

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/09/2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



“Júlio de Mesquita Filho”

Centro de Aquicultura da Unesp- CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Estudo de associação genômica ampla e estimativas
de parâmetros genéticos para resistência
ao *Ichthyophthirius multifiliis* em tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

LIESCHEN VALERIA GUERRA LIRA

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP - CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Estudo de associação genômica ampla e estimativas
de parâmetros genéticos para resistência ao
Ichthyophthirius multifiliis em tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

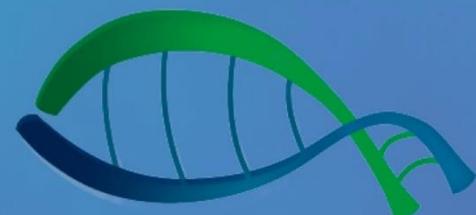
LIESCHEN VALERIA GUERRA LIRA

Orientador: Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2021



L768e Lira, Lieschen Valeria Guerra
Estudo de associação genômica ampla e estimativas de parâmetros genéticos para resistência ao *Ichthyophthirius multifiliis* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Lieschen Valeria Guerra Lira. -- Jaboticabal, 2021
ix, 104 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2021

Orientador: Diogo Teruo Hashimoto

Banca examinadora: Gustavo Valladão, Rafael Vilhena Reis, Ricardo Utsunomia, Vanina Villanova

Bibliografia

1. Melhoramento genético. 2. *Colossoma macropomum*. 3. *Ichthyophthirius multifiliis*. 4. Genética quantitativa. 5. GWAS. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3:636.082

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Estudo de associação genômica ampla e estimativas de parâmetros genéticos para resistência ao *Ichthyophthirius multifiliis* em tambaqui (*Colossoma macropomum*)

AUTORA: LIESCHEN VALERIA GUERRA LIRA

ORIENTADOR: DIOGO TERUO HASHIMOTO

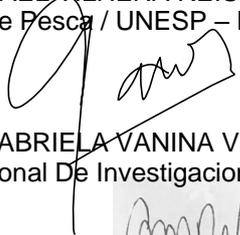
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



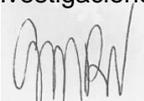
Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO (Participação Virtual)
Centro de Aqüicultura (CAUNESP) / FCAV / UNESP – Jaboticabal



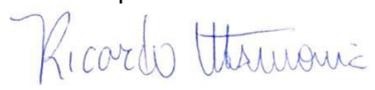
Prof. Dr. RAFAEL VILHENA REIS NETO (Participação Virtual)
Engenharia de Pesca / UNESP – Registro/SP



Profa. Dra. GABRIELA VANINA VILLANOVA (Participação Virtual)
Consejo Nacional De Investigaciones Científicas Y Técnicas, CONICET, Argentina



Prof. Dr. GUSTAVO MORAES RAMOS VALLADÃO (Participação Virtual)
Departamento de Aqüicultura / Universidade Nilton Lins, Manaus-AM



Prof. Dr. RICARDO UTSUNOMIA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica-RJ

Jaboticabal, 30 de março de 2021.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 10 |
| Aspectos gerais..... | 11 |
| Caracterização da espécie <i>Colossoma macropomum</i> | 13 |
| Caracterização do parasita <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> | 16 |
| Genética quantitativa na aquicultura - Foco na resistência a doença..... | 20 |
| Aplicação da genômica na aquicultura - Foco na resistência a doença | 22 |
| Objetivos | 24 |
| REFERÊNCIAS..... | 25 |
| CAPITULO 1 | 42 |
| QUANTITATIVE GENETIC VARIATION FOR RESISTANCE TO THE PARASITE <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> IN THE NEOTROPICAL FISH TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) | 42 |
| ABSTRACT | 43 |
| 1.1 Introduction..... | 44 |
| 1.2 Materials and methods | 46 |
| 1.2.1 Ethics Statement..... | 46 |
| 1.2.2 Experimental population | 47 |
| 1.2.3 Cohabitation challenge | 48 |
| 1.2.4 Analysis of genetic parameters | 49 |
| 1.3 Results..... | 51 |
| 1.4 Discussion | 53 |
| 1.4.1 Challenge test..... | 53 |
| 1.4.2 Genetic parameters | 55 |
| 1.5 Acknowledgments | 58 |
| 1.6 References | 59 |
| Tables..... | 70 |
| Figure captions..... | 72 |
| CAPÍTULO 2 | 74 |
| Genome-wide association study of host resistance to the ectoparasite <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> in tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) | 74 |
| ABSTRACT | 75 |
| 2.1 Introduction..... | 76 |
| 2.2 Material and methods | 78 |
| 2.2.1 Ethics Statement..... | 78 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 2.2.2 | Experimental population (fish families) | 78 |
| 2.2.3 | Parasite challenge | 78 |
| 2.2.4 | ddADseq library preparation, DNA extraction and sequencing | 78 |
| 2.2.5 | SNPs identification | 81 |
| 2.2.6 | Analyzes of genetic parameters and construction of GWAS | 82 |
| 2.3 | Results | 83 |
| 2.3.1 | ddRAD sequencing | 83 |
| 2.3.2 | SNPs identification and filtering | 84 |
| 2.3.3 | Genome-wide association analysis and candidate genes | 84 |
| 2.4 | Discussion | 85 |
| 2.5 | References | 89 |
| | Tables | 101 |
| | Figure caption | 103 |
| | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 104 |

Dedicatória

A meus pais Jorge Guerra e Mary Lira. A minhas irmãs Lissney, Sayuri e Jeyli. A minhas avós Alfonsa e Arlinda (In memoriam). A todas as pessoas que estão lutando pelos seus sonhos.

Agradecimentos

A Deus por me guiar e dar forças nesta longa caminhada.

A meus pais por terem acreditado nos meus sonhos e terem me apoiado incondicionalmente apesar distância. Serei eternamente grata a vocês pela pessoa e profissional que sou agora.

Ao meu orientador Diogo Teruo Hashimoto por ter me dado a oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, pelo incentivo à superação de desafios e pelas palavras de alento nos momentos de desespero.

Aos meus colegas do LaGeAC: Natalia, Vito, Raquel, Milena, Carol, John e Rubens pela ajuda na realização do experimento e pelas trocas de conhecimentos.

Aos os amigos/irmãos que conheci em Jaboticabal e que fizeram da minha estadia em Jabuka menos solitária: Eluzai, Alex, Carlos, Jefferson, Mar, Jesa, Yuli, David. Levarei vocês sempre no meu coração

À Família Senigalha por ter me dado abrigo nas primeiras etapas do doutorado, sem essa ajuda talvez este sonho não tivesse se concretizado! Serei eternamente grata por esse gesto.

À minha amiga Barbara e meu amigo Pedro por terem sido meu porto seguro e pelo suporte emocional desde o momento que nos conhecemos. Vocês fizeram diferença na minha vida mais ainda nos momentos de pandemia! Gratidão família!

Ao Sandro, meu companheiro, quem tem me dado suporte emocional durante a última etapa do doutorado, pelo ombro amigo e o abraço apertado nos momentos difíceis.

Ao Valdecir e Marcio pela disposição a ajudar em todos os experimentos.

Ao David Lorente pela paciência e disponibilidade de nos ajudar com os assuntos da pós-graduação.

Para finalizar, sou grata a todas as pessoas maravilhosas que conheci em Jaboticabal. Aqueles que passam por nós não vão sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós (Antoine de Saint-Exupery).

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (bolsa CNPq 311559 / 2018-2 e 422670 / 2018-9), e o Projeto de Internacionalização da Universidade do Chile (UCH-1566).

