallis, v. 69, n. 1-4, p. 317-331, mar. 2004.
- NORBERG, B. et al. Effects of photoperiod on sexual maturation and somatic growth in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Comparative Biochemistry e Physiology B Biochemistry e Molecular Biology**, Vancouver, v. 129, n. 2, p. 357-365, jun. 2001.
- O'MALLEY, K. G. et al. Quantitative trait Loci for spawning date and body weight in rainbow trout: testing for conserved effects across ancestrally duplicated chromosomes. **Journal of Heredity**, Cary, v. 94, n. 4, p. 273-284, nov. 2003.
- OLIVEIRA, C. **Clonagem e caracterização molecular de DNA's repetitivos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e sua localização em cromossomos metafásicos pela aplicação da técnica de hibridação *in situ* com sondas fluorescentes**. 1999. 112 f. Tese (Livre-Docência) - Instituto de Biociências de Botucatu - Universidade estadual Paulista, Botucatu, 1999.
- OZAKI, A. T.; SAKAMOTO, S.; KHOO, K. Quantitative trait loci (QTL) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 265, n. 1, p. 23-31, mar. 2001.
- PALTI, Y.; PARSONS, J. E.; THORGAARD, G. H. Identification of candidate DNA markers associated with IHN virus resistance in backcrosses of rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) and cutthroat trout (*O. clarki*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 173, n. 1-4, p. 81-94, mar. 1999.
- PALTI, Y. et al. Association between DNA polymorphisms tightly linked to MHC class II genes and IHN virus resistance in backcrosses of rainbow and cutthroat trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 194, n. 3-4, p. 283-289, mar. 2001.
- _____. Detection of genes with deleterious alleles in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*). **Aquaculture**, v. 206, n. 3-4, p. 151-164, abr. 2002.
- PATERSON, A. H.; TANKSLEY, S. D.; SORRELLS, M.

- E. DNA markers in plant improvement. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 46, p. 39-89, nov. 1991.
- PATERSON, A. H. Of blending, beans, and bristles: the foundations of QTL mapping. In: _____. **Molecular dissection of complex traits**. New York: CRC Press, p. 1-10, out. 1998.
- PELEMAN, J. D. et al. QTL Isogenic Recombinant (QIR) Analysis: a Method for High-Resolution Mapping of Quantitative Trait Loci within a Single Population. **Genetics**, Baltimore, v. 171, n. 3, p. 1341-1352, ago. 2005.
- REID, D. P. et al. QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparative analysis with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). **Heredity**, London, v. 94, n. 2, p. 166-172, jan. 2005.
- RODRIGUEZ, L.; ZANUY, S.; CARRILLOM. Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 196, n. 1-2, p. 159-175, maio, 2001.
- ROENNEBERG, T.; MERROW, M. The network of time: understanding the molecular circadian system. **Current Biology**, London v. 13, n. 5, p. 198-207, mar. 2003.
- ROHRER, G. A.; KEELE, G. Identification of quantitative trait loci affecting carcass composition in swine: I. Fat deposition traits. **Journal of Animal Science**, Storrs, v. 76, n. 9, p. 2247-2254, set. 1998.
- RON, M. et al. Mapping quantitative trait loci with DNA microsatellites in a commercial dairy cattle population. **Animal Genetics**, Midlothian, v. 25, n. 4, p. 259-264, ago. 1994.
- ROTHSCHILD, M. F.; SOLLER, M. Candidate gene analysis to detect genes controlling of economic importance in domestic livestock. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, 1., Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1999. p. 219-242.
- SAKAMOTO, T. et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. **Genetics**, Baltimore v. 155, n. 3, p. 1331-1345, jul. 2000.
- SATAGOPAN, J. M. et al. A Bayesian approach to detect quantitative trait loci using Markov chain Monte Carlo. **Genetics**, Baltimore, v. 144, n. 2, p. 805-816, out. 1996.
- SEN, S.; CHURCHILL, G. A. A Statistical framework for quantitative trait mapping, **Genetics**, Baltimore, v. 159, n.1, p. 371-387, set. 2001.
- 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**, Amsterdam, v. 204, n. 3-4, p. 271-281, fev. 2002.
- SHIRAK, A. et al. Association between loci with deleterious alleles and distorted sex ratio in an inbred line of tilapia (*Oreochromis aureus*). **Journal of Heredity**, Cary, v. 93, n. 4, p. 270-276, ago. 2002.
- SLATE, J. Quantitative traits loci mapping in natural populations: progress, caveats and future directions. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 14, n. 2, p. 369-379, fev. 2005.
- SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L.L. et AL. (Ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 939-965, set. 2001.
- SUNDIN, K. et al. Genetic analysis of a development rate QTL in backcrosses of clonal rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 247, n. 1-4, p. 75-83, jun 2005.
- TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 27, n. 1, p. 205-233, dez. 1993.
- THODAY, J. M. Location of polygenes. **Nature**, London, v. 191, n. 1, p. 368-370, jul. 1961.
- THORUD, K.; DJUPVIK, H. O. Infectious anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Bulletin Of the European Association of Fish Pathologists**, v. 8, p. 109-111, 1988.
- THORUD, K. **Infectious salmon anaemia: transmission trial, haematological, clinical, chemical and morphological investigations**. 1991. 120 f. Tese (Faculdade de Medicina Veterinária) - Oslo, Norway, 1991.
- UIMARI, P.; HOESCHELE, I. Mapping linked quantitative trait loci using Bayesian analysis and Markov chain Monte Carlo algorithms. **Genetics**, Baltimore, v. 146, n. 2, p. 735-743, jun. 1997.
- VAN KAAM, J. B. et al. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. **Poultry Science**, Savoy, v. 78, n. 2, p. 1091-1099, mar. 1999.
- WAGNER, P. M. **Avaliação de linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) em diferentes fases de criação**. 2002. 98 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- WANG, H. et al. Bayesian Shrinkage Estimation of Quantitative Trait Loci Parameters. **Genetics**, Baltimore, v. 170, n. 1, p. 465-480, maio, 2005.
- WANG, C. M. et al. A genome scan for quantitative trait loci affecting growth-related traits in an F1 family of Asian seabass (*Lates calcarifer*) **BMC Genomics**, Washington, v. 7, p. 1-13, out. 2006.
- WANG, S. et al. Genetic variation and population structure in native Americans. **PLoS Genetics**, Baltimore, v. 3, n. 11, nov. 2007.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis II**: methods for discrete population genetic data. Sunderland : Sinauer Associates. v. 2, p. 445, jan. 1996.

WELLER, J. I.; FERNANDO, R. L. **Strategies for the improvement of animal production using marker-assisted selection**. In: Schook LB, jun. 1991.

WILLIAM, D. B. QTL analysis: power, precision and accuracy. In: PATERSON, A. H. Molecular dissection of complex traits. **CRC Press**, New York, p. 145-162, set. 1998.

WORAM, R. A. et al. A genetic linkage map for Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents. **Genome**, Ottawa, v. 47, n. 2, p. 304-315, abr. 2004.

XU, S. Theoretical basis of the Beavis effect. **Genetics**, Baltimore, v. 165, n. 4, p. 2259-2268, dez. 2003.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, abr. 1994.

ZHANG, W.; SMITH, C. Computer simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 83, n. 6-7, p. 813-820, abr. 1992.

Recebido em: 21/11/2008

Aceito em: 05/05/2010