

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Análises Quantitativas e Genômicas de
Características Relacionadas a Tolerância á
Baixas Temperaturas em uma População
Sintética de Tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

Gabriel Rinaldi Lattanzi

Jaboticabal, São Paulo

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Análises Quantitativas e Genômicas de
Características Relacionadas a Tolerância á
Baixas Temperaturas em uma População
Sintética de Tambaqui (*Colossoma
macropomum*)**

Gabriel Rinaldi Lattanzi

Prof. Dr. Rafael Vilhena Reis Neto

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

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

L364a Lattanzi, Gabriel Rinaldi
Análises Quantitativas e Genômicas de Características Relacionadas a
Tolerância á Baixas Temperaturas em uma População Sintética de Tambaqui
(Colossoma macropomum) / Gabriel Rinaldi Lattanzi. -- Jaboticabal, 2026
108 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de
Aquicultura da Unesp, Jaboticabal
Orientador: Rafael Vilhena Reis Neto

1. Tambaqui (Colossoma macropomum). 2. Melhoramento genético animal.
3. Tolerância ao frio. 4. Seleção genômica. 5. Associação genômica ampla
(GWAS). I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Análises Quantitativas e Genômicas de Características Relacionadas a Tolerância à Baixas Temperaturas em uma População Sintética de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

AUTOR: GABRIEL RINALDI LATTANZI

ORIENTADOR: RAFAEL VILHENA REIS NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências, área de Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL VILHENA REIS NETO**
Data: 15/06/2026 09:21:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RAFAEL VILHENA REIS NETO (Participação Virtual)
Diretoria / UNESP / Câmpus de Registro - FCAVR

Gabriela Vanina Villanova

Firmado digitalmente por Gabriela Vanina Villanova
DN: CN=Gabriela Vanina Villanova,
E=g.villanova@gmail.com
Razón: estoy de acuerdo con el presente documento
Ubicación: Gabriela Vanina Villanova
Fecha: 2026.06.17 08:10:43
Foxit Reader Versión: 10.0.1

Profa. Dra. GABRIELA VANINA VILLANOVA (Participação Virtual)
Laboratório de Biotecnologia Aquática, / ,Universidad Nacional de Rosario, Rosario Argentina

JOUSEPTH

ALEXANDER

GALLARDO HIDALGO

Firmado digitalmente por
JOUSEPTH ALEXANDER
GALLARDO HIDALGO
Fecha: 2026.06.22 13:10:23
-04'00'

Pós-Doc. JOUSEPTH GALLARDO-HIDALGO (Participação Virtual)
Universidade do Chile,Santiago/Chile / Laboratorio de Genómica Acuicola

Documento assinado digitalmente
 **DIOGO TERUO HASHIMOTO**
Data: 23/06/2026 08:14:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO (Participação Virtual)
Centro de Aquicultura da UNESP, / CAUNESP, Jaboticabal/SP

Documento assinado digitalmente
 **CAIO AUGUSTO PERAZZA**
Data: 22/06/2026 14:49:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós doutorando CAIO AUGUSTO PERAZZA (Participação Virtual)
Instituto Oceanográfico / Universidade de São Paulo

, 09 de junho de 2026.

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter me concedido força, sabedoria e aptidão ao longo desses anos, permitindo-me superar todas as barreiras e seguir adiante com fé.

À minha esposa Cássia Regina Souza Lattanzi e à minha filha Isabella Souza Rinaldi Lattanzi, por estarem sempre ao meu lado nos momentos difíceis, pelo apoio incondicional e por serem fundamentais em minha vida pessoal e profissional.

Aos meus pais, in memoriam, Lourenço Braz Lattanzi e Tânia Rinaldi Domiciano Lattanzi, por terem me ensinado, desde cedo, o caminho das pedras e como contorná-las com respeito, dedicação e fé. Este título é para vocês.

Aos meus irmãos Guemael Rinaldi Lattanzi, George Rinaldi Lattanzi e Gustavo Rinaldi Lattanzi, pelo incentivo constante e por sempre me motivarem a nunca parar de estudar.

Aos meus sobrinhos Gael, Maia, Dante e Martim, por sempre me alegrarem, mesmo à distância.

À minha querida tia Maristela Rinaldi Domiciano, pelo apoio moral e financeiro ao longo dessa jornada e por nunca me deixar desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Prof. Dr. Rafael Vilhena Reis Neto, pela oportunidade concedida ao longo desses anos, pelos ensinamentos, pela confiança depositada em meu trabalho e pela paciência durante todo o processo de formação acadêmica.

Ao Laboratório de Genética em Aquicultura e Conservação (LaGeAC) e a todos os seus membros, pelo ambiente de aprendizado, colaboração e apoio científico fundamentais para o desenvolvimento das análises genéticas e moleculares deste estudo.

Ao Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto, pelas reuniões, ensinamentos e valiosas contribuições científicas, essenciais para a concepção, execução e interpretação dos resultados deste trabalho.