RESUMO

O Tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a principal espécie nativa produzida na América latina, contudo sua produção é afetada pela infestação do parasita *Ichthyophthirius multifiliis*, o que causa surtos de mortalidade resultando em importantes perdas econômicas. Os tratamentos atuais têm sido ineficazes para o controle desta doença e muitas vezes resultam poluentes para o meio ambiente. Diante desta perspectiva, a seleção genética para resistência ao *I. multifiliis* é uma proposta sustentável, pois resultaria numa prática com menor contaminação ao meio ambiente e muito mais eficiente a longo prazo na produção do tambaqui. O objetivo do presente trabalho foi estimar parâmetros genéticos da resistência ao *I. multifiliis*, além da integração de análises genômicas para a genotipagem de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) correlacionados com esta característica. Para isto, foram formadas 8 famílias de tambaqui, as quais foram desafiadas por um experimento de coabitação com o parasita *I. multifiliis*. As variáveis analisadas foram a sobrevivência (SS), o tempo de morte (TD) e a carga parasitária (PL). Obteve-se variação fenotípica significativa entre as famílias para o SS (16 a 100%) e o TD (217 a 254 horas pós coabitação). Além do mais, foram estimados altos valores de herdabilidade para SS e TD ($0,46 \pm 0,09$ e $0,60 \pm 0,18$, respectivamente). No entanto, não tivemos valores significativos para PL. Após várias etapas de filtragem, a genotipagem do SNP por dupla digestão do DNA associado ao sítio de restrição (ddRAD-seq) revelou um total de 7.717 SNPs em 119 indivíduos, que foram usados para GWAS pelo GBLUP de etapa única (ssGBLUP) e método de Bonferroni. As análises genômicas resultaram em quatro SNPs sugestivos detectados (três para TD e um para PL) em quatro grupos de ligação (2, 9, 11 e 20) que cruzaram o limiar de Bonferroni em todo o cromossomo.

Esses SNPs foram aplicados para mapear QTLs, encontrando 11 genes candidatos (*abcf3*, *znf830*, *ccr9*, *gli3*, *ackr4*, *tbata*, *ndr2*, *tgfbr3*, *nhej1*, *znf644b*, *cldn10a*) que provavelmente estão envolvidos na resistência à infestação por *I. multifiliis*. Os resultados apresentados neste estudo sugerem que a resistência a *I. multifiliis* em tabaqui pode ser melhorada através de programas de melhoramento genético e esta característica é considerada poligênica com várias regiões genômicas de menor efeito afetando a variância genética total.

ABSTRACT

Tambaqui (*Colossoma macropomum*) is the principal native species produced in Latin America, however, its production is affected by the infestation of the parasite *Ichthyophthirius multifiliis*, which causes outbreaks of mortality that result in significant economic losses. Current treatments have been ineffective in controlling this disease and often result in pollutants for the environment. Due to this perspective, genetic selection for resistance to *I. multifiliis* is a sustainable approach and efficient in long term to the production of tambaqui, as it results in less damage to the environment. The aim of this investigation was: 1) to estimate the genetic parameters of resistance to *I. multifiliis* in tambaqui, by a controlled experimental challenge; 2) to analyze the genetic architecture of the resistance to *I. multifiliis* in tambaqui, by genome wide association study (GWAS) using single nucleotide polymorphisms (SNPs). Eight full-sib families of tambaqui were experimentally analyzed by a cohabitation challenge with the parasite *I. multifiliis*. The resistant traits analyzed were survival status (SS), time of death (TD) and parasite load (PL). A significant phenotypic variation was obtained between the families for SS (16 to 100%) and TD (217 to 254 hours after cohabitation). High heritability values were estimated for SS and TD (0.46 ± 0.09 and 0.60 ± 0.18 , respectively). However, we did not have significant heritability values for PL. After several filtering steps, the SNP genotyping by double-digest restriction-site associated DNA (ddRAD-seq) revealed a total of 7.717 SNPs in 119 individuals, which were used for GWAS by the single-step GBLUP (ssGBLUP) and Bonferroni method. The genomics analyzes resulted in four suggestive SNPs detected (three for TD and one for PL) in four linkage groups (2, 9, 11 and 20) that crossed the chromosome-wide Bonferroni threshold. These SNPs were applied to map QTLs, finding 11 candidate genes

(*abcf3, znf830, ccr9, gli3, ackr4, tbata, ndr2, tgfbr3, nhej1, znf644b, cldn10a*) that are likely to be involved in resistance to infestation by *I. multifiliis*. The results presented in this study suggest that resistance to *I. multifiliis* in *tambaqui* can be improved through genetic improvement programs and this trait is considered polygenic with several genomic regions of minor effect affecting the total genetic variance.



INTRODUÇÃO GERAL



Aspectos gerais

Com o crescimento da população e a consciência pelo consumo de alimentos saudáveis, a demanda global de produtos derivados de pescado tem sido prioridade nas últimas décadas (Bacher, 2015; Thilsted *et al.*, 2016). Atualmente, os peixes constituem uma fonte essencial de alimentos nutritivos e fornecem aproximadamente 17% da proteína animal na dieta de grande parte da população mundial. O consumo mundial estimado de peixe continua aumentando, atingindo uma máxima histórica de 20,5 kg/capita/ano, em 2018 aproximadamente 87% da produção pesqueira mundial (156 milhões de toneladas) foi destinada para o consumo humano (FAO, 2020). Isto foi possível devido ao aumento da aquicultura com suprimento relativamente estável da pesca de captura.

Em 2018, o aporte da pesca continuou sendo maior que à aquicultura (54% e 46%, respectivamente), isto devido à captura de organismos marinhos (87,55%) (FAO, 2020). Contudo, este setor teve uma estagnação na produção, já que os ecossistemas aquáticos estão sendo fortemente afetados pela poluição e degradação ambiental, além da sobre-exploração dos recursos em níveis biologicamente insustentáveis. Nestas circunstâncias, para poder abastecer a demanda do mercado, a produção de alimentos aquáticos deixou de ser baseada principalmente na captura para focar-se na criação de um número crescente de espécies cultivadas (FAO, 2020). Em consequência, a aquicultura está sendo o setor produtor de proteína animal que mais cresce no mundo (Olesen *et al.*, 2011) e chegou a superar a produção de carne bovina em 2011 (Larsen e Roney, 2013).

A produção mundial da aquicultura atingiu 82,3 milhões de toneladas em 2018, sendo que 30,8 milhões de toneladas foram produtos da aquicultura marinha (37,5%) e 51,3 milhões de toneladas da aquicultura continental (62,5%). O principal produto da aquicultura continental são peixes, os quais representam 91,6% do total deste tipo de produção (47 milhões de toneladas) (FAO, 2020). Isto demonstra a importância significativa da criação e comercialização de peixes da aquicultura continental para a produção global (Thilsted *et al.*, 2016). A China lidera o ranking na piscicultura continental, com uma produção de 25,4 milhões de toneladas em 2018. Neste cenário, Brasil ocupou o oitavo lugar em nível mundial, com uma produção de 529,6 mil toneladas de peixes em 2019, observando-se um crescimento de 1,7% em relação ao ano anterior (IBGE, 2020).

O Brasil é o principal produtor de peixes continentais da América Latina (Valladão *et al.*, 2018; Saint-Paul, 2017); esta produção representa 67,5% do total da aquicultura nacional (IBGE, 2020). Isto devido a que possui mais de dois milhões de hectares de pântanos, reservatórios e estuários adequados para a aquicultura (Saint-Paul, 2017), ainda dispõe de uma rica biodiversidade de peixes, do qual aproximadamente 40 espécies nativas são utilizadas para aquicultura nacional (Godinho, 2007). O Brasil é, portanto, o único país latino-americano com uma parcela significativa de espécies nativas em sua indústria de aquicultura (Pincinato e Asche, 2016). Entretanto, a participação destas espécies nativas fica abaixo dos 40% (Saint-Paul, 2017; Sidra, 2020), sendo que a maioria dos cultivos são realizadas com espécies exóticas, destacando-se a tilápia (*Oreochromis sp.*), com 61.1 % da produção total nacional (IBGE, 2020).

A tilápia domina o mercado nacional porque possui pesquisas relacionadas à pacotes tecnológicos para melhorar sua produção, destacando-se as técnicas de

melhoramento genético como a principal ferramenta para cumprir este objetivo, garantindo assim o contínuo crescimento e a viabilidade de sua cadeia produtiva (Gjedrem *et al.*, 2012). Por exemplo, a tilápia GIFT (*Genetically Improved Farmed Tilapia*), vem ganhando cada vez mais espaço no mercado, pois após cinco gerações melhorou seu desempenho de crescimento em 88% (Bentsen *et al.*, 2017). Este panorama revela a necessidade de programas de melhoramento e inovação genética em espécies nativas do Brasil, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*) para que também possam suprir a demanda de pescado com qualidade.

Caracterização da espécie *Colossoma macropomum*

A espécie *C. macropomum* (Cuvier, 1818) (Figura 1), pertence à ordem Characiformes e a família Serrasalminidae, é um peixe conhecido popularmente como “tambaqui” (Brasil), “gamitana” (Perú), “cachama” ou “morocoto” (Venezuela) e “cachama negra” (Colombia) (Campos, 2015). É nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (Gomes *et al.*, 2010). Na natureza pode chegar a medir 1 m e pesar 30 kg (Goulding & Carvalho, 1982), portanto, é considerado o segundo maior peixe de escamas das águas continentais amazônicas (Gomes *et al.*, 2010). São onívoros com preferência frugívora (Gomes *et al.*, 2010). Os exemplares desta espécie caracterizam-se por apresentar corpo robusto com formato arredondado, dorso alto e região das costelas ampla. A maturidade sexual ocorre aos 3-4 anos, apresentam desova total, sendo caracterizado por um período de reprodução que atinge o seu ápice nos meses de outubro a janeiro, épocas de temperaturas mais altas e maior incidência de chuvas (Campos, 2015). É considerado um peixe reofílico, realiza migrações sazonais dos lagos de várzea para a alimentação e

reprodução (Godinho *et al.*, 2010). Devido a seu comportamento migratório, esta espécie pode formar uma população panmítica na bacia Amazônica (Santos *et al.*, 2007), por isso, as populações de tambaqui poderão ser afetadas negativamente pela instalação e construção de hidrelétricas na bacia Amazônica (Godinho *et al.*, 2010).



Figura 1. Imagem representativa da espécie *C. macropomum* (Tambaqui).

O tambaqui é um dos principais recursos explorados pela pesca extrativa na região Norte do Brasil, e os estoques desse peixe já são considerados sobre-explotados ou ameaçados de sobre-exploração e, em consequência foi proibido, anualmente, a pesca desta espécie desde outubro até março de acordo a Instrução Normativa do Ministério do Meio Ambiente (MMA, nº 05/2004 e MMA, nº35/2005, respectivamente). Assim, o cultivo e melhoramento desta espécie é uma alternativa

para suprir a demanda do mercado consumidor e uma estratégia para auxiliar na redução da pressão de pesca sobre as populações naturais.

O cultivo de tambaqui torna-se favorável, pois apresenta fácil aceitação às rações artificiais com pouco ou nenhum ingrediente de origem animal (Valladão *et al.*, 2018). Adicionalmente, apresenta alta rusticidade, crescimento rápido, alta produtividade e é bem apreciado na culinária local e internacional (Campos, 2015; Valladão *et al.*, 2018). Estas características zootécnicas fazem que esta espécie seja alvo na produção da América Latina, sendo cultivada em países como Bolívia, Brasil, Colômbia, Peru, Equador e Venezuela (Campos, 2015; Valladão *et al.*, 2018). Ademais, estão começando a produção em outros países como República Dominicana, Guiana, Panamá e Suriname (Woynárovich e Van Anrooy, 2019)

Em termos de produção na aquicultura brasileira, nas últimas décadas, o tambaqui tornou-se a principal espécie nativa e a segunda espécie mais produzida em nível nacional (IBGE, 2020). Em 2019, a produção de tambaqui alcançou o valor de 101,1 mil toneladas, o que representou 19,1 % da produção total nacional (IBGE, 2020). A maior produção se concentra na região do norte e nordeste (Garcia *et al.*, 2008, IBGE, 2020), devido à temperatura ideal de cultivo: 25 a 30 °C (Zaniboni-Filho e Meurer, 1997). Já nas regiões do centro – oeste, sul e sudeste, onde as variações de temperatura durante as mudanças da estação são frequentes, o tambaqui é utilizado para cruzamentos com outras espécies de Serrasalminidae (*Piaractus mesopotamicus* e *Piaractus brachypomus*), resultando em híbridos interespecíficos (Hashimoto *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2018). Em 2019, os híbridos tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomus*) e tambacu (*C. macropomum* x *P. mesopotamicus*) tiveram uma produção de 40,1 mil toneladas, o que representou o segundo maior valor para peixes nativos brasileiros (Sidra,

2020). Portanto, o tambaqui e seus híbridos têm contribuído com 26,7% da produção da aquicultura nacional. No entanto, os híbridos interespecíficos podem ser férteis e causar sérios riscos biológicos para populações naturais e cultivadas (Hashimoto *et al.*, 2012).

A principal limitação para a produção de tambaqui no sul do Brasil é a baixa tolerância à oscilação de temperatura durante as mudanças de estação (Zaniboni-Filho e Meurer, 1997; Aguiar *et al.*, 2018), que geralmente resulta em surtos de doenças, como a doença dos pontos brancos causada pelo protozoário ciliado *Ichthyophthirius multifiliis* (Martins *et al.*, 2002; Matthews, 2005).

Caracterização do parasita *Ichthyophthirius multifiliis*

Ichthyophthirius multifiliis, popularmente chamado de “ictio” é um protozoário ciliado cosmopolita, que causa a parasitose chamada ictiofitiríase ou conhecida comumente como “doença dos pontos brancos” (Dickerson e Clark, 1998). O sinal clínico desta doença é caracterizado pela presença de pontos brancos ao longo do corpo (pele, nadadeiras, córnea, cabeça) e também nas brânquias dos peixes (Matthews, 2005; Francis-Floyd *et al.*, 2016) (Figura 2).

O ciclo de vida do *I. multifiliis* é composto por várias fases (Matthews, 2005; Francis-Floyd *et al.*, 2016; Zaila *et al.*, 2016). O teronte (forma infectante) é caracterizada por um protozoário de vida livre (30 x 50 µm) que inicia a infestação, pois penetra no tecido cutâneo e nas brânquias dos peixes. Após penetrar no hospedeiro, este torna-se um trofonte (forma parasitária) o qual se alimenta e desenvolve (800 a 1000 µm) nestes tecidos, causando os efeitos nocivos. O parasito maduro deixa o hospedeiro (Figura 2C) e se diferencia em tomonte (forma

reprodutiva assexuada), o qual irá secretar um cisto de proteção. Os tomontes encistados se mantêm na água ou se fixam em substratos, até que as condições ambientais sejam favoráveis, momento no qual ocorrem divisões dentro deles formando de 500 a 1000 células-filhas, chamadas de tomitos. Os tomitos, por sua vez, são liberados e irão se diferenciar em terontes infectantes, os quais nadarão em busca de um novo hospedeiro susceptível para completar um novo ciclo (Buchmann *et al.*, 2001; Ling *et al.*, 2010).

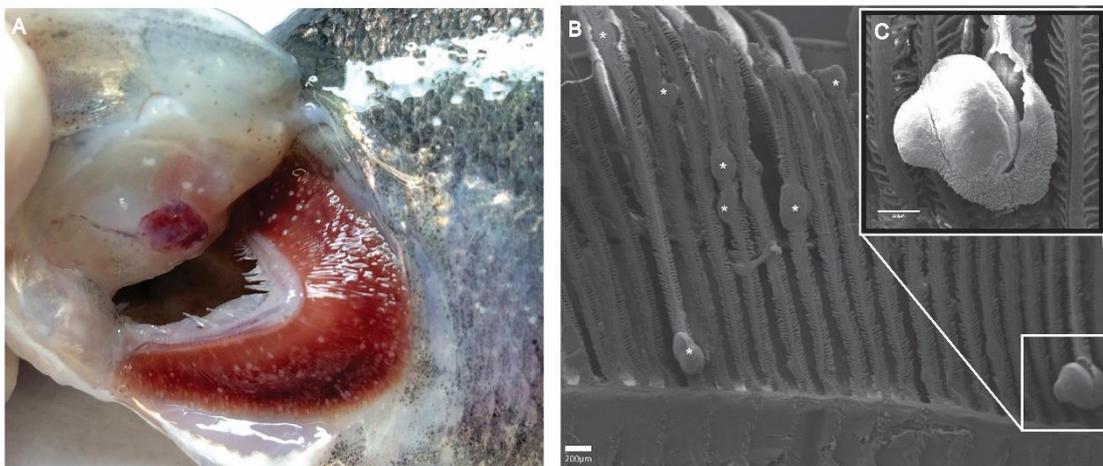
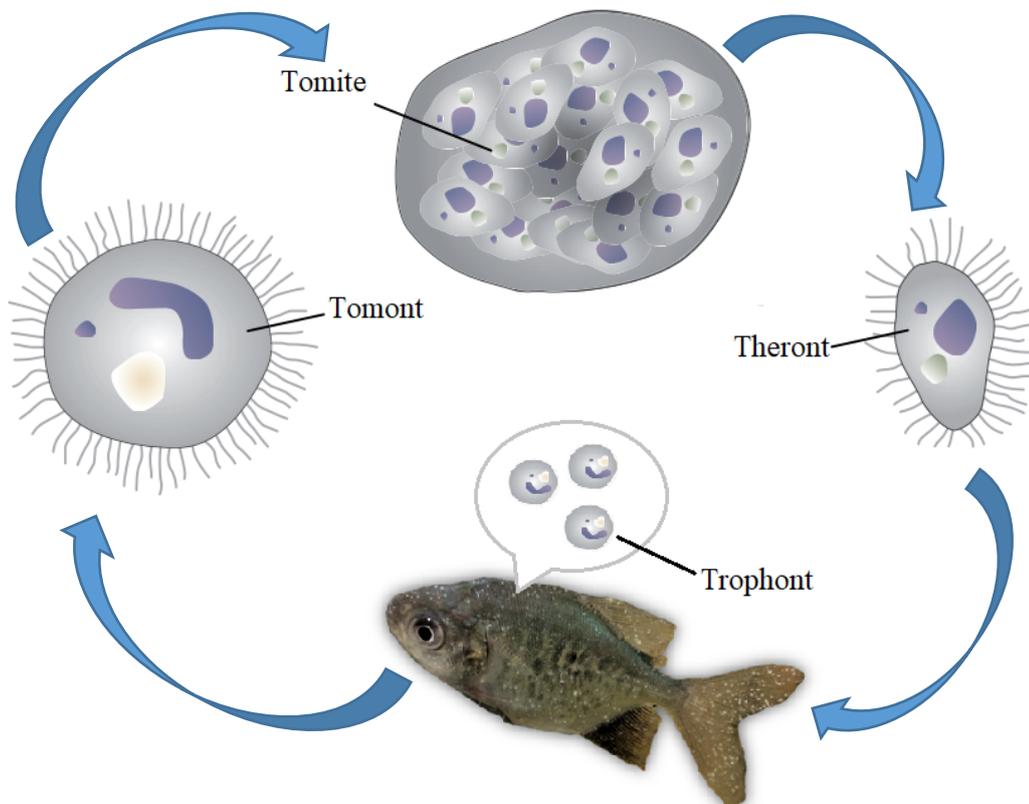


Figura 2. Branquias de peixes infectadas com o parasita *Ichthyophthirius multifiliis* (Pontos brancos) (A), Fotos em microscópio de varredura de brânquias infectadas com trofontes de *I. multifiliis* (*) (B), Trofante saindo do tecido epitelial das brânquias (C).

O ciclo do *I. multifiliis* é direto ou monoxênico, ou seja, não depende da presença de hospedeiro intermediário para seu desenvolvimento direto (Figura 3) (Matthews, 2005; Francis-Floyd *et al.*, 2016; Zaila *et al.*, 2016). Além disso, é dependente da temperatura da água, observando-se um melhor desenvolvimento das fases nas temperaturas que variam entre 17 e 25 °C (Aihua e Buchmann, 2001; Matthews, 2005). Por isso, em lugares com climas tropicais, surtos de ictio surgem

frente a queda brusca de temperatura (Matthews, 2005), o que ocasiona estresse nos peixes, assim este parasita oportunista aproveita esta baixa na imunidade para se instalar no hospedeiro.

Figura 3. O ciclo de vida do *Ichthyophthirius multifiliis*. Adaptado de Coyne *et al.* (2012).



I. multifiliis causa mortalidade na produção de peixes de água doce em nível mundial (Osman *et al.* 2009), dado que se multiplica rapidamente (Buchmann *et al.*, 2001), é altamente contagioso sendo transmitido por cohabitação (Xu, *et al.*, 2007; Valladão *et al.*, 2016) e não apresenta especificidade de hospedeiros, afetando espécies cultivadas e silvestres (Sigh *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2013; Zago *et al.*, 2014; Valladão *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2017).

Alguns dos principais tratamentos utilizados para combater este parasita são produtos químicos (Srivastava *et al.*, 2004; Farmer *et al.*, 2013) que estão sendo banidos pois causam efeitos indesejáveis no meio ambiente (Rico e Van den Brink, 2014). Na procura de alternativas mais sustentáveis (Olesen *et al.*, 2010) encontra-se medicamentos fitoterápicos (Valladão *et al.*, 2016), que mesmo dando um resultado positivo ainda não são viáveis por não ser rentáveis numa produção extensiva; também encontra-se o uso de antígenos (Wang *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2009b), vacinas com terontes vivos (Xu *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017) e vacinas com trofontes inativos (Xu *et al.*, 2009a), mas são técnicas que ainda não deram um resultado promissor, além do mais, não há provas que esta imunidade seja transmitida às próximas gerações aumentando o custo na produção em cada geração (Xiong *et al.*, 2017).

Portanto, não existem estratégias eficazes atualmente disponíveis para controlar e prevenir a infecção por *I. multifiliis* em longo prazo, o que mostra a necessidade da utilização de indivíduos geneticamente superiores que apresentem desempenho superior em condições ambientais específicas. Assim, a reprodução seletiva dirigida a doenças proporciona uma alternativa eficiente para controlar parasitismos em produções intensivas onde o estresse é inevitável e a transferência de patógenos é iminente (Gjedrem, 2012), sendo considerada uma das principais medidas preventivas que podem ser usadas para melhorar a sobrevivência a longo prazo (Gjedrem, 2000; Hulata, 2001). Isto é de suma importância para aprimorar as condições de bem-estar dos animais e, simultaneamente, aumentar a produtividade das pisciculturas e diminuir os custos de produção (Ødegård *et al.*, 2011; Olesen *et al.*, 2011; Vieira e Oliveira, 2015).

Genética quantitativa na aquicultura - Foco na resistência a doença

O rápido desenvolvimento da aquicultura implicou na intensificação da produção, muitas vezes desordenada e sem controle sanitário, o que acrescentou a ocorrência de doenças transmitidas por bactérias, vírus, fungos e parasitas (Gjedrem, 2015). Em consequência, geram-se prejuízos econômicos devido aos custos dos tratamentos, as medidas de controle da doença e a perda da produção (Elaswad e Dunham, 2018). Por tanto, o sucesso dos sistemas de produção aquícola depende, em grande parte, do controle das doenças infecciosas (Yáñez and Martínez, 2010). A redução na ocorrência e gravidade de doenças melhoraria a produtividade, lucratividade, eficiência e bem-estar dos peixes (Elaswad e Dunham, 2018). Assim, é importante a realização de pesquisas tecnológicas e utilização de novas ferramentas genéticas para superar os entraves e assegurar uma produção contínua e melhorada dos estoques.

Medicamentos e vacinas foram desenvolvidos para a prevenção e controle de doenças, no entanto, as mortalidades por doenças ainda é relativamente alta (Gjedrem, 2015). Além do mais, estes tratamentos são muitas vezes poluentes, caros e parcialmente eficazes, e o seu uso irrestrito pode gerar linhagens de patógenos resistentes (Houston, 2017). Frente a isto, os programas de melhoramento genético resultam como uma estratégia viável e potencialmente mais sustentável para o controle de surtos de doenças a longo prazo (Bishop e Woolliams, 2014), o que tem permitido melhorar a situação sanitária dos peixes.

Os investimentos em programas de melhoramento genético dirigidos à resistência a doenças bem planejados e gerenciados são únicos, pois fornecem

alguma medida de proteção para os estágios iniciais, especialmente os de alevinos (Gjedrem, 2015) mantendo uma alta taxa de sobrevivência (Ødegård *et al.*, 2011). Os ganhos genéticos obtidos nesses programas são cumulativas e permanentes (Bishop e Woolliams, 2014; Gjedrem *et al.*, 2012), posto que exploram a ocorrência natural da variação genética quantitativa para resistência a doenças (Yáñez and Martínez, 2010; Houston, 2017), a qual pode ser herdado pelas gerações futuras.

Nas últimas décadas foram realizados vários experimentos de desafio baseados em teste de sobrevivência a patógenos específicos para buscar estimativas confiáveis de seleção de famílias resistentes às doenças (Gjedrem, 2015). Os resultados dos testes de desafio são promissores e a herdabilidade da taxa de sobrevivência é geralmente alta (Gjedrem, 2000; Ødegård, *et al.*, 2011; Yáñez and Martínez, 2010; Yáñez *et al.*, 2014; Gjedrem e Rye, 2018). A maioria desses estudos abordam a resistência a bactérias e vírus (Barría *et al.*, 2018; Bassini *et al.*, 2019; Sukhavachana *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019; Ariede *et al.*, 2020; Jia *et al.*, 2020; Mastrochirico-Filho *et al.*, 2020). Em relação aos parasitas, o número de estudos é limitado e a maioria está dirigido a parasitas que afetam salmonídeos, como: *Caligus rogercresseyi* (Tsai *et al.*, 2016; Correa *et al.*, 2017; Robledo *et al.*, 2019) e *Neoparamoeba perurans* (Taylor *et al.*, 2009; Lillehammer *et al.*, 2019)

As herdabilidades para características de resistência (sobrevivência, tempo de morte e carga parasitária) de tais estudos tem variado de baixa a moderada. Estudos envolvendo desafios com *Neoparamoeba perurans* mostraram valores de herdabilidade variando entre 0,07 e 0,49 (Taylor *et al.*, 2009; Robledo *et al.*, 2018; Bois *et al.*, 2019; Lillehammer *et al.*, 2019; Aslam *et al.*, 2020). Estimativas semelhantes foram obtidas para resistência ao hospedeiro a *Caligus rogercresseyi*

~ 0,12 a 0,33 (Yáñez *et al.*, 2014; Tsai *et al.* 2016; Correa *et al.*, 2017; Robledo *et al.*, 2018). Da mesma forma, pesquisas sobre resistência natural a outros parasitas como *Gyrodactylus salaris*, *Tetracapsuloides bryosalmonae* e *Ichthyophthirius multifiliis* também mostraram valores de herdabilidade que variam de moderados a altos (0,32 a 0,60) (Salte *et al.* 2010; Ahmad *et al.*, 2018; Lira *et al.*, 2020).

Aplicação da genômica na aquicultura - Foco na resistência a doença

A genômica está crescendo rapidamente à medida que a tecnologia de sequenciamento está melhorando. O uso das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) se tornou uma opção interessante, uma vez que permitem o sequenciamento de milhões de pares de base de qualquer organismos, inclusive de espécies não modelos, em curto período de tempo e a custos reduzidos (Miller *et al.*, 2009; Kumar e Kocour, 2017).

Embora os custos de sequenciamento estejam caindo gradativamente, o sequenciamento, análise e a comparação de genomas inteiros ainda são custosas, pela enorme complexidade e demanda computacional exigida. Desta forma, estratégias que permitam análises e comparações representativas, são de amplo interesse. O RAD-seq (*Restriction-site associated DNA sequencing*) é uma estratégia de sequenciamento de genoma fracionário que utiliza enzimas de restrição e sequenciamento das regiões adjacentes aos cortes destas enzimas (Baird *et al.*, 2008), reduzindo a necessidade de altas coberturas de sequenciamento. A vantagem desta técnica é que é possível formar um pool de uma grande quantidade de amostras a qual pode ser sequenciada de uma vez só (Andrews *et al.*, 2016).

Uma variação para o RAD-seq é o ddRAD (*double digestion Restriction Associated DNA sequencing*), que é caracterizada pelo uso de duas enzimas de restrição que permite que os tamanhos dos fragmentos genômicos fiquem mais precisos, além do mais diminui os custos na elaboração de bibliotecas (Peterson *et al.*, 2012). Este método é usado para a descoberta e genotipagem de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) (Kumar e Kocour, 2017). Os SNPs são polimorfismos, presentes em no mínimo 1% da população, que afetam somente uma base na sequência do genoma. São os polimorfismos mais abundantes e amplamente distribuídos nos genomas, podendo estar presentes em praticamente todos os loci gênicos (Perkel, 2008). Também revelam variações ocultas não detectadas com outros marcadores (Vignal *et al.*, 2008). Por todas estas características, os SNPs são ideais para a busca de características quantitativas (QTLs) e facilitar a identificação de genes responsáveis por características de desempenho superiores.

Uma das principais estratégias para a descoberta dos QTLs é o estudo de associação genômica ampla (GWAS). O GWAS identifica as variações no genoma (SNPs) e as associa com o características quantitativas de interesse (QTLs) com base no desequilíbrio de ligação (Cantor *et al.*, 2010). Os resultados obtidos do mapeamento QTL e GWAS podem ser usados para programas de melhoramento seletivo através da seleção assistida por marcadores (MAS) ou seleção genômica (Yáñez e Martínez, 2010; Yáñez *et al.*, 2014; Kumar e Kocour, 2017).

Estudos de MAS e seleção genômica são particularmente úteis para serem direcionados a características que são difíceis ou impossível de medir diretamente sobre os candidatos de seleção (Yáñez *et al.*, 2014; Ødegård *et al.*, 2014). Um dos exemplos bem-sucedido de análises de QTL é o caso de resistência à infecção da

necrose pancreática no salmão do Atlântico, a qual foi realizada por dois estudos independentes na Escócia e na Noruega, onde identificaram que um único QTL explicava mais de 80% da variação genética da resistência (Houston *et al.*, 2008; Moen *et al.*, 2009), o que permitiu diminuir as altas taxas de mortalidade (mais de 90%) para perto de zero (Houston *et al.*, 2020). Esta descoberta representa um exemplo bem-sucedido de controle da doença, e mostra a importância das ferramentas genômicas para o desenvolvimento da aquicultura mundial. O GWAS tem sido utilizado para várias características economicamente importantes para a aquicultura, incluindo características de crescimento (Gutierrez *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2018; Yoshida *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2019; Ali *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020), determinação sexual (Bao *et al.*, 2019; Cáceres *et al.*, 2019; Gabián *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2020), resistência a doenças (Aslam *et al.*, 2020; Jia *et al.*, 2020; Mastrochirico *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2021), entre outros.

É necessário que estas práticas de uso de SNPs para associação com características de interesse zootécnico sejam aplicadas nas espécies nativas do Brasil, em especial no tambaqui, pois permitirá acelerar a produção aquícola nacional, aumentando a produtividade de uma maneira mais sustentável. Além do mais, permitirão identificar regiões genômicas de interesse comercial, por exemplo, relacionadas à resistência a doenças, com o objetivo de direcionar programas de melhoramento genético por seleção assistida por marcadores ou seleção genômica, a fim de evitar problemas decorrentes na produção.

Objetivos:

Geral

O objetivo do presente estudo foi explorar a arquitetura genética da resistência do tabaqui contra *I. multifiliis* e investigar o potencial da seleção genômica para possivelmente acelerar o melhoramento genético.

Específicos

Estimar os componentes de variância e herdabilidade para resistência a *I. multifiliis* em oito famílias de tabaqui, por meio de um desafio experimental de coabitação.

Mapear QTL (loci de características quantitativas) associados à resistência a *I. multifiliis* em tabaqui por GWAS (estudo de associação genômica ampla).

REFERÊNCIAS

Aguiar, J. da P., Gomes, P.F.F., Hamoy, I.G., Santos, S.E.B. dos, Schneider, H., Sampaio, I., 2018. Loss of genetic variability in the captive stocks of tabaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), at breeding centres in Brazil, and their divergence from wild populations. *Aquac. Res.* 49, 1914–1925. <https://doi.org/10.1111/are.13647>

Ahmad, F., Debes, P. V., Palomar, G., Vasemägi, A., 2018. Association mapping reveals candidate loci for resistance and anaemic response to an emerging temperature-driven parasitic disease in a wild salmonid fish. *Mol. Ecol.* 27, 1385–1401. <https://doi.org/10.1111/mec.14509>

Aihua, B.L., Buchmann, K., 2001. Temperature and salinity dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. *J. Appl. Ichthyol.* 17, 273–276. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2001.00279.x>

Ali, A., Al-Tobasei, R., Lourenco, D., Leeds, T., Kenney, B., Salem, M., 2020. Genome-wide identification of loci associated with growth in rainbow trout. *BMC Genomics* 21, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6617-x>

Andrews, K.R., Good, J.M., Miller, M.R., Luikart, G., Hohenlohe, P.A., 2016. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nat. Rev. Genet.* 17, 81–92. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>

Ariede, R.B., Freitas, M. V., Agudelo, J.F.G., Borges, C.H.S., Lira, L.V.G., Yoshida, G.M., Pilarski, F., Yáñez, J.M., Hashimoto, D.T., 2020. Genetic (co)variation between resistance to *Aeromonas hydrophila* and growth in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture* 523, 735225. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735225>

Aslam, M.L., Boison, S.A., Lillehammer, M., Norris, A., Gjerde, B., 2020. Genome-wide association mapping and accuracy of predictions for amoebic gill disease in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Sci. Rep.* 10, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63423-8>

Bacher, K., 2015. Perceptions and misconceptions of aquaculture. *Globefish Res. Program.* 120, 35 p. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1399.3840>

Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A., Johnson, E.A., 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* 3, 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>

Bao, L., Tian, C., Liu, S., Zhang, Y., Elasad, A., Yuan, Z., Khalil, K., Sun, F., Yang, Y., Zhou, T., Li, N., Tan, S., Zeng, Q., Liu, Y., Li, Yueru, Li, Yun, Gao, D.,

Dunham, R., Davis, K., Waldbieser, G., Liu, Z., 2019. The Y chromosome sequence of the channel catfish suggests novel sex determination mechanisms in teleost fish. *BMC Biol.* 17, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0627-7>

Barría, A., Christensen, K.A., Yoshida, G.M., Correa, K., Jedlicki, A., Lhorente, J.P., Davidson, W.S., Yáñez, J.M., 2018. Genomic predictions and genome-wide association study of resistance against *Piscirickettsia salmonis* in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) using ddRAD sequencing. *G3 Genes, Genomes, Genet.* 8, 1183–1194. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200053>

Bassini, L.N., Lhorente, J.P., Oyarzún, M., Banger, R., Yáñez, J.M., Neira, R., 2019. Genetic parameters for *Piscirickettsia salmonis* resistance, sea lice (*Caligus rogercresseyi*) susceptibility and harvest weight in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 510, 276–282. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.008>

Bentsen, H.B., Gjerde, B., Eknath, A.E., de Vera, M.S.P., Velasco, R.R., Danting, J.C., Dionisio, E.E., Longalong, F.M., Reyes, R.A., Abella, T.A., Tayamen, M.M., Ponzoni, R.W., 2017. Genetic improvement of farmed tilapias: Response to five generations of selection for increased body weight at harvest in *Oreochromis niloticus* and the further impact of the project. *Aquaculture* 468, 206–217. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.018>

Bishop, S.C., Woolliams, J.A., 2014. Genomics and disease resistance studies in livestock. *Livest. Sci.* 166, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.04.034>

Bois, S.A., Gjerde, B., Hillestad, B., Makvandi-Nejad, S., Moghadam, H.K., Boison, S.A., 2019. Genomic and transcriptomic analysis of amoebic gill disease

resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Front. Genet.* 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00068>

Buchmann, K., Sigh, J., Nielsen, C.V., Dalgaard, M., 2001. Host responses against the fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Vet. Parasitol.* 100, 105–116. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00487-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00487-3)

Cáceres, G., López, M.E., Cádiz, M.I., Yoshida, G.M., Jedlicki, A., Palma-Véjares, R., Travisany, D., Díaz-Domínguez, D., Maass, A., Lhorente, J.P., Soto, J., Salas, D., Yáñez, J.M., 2019. Fine Mapping Using Whole-Genome Sequencing Confirms Anti-Müllerian Hormone as a Major Gene for Sex Determination in Farmed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *G3 Genes, Genomes, Genet.* 9, 3213–3223. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400297>

Cantor, R.M., Lange, K., Sinsheimer, J.S., 2010. Prioritizing GWAS Results: A Review of Statistical Methods and Recommendations for Their Application. *Am. J. Hum. Genet.* 86, 6–22. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.11.017>

Campos, B.L., 2015. El cultivo de la gamitana en Latinoamérica. UNAP. 50 pp. ISBN:978-9972-667-95-4.

Correa, K., Lhorente, J.P., Bassini, L., López, M.E., Di Genova, A., Maass, A., Davidson, W.S., Yáñez, J.M., 2017. Genome wide association study for resistance to *Caligus rogercresseyi* in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using a 50K SNP genotyping array. *Aquaculture* 472, 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.008>

Dickerson, H., Clark, T., 1998. *Ichthyophthirius multifiliis*: A model of cutaneous infection and immunity in fishes. *Immunol. Rev.* 166, 377–384. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01277.x>

Elaswad, A., Dunham, R., 2018. Disease reduction in aquaculture with genetic and genomic technology: current and future approaches. *Rev. Aquaculture*. 10, 876–898. <https://doi.org/10.1111/raq.12205>

FAO. 2020. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. *The state of world fisheries and aquaculture*: Rome

Farmer, B.D., Fuller, S.A., Mitchell, A.J., Straus, D.L., Bullard, S.A., 2013. Efficacy of bath treatments of formalin and copper sulfate on cultured white bass, *Morone multifiliis*. *J. World Aquac. Soc.* 44, 305–310. <https://doi.org/10.1111/jwas.12027>

Fernandes, E.M., de Almeida, L.C.F., Hashimoto, D.T., Lattanzi, G.R., Gervaz, W.R., Leonardo, A.F., Neto, R.V.R., 2018. Survival of purebred and hybrid *Serrasalminae* under low water temperature conditions. *Aquaculture* 497, 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.030>

Francis-Floyd, R., Yanong, R., Pouder, D. *Ichthyophthirius multifiliis* (white spot) infections in fish. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA00600.pdf> (accessed 10 april 2019).

Gabián, M., Morán, P., Fernández, A.I., Villanueva, B., Chtioui, A., Kent, M.P., Covelo-Soto, L., Fernández, A., Saura, M., 2019. Identification of genomic regions regulating sex determination in Atlantic salmon using high density SNP data. *BMC Genomics* 20, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6104-4>

Gjedrem, T., 2000. Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Res.* 31, 25–33. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00389.x>

Gjedrem, T., Robinson, N., Rye, M., 2012. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. *Aquaculture* 350–353, 117–129. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.008>

Gjedrem, T., 2015. Disease resistant fish and shellfish are within reach: A review. *J. Mar. Sci. Eng.* 3, 146–153. <https://doi.org/10.3390/jmse3010146>

Gjedrem, T., Rye, M., 2018. Selection response in fish and shellfish: a review. *Rev. Aquaculture* 10, 168–179. <https://doi.org/10.1111/raq.12154>

Garcia, L.D.O., Copatti, C.E., Wachholz, F., Pereira Filho, W., Baldisserotto, B., 2008. Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotrop. Ichthyol.* 6, 275–281. <https://doi.org/10.1590/s1679-62252008000200016>

Godinho, H.P., 2007. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aqüicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. *Rev Bras Reprod Anim* 31, 351–360.

Godinho, A.L., Lamas, I.R., Godinho, H.P., 2010. Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. *Environ. Biol. Fishes* 87, 143–162. <https://doi.org/10.1007/s10641-009-9574-4>

Goulding, M., Carvalho, M.L., 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, characidae); an important amazonian food fish. *Rev. Bras. Biol.* 1, 193–221.

Gomes, L.C., Simões, L.N., Araujo-Lima, C.A.R.M., 2010. Tambaqui (*Colossoma macropomum*), in: Baldisserotto, B., Gomes, L.C. (Eds.), *Espécies Nativas Para Piscicultura No Brasil*. EditoraUFSM, Santa Maria, pp. 175–204.

Gutierrez, A.P., Yáñ Ez, J.M., Fukui, S., Swift, B., Davidson, W.S., 2015. Genome-Wide association study (GWAS) for growth rate and age at sexual maturation in atlantic salmon (*Salmo salar*). PLoS One 10, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119730>

Hashimoto, D.T., Senhorini, J.A., Foresti, F., Porto-Foresti, F., 2012. Interspecific fish hybrids in Brazil: Management of genetic resources for sustainable use. Rev. Aquaculture 4, 108–118. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01067.x>

Hulata, G., 2001. Genetic manipulations in aquaculture: A review of stock improvement by classical and modern technologies. Genetica 111, 155–173. <https://doi.org/10.1023/A:1013776931796>

Houston, R.D., Haley, C.S., Hamilton, A., Guy, D.R., Tinch, A.E., Taggart, J.B., McAndrew, B.J., Bishop, S.C., 2008. Major quantitative trait loci affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Genetics 178, 1109–1115. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.082974>

Houston, R.D., 2017. Future directions in breeding for disease resistance in aquaculture species. Rev. Bras. Zootec. 46, 545–551. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000600010>

Houston, R.D., Jin, Y.H., Jenkins, T.L., Selly, S.L.C., Martin, S.A.M., Stevens, J.R., Santos, E.M., 2020. Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. Nat. Rev. Genet. 21. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0227-y>

IBGE, 2020. Produção da pecuária municipal 2019. Inst. Bras. Geogr. Estat. (doi:ISSN 0101-4234).

Jia, Z., Chen, L., Ge, Y., Li, S., Peng, W., Li, C., Zhang, Y., Hu, X., Zhou, Z., Shi, L., Xu, P., 2020. Genetic mapping of Koi herpesvirus resistance (KHVR) in Mirror carp (*Cyprinus carpio*) revealed genes and molecular mechanisms of disease resistance. *Aquaculture* 519, 734850. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734850>

Kumar, G., Kocour, M., 2017. Applications of next-generation sequencing in fisheries research: A review. *Fish. Res.* 186, 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.07.021>

Larsen, J., Roney, J.M., 2013. Farmed Fish Production Overtakes Beef. Earth Policy Institute, Washington, DC. Available at URL: http://www.earth-policy.org/plan_b_updates/2013/update114. Accessed January 14, 2020.

Li, N., Zhou, T., Geng, X., Jin, Y., Wang, X., Liu, S., Xu, X., Gao, D., Li, Q., Liu, Z., 2018. Identification of novel genes significantly affecting growth in catfish through GWAS analysis. *Mol. Genet. Genomics* 293, 587–599. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1406-1>

Lillehammer, M., Boison, S.A., Norris, A., Løvoll, M., Bakke, H., Gjerde, B., 2019. Genetic parameters of resistance to amoebic gill disease in two Norwegian Atlantic salmon populations. *Aquaculture* 508, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.072>

Lin, H., Zhou, Z., Zhao, J., Zhou, T., Bai, H., Ke, Q., Pu, F., Zheng, W., Xu, P., 2020. Genome-Wide Association Study Identifies Genomic Loci of Sex Determination and Gonadosomatic Index Traits in Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *Mar. Biotechnol.* 127–139. <https://doi.org/10.1007/s10126-020-10007-2>

Ling, F., Wang, J.G., Liu, Q.F., Li, M., Ye, L.T., Gong, X.N., 2010. Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in goldfish (*Carassius auratus*) by potassium ferrate(VI) treatment. *Vet. Parasitol.* 168, 212–216.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.009>

Lira, L.V.G., Ariede, R.B., Freitas, M. V, Mastrochirico-filho, V.A., Agudelo, J.F.G., Barría, A., Yáñez, J.M., Hashimoto, D.T., 2020. Quantitative genetic variation for resistance to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in the Neotropical fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquac. Reports* 17, 100338.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100338>

Martins, M.L., Onaka, E.M., Moraes, F.R., Bozzo, F.R., Paiva, A.M.F.C., Gonçalves, A., 2002. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the State of São Paulo, Brazil. *Acta Sci.* 24, 981–985

Mastrochirico-Filho, V., Borges, C., Freitas, M., Ariede, R., Pilarski, F., Utsunomia, R., Carvalheiro, R., Gutierrez, A., Peñaloza, C., Yáñez, J., Houston, R., Hashimoto, D.T., 2020. Development of a SNP linkage map and genome-wide association study for resistance to *Aeromonas hydrophila* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-26811/v1>

Matthews, R.A., 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Adv. Parasitol.* 59, 159–241.
[https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)59003-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)59003-1)

Miller, M.R., Dunham, J.P., Amores, A., Cresko, W.A., Johnson, E.A., 2007. Rapid and cost-effective polymorphism identification and genotyping using

restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Res.* 240–248.
<https://doi.org/10.1101/gr.5681207.high-throughput>

Moreira, G.S.A., Shoemaker, C.A., Zhang, D., Xu, D.H., 2017. Expression of immune genes in skin of channel catfish immunized with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasite Immunol.* 39, 1–9.
<https://doi.org/10.1111/pim.12397>

Moen, T., Baranski, M., Sonesson, A.K., Kjøglum, S., 2009. Confirmation and fine-mapping of a major QTL for resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Population-level associations between markers and trait. *BMC Genomics* 10, 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-368>

Ødegård, J., Baranski, M., Gjerde, B., Gjedrem, T., 2011. Methodology for genetic evaluation of disease resistance in aquaculture species: Challenges and future prospects. *Aquac. Res.* 42, 103–114. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02669.x>

Ødegård, J., Moen, T., Santi, N., Korsvoll, S.A., Kjøglum, S., Meuwisse, T.H.E., 2014. Genomic prediction in an admixed population of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Front. Genet.* <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00402>

Olesen, I., Myhr, A.I., Rosendal, G.K., 2011. Sustainable aquaculture: Are we getting there? Ethical perspectives on salmon farming. *J. Agric. Environ. Ethics* 24, 381–408. <https://doi.org/10.1007/s10806-010-9269-z>

Osman, H.A.M., Monier, M. M., El Ghany, O.A.A., Ibrahim, T.B., Ismail, M.M., 2009. Protection of Goldfish (*Carassius auratus*) Against *Ichthyophthirius multifiliis* by Immunization with Live Theronts , Trophonts and Sonicated Trophonts. *Glob. Vet.* 3, 329–334.3, 329–334.

Perkel, J., 2008. SNP genotyping: Six technologies that keyed a revolution. *Nat. Methods* 5, 447–453. <https://doi.org/10.1038/nmeth0508-447>

Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S., Hoekstra, H.E., 2012. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One* 7, e37135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037135>

Pincinato, R., Asche, F., 2016. The development of Brazilian aquaculture: Introduced and native species. *Aquaculture Economics & Management*, 20(3): 312-323. <https://doi.org/10.1080/13657305.2016.1177862>

Rico, A., Van den Brink, P.J., 2014. Probabilistic risk assessment of veterinary medicines applied to four major aquaculture species produced in Asia. *Sci. Total Environ.* 468–469, 630–641. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.063>

Robledo, D., Matika, O., Hamilton, A., Houston, R.D., 2018. Genome-Wide Association and Genomic Selection for Resistance to Amoebic Gill Disease in Atlantic Salmon 8, 1195–1203. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200075>

Robledo, D., Gutiérrez, A.P., Barría, A., Lhorente, J.P., Houston, R.D., Yáñez, J.M., 2019. Discovery and functional annotation of quantitative trait loci affecting resistance to Sea lice in Atlantic salmon. *Front. Genet.* 10, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00056>

Salte, R., Bentsen, H.B., Moen, T., Tripathy, S., Bakke, T.A., Ødegård, J., Omholt, S., Hansen, L.P., 2010. Prospects for a genetic management strategy to control *Gyrodactylus salaris* infection in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) stocks. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 67, 121–129. <https://doi.org/10.1139/f09-168>

Santos, M.C.F., Ruffino, M.L., Farias, I.P., 2007. High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. *J. Fish Biol.* 71, 33–44. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01514.x>

Sidra - Sistema IBGE de Recuperação Automática. Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de produto. 2019. Available at URL: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>. Accessed January 14, 2020.

Sukhavachana, S., Poompuang, S., Onming, S., Luengnaruemitchai, A., 2019. Heritability estimates and selection response for resistance to *Streptococcus agalactiae* in red tilapia *Oreochromis* spp. *Aquaculture* 502, 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.075>

Srivastava, S., Sinha, R., Roy, D., 2004. Toxicological effects of malachite green. *Aquat. Toxicol.* 66, 319–329. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.09.008>

Santos, E.F., Tavares-Dias, M., Pinheiro, D.A., Neves, L.R., Barbosa, G., Kelly, M., Dias, R., 2013. *Colossoma macropomum* (Characidae) cultivado em tanque-rede no estado do Amapá , Amazônia oriental. *Acta Amaz.* 43, 105–112.

Saint-paul, U., 2017. Native fish species boosting Brazilian ' s aquaculture development. *Acta Fish. Aquat. Res.* 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2017.5.1.1-9>

Sigh, J., Lindenstrom, T., Buchmann, K., 2004. The parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* induces expression of immune relevant genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 27, 409–417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00558.x>

Taylor, R.S., Kube, P.D., Muller, W.J., Elliott, N.G., 2009. Genetic variation of gross gill pathology and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during natural amoebic gill disease challenge. *Aquaculture* 294, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.007>

Thilsted, S.H., Thorne-Lyman, A., Webb, P., Bogard, J.R., Subasinghe, R., Phillips, M.J., Allison, E.H., 2016. Sustaining healthy diets: The role of capture fisheries and aquaculture for improving nutrition in the post-2015 era. *Food Policy* 61, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2016.02.005>

Tsai, H.Y., Hamilton, A., Tinch, A.E., Guy, D.R., Bron, J.E., Taggart, J.B., Gharbi, K., Stear, M., Matika, O., Pong-Wong, R., Bishop, S.C., Houston, R.D., 2016. Genomic prediction of host resistance to sea lice in farmed Atlantic salmon populations. *Genet. Sel. Evol.* 48, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0226-9>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Ikefuti, C. V, da Cruz, C., Levy-Pereira, N., Rodrigues, M.V.N., Pilarski, F., 2016. Essential oils to control ichthyophthiriasis in pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg): special emphasis on treatment with *Melaleuca alternifolia*. *J. Fish Dis.* 39, 1143–1152. <https://doi.org/10.1111/jfd.12447>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. *Rev. Aquac.* 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>

Vieira, M.B., Oliveira, P.M., 2015. Melhoramento de espécies aquícolas com foco na resistência a doenças. Embrapa, 32pp. ISSN 2318-1400

Wang, X., Dickerson, H.W., 2002. Surface immobilization antigen of the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* elicits protective immunity in channel

catfish (*Ictalurus punctatus*). Clin. Diagn. Lab. Immunol. 9, 176–81.

<https://doi.org/10.1128/cdli.9.1.176-181.2002>

Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., Eggen, A., 2008. A review on SNPs and other types of molecular markers. Genet. Sel. Evol. 40, 241–264.

<https://doi.org/10.1051/gse>

Wang, W., Tan, S., Luo, J., Shi, H., Zhou, T., Yang, Y., Jin, Y., Wang, X., Niu, D., Yuan, Z., Gao, D., Dunham, R., Liu, Z., 2019. GWAS Analysis Indicated Importance of NF-κB Signaling Pathway in Host Resistance Against Motile Aeromonas Septicemia Disease in Catfish. Mar. Biotechnol. 2009, 335–347.

<https://doi.org/10.1007/s10126-019-09883-0>

Wojnárovich, A., Van Anrooy, R., 2019. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*), FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 624. Rome, FAO.132 pp. ISSN 2070-7010

Xie, M., Ming, Y., Shao, F., Jian, J., Zhang, Y., Peng, Z., 2018. Restriction site-associated DNA sequencing for SNP discovery and high-density genetic map construction in southern catfish (*Silurus meridionalis*). R. Soc. Open Sci. 5.

<https://doi.org/10.1098/rsos.172054>

Xiong, X.M., Chen, Y.L., Liu, L.F., Wang, W., Robinson, N.A., Gao, Z.X., 2017. Estimation of genetic parameters for resistance to *Aeromonas hydrophila* in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). Aquaculture 479, 768–773.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.011>

Xu, D.H., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2007. Evaluation of a cohabitation challenge model in immunization trials for channel catfish *Ictalurus punctatus* against *Ichthyophthirius multifiliis*. Dis. Aquat. Organ. 74, 49–55.

<https://doi.org/10.3354/dao074049>

Xu, D.H., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2008. Protective immunity of Nile tilapia against *Ichthyophthirius multifiliis* post-immunization with live theronts and sonicated trophonts. Fish Shellfish Immunol. 25, 124–127. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.012>

Xu, D.H., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., 2009a. Effect of immunization of channel catfish with inactivated trophonts on serum and cutaneous antibody titers and survival against *Ichthyophthirius multifiliis*. Fish Shellfish Immunol. 26, 614–618. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.09.015>

Xu, D.H., Panangala, V.S., Van Santen, V.L., Dybvig, K., Abernathy, J.W., Klesius, P.H., Liu, Z., Russo, R., 2009b. Molecular characteristics of an immobilization antigen gene of the fish-parasitic protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* strain ARS-6. Aquaculture Res. 40, 1884–1892. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02301.x>

Xu, D.H., Moreira, G.S.A., Shoemaker, C.A., Zhang, D., Beck, B.H., 2017. Expression of immune genes in systemic and mucosal immune tissues of channel catfish vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. Fish Shellfish Immunol. 66, 540–547. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.05.051>

Yang, Y., Wu, L., Wu, X., Li, B., Huang, W., Weng, Z., Lin, Z., Song, L., Guo, Y., Meng, Z., Liu, X., Xia, J., 2020. Identification of Candidate Growth-Related SNPs and Genes Using GWAS in Brown-Marbled Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). Mar. Biotechnol. 22, 153–166. <https://doi.org/10.1007/s10126-019-09940-8>

Yang, M., Wang, Q., Chen, J., Wang, Y., Zhang, Y., Qin, Q., 2021. Identification of candidate SNPs and genes associated with anti-RGNNV using GWAS in the red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. Fish Shellfish Immunol. 112, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.02.010>

Yáñez, J.M., Houston, R.D., Newman, S., 2014. Genetics and genomics of disease resistance in salmonid species. *Front. Genet.* 5, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00415>

Yáñez, J.M., Martínez, V., 2010. Factores genéticos que inciden en la resistencia a enfermedades infecciosas en salmónidos y su aplicación en programas de mejoramiento. *Arch. Med. Vet.* 42, 1–13. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2010000200002>

Yoshida, G.M., Lhorente, J.P., Correa, K., Soto, J., Salas, D., Yáñez, J.M., 2019. Genome-wide association study and cost-efficient genomic predictions for growth and fillet yield in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *G3 Genes, Genomes, Genet.* 9, 2597–2607. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400116>

Zago, A.C., Franceschini, L., Garcia, F., Schalch, S.H.C., Gozi, K.S., Silva, R.J. da, 2014. Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinária* 23, 171–178. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014041>

Zaila, K., Cho, D., Chang, W.J., 2016. Interactions between parasitic ciliates and their host: *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* as examples, in: Witzany, G., Nowacki, M., 2016 (Eds.), *Biocommunication of Ciliates*. Springer, Switzerland, pp. 327-350

Zaniboni Filho, E., Meurer, S., 1997. Limitações e potencialidades do cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) na região subtropical brasileira. *B. Inst. Pesca.* 24, 169-172

Zhou, Z., Han, K., Wu, Y., Bai, H., Ke, Q., Pu, F., Wang, Y., Xu, P., 2019. Genome-Wide Association Study of Growth and Body-Shape-Related Traits in

Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*) Using ddRAD Sequencing. Mar. Biotechnol. 21, 655–670. <https://doi.org/10.1007/s10126-019-09910-0>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ichthyophthirius multifiliis é um protozoário ciliado disseminado mundialmente, que atua como parasita de peixes com baixíssima especificidade de hospedeiro, sendo considerado uma das ameaças mais severas à produção de peixes de água doce. Os tratamentos disponíveis contra esse parasita são caros, laboriosos, estressantes para os peixes e podem poluir o meio ambiente. O melhoramento genético pode ser um método eficiente para controlar doenças infecciosas a longo prazo, devido aos ganhos permanentes e acumulativos. Assim sendo, este trabalho é pioneiro no desenvolvimento de ferramentas genômicas para determinar a resistência natural a *I. multifiliis* no peixe Neotropical tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Após o experimento de coabitação, foi obtida variação fenotípica significativa relacionada à resistência à infestação de *I. multifiliis* nas famílias de tambaqui para as características de sobrevivência, tempo de morte e quantidade de parasita, além do mais, os altos valores de herdabilidade baseados no pedigree e nos dados genômico sugerem que o melhoramento seletivo para aumentar a resistência a *I. multifiliis* é plausível.

As associações entre o marcador e características fenotípicas (GWAS) para identificação de regiões genômicas (QTLs) envolvidas na resistência natural à infestação de *I. multifiliis* em tambaqui, evidenciaram a natureza poligênica desta característica, pois trata-se de uma característica tipicamente controlada por vários genes, o que sugere que a seleção genômica é a abordagem mais eficiente para melhorar a resistência genética contra esse parasita em tambaqui.