Ao Dr. John Fredy Gómez Agudelo, pela colaboração em todas as etapas do experimento, desde o planejamento experimental até a execução das atividades de campo e laboratório, além do constante apoio científico durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Dr. Arno Juliano Butzge, por toda a ajuda durante os processos de extração de DNA, envio das amostras e acompanhamento das etapas de genotipagem.

À Dra. Celma Gomes de Lemos, pelo suporte no desenvolvimento experimental e pela colaboração durante o processo de reprodução dos animais na Embrapa Pesca e Aquicultura, no estado do Tocantins.

À Dra. Luciana Shiotsuki, da Embrapa Pesca e Aquicultura (Tocantins), pela parceria institucional estabelecida entre a Embrapa e o Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), pela cessão dos animais utilizados neste estudo e pela colaboração nas atividades de reprodução.

Ao Prof. Dr. Eduardo Antonio Sanches, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR), Câmpus de Registro, pela condução do processo de reprodução dos animais cedidos e pelo apoio técnico e científico durante as atividades experimentais.

À Dra. Gabriela Vanina Villanova, ao Dr. Jouseph Gallardo-Hidalgo e a Vito Antonio Mastrochirico Filho, pelas contribuições científicas e pela colaboração ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

A toda a equipe do Prof. Dr. Rafael Vilhena Reis Neto, amigos e parceiros Paula Nunes Rodrigues, Vinicius Zabotto, Thaís Gornati Gonçalves, Woshington Rocha Gervaz, Heloísa Moisés Burini, Matheus Ryan Silva Julio, Rick Martins Soares, Leonardo Segalla Corrêa e Thomas Henrique Cruz Silva, pela convivência, apoio, troca de conhecimentos e parceria ao longo desta trajetória acadêmica.

À República Cana Brava, da cidade de Jaboticabal – SP, que me acolheu e ofereceu suporte durante o desenvolvimento das minhas atividades no doutorado, proporcionando um ambiente de convivência, apoio e companheirismo ao longo dessa trajetória acadêmica.

À República Rancho do Pescador, da cidade de Registro – SP, que me abriu as portas e, especialmente nos momentos mais difíceis, esteve sempre presente com apoio e companheirismo. À tia que cuida da república, agradeço pelo carinho e dedicação de todos os dias. Em especial aos amigos GG, Baby, Turista, Queen, Testo, Dias e Iguape. Talvez vocês não tenham dimensão do quanto fizeram diferença nessa trajetória, me acolhendo como parte da família e me tratando com o respeito e a consideração de um verdadeiro veterano. Levo comigo uma profunda gratidão pelos almoços compartilhados, pelas conversas e por todos os momentos vividos juntos.

Ao Programa de Pós-Graduação, aos discentes, docentes, funcionários e à diretoria do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, pelo suporte institucional e pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora da qualificação e da defesa da tese, pelas contribuições, sugestões e avaliações que enriqueceram e aprimoraram este estudo.

APOIO FINANCEIRO

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq pela bolsa de doutorado - processo 403902/2022-3.

Agradeço a FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - processo 2022/08831-8.

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Combinações parentais utilizadas na formação da população experimental de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	52
Tabela 2 – Reconstrução do Pedigree e desempenho fenotípico das famílias submetidas ao desafio térmico experimental.....	57
Tabela 3 – Resumo das etapas de processamento dos dados genotípicos e fenotípicos utilizados nas análises de parentesco, predição genômica e associação genômica ampla (GWAS).....	58
Tabela 4 – Parâmetros de diversidade genética estimados para a população experimental de tambaqui utilizando 22.582 SNPs fisicamente ancorados ao genoma de referência após o controle de qualidade genotípica.....	58
Tabela 5 – Estimativas dos componentes de variância e parâmetros genéticos para tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária em tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	70
Tabela 6 – Regiões genômicas sugestivas associadas ao tempo até a morte (HTD) e à sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	77
Tabela 7 – Genes candidatos priorizados associados às características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	78
Tabela 8 – Relação completa dos genes identificados nas regiões genômicas sugestivas detectadas pelo GWAS para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	101

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	1
AGRADECIMENTOS.....	2
APOIO FINANCEIRO.....	4
LISTA DE TABELAS.....	5
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
CAPÍTULO I.....	11
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 CARACTERIZAÇÃO DO TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>).....	15
2.2 MELHORAMENTO GENÉTICO DE TAMBAQUI.....	17
2.3 PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO.....	18
2.4 PREDIÇÃO GENÉTICA E GENÔMICA EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO.....	19
2.5 ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS).....	21
2.6 BASE FISIOLÓGICA E GENÉTICA DA TOLERÂNCIA AO FRIO.....	22
2.7 METODOLOGIAS DE FENOTIPAGEM DA TOLERÂNCIA AO FRIO.....	23
2.8 POTENCIAL GENÉTICO E IMPORTÂNCIA DA TOLERÂNCIA AO FRIO.....	25
2.9 GENÉTICA DA TOLERÂNCIA AO FRIO EM TAMBAQUI.....	26
2.10 DEFINIÇÃO DOS FENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA AO FRIO.....	28
3 REFERÊNCIAS.....	31
4 OBJETIVOS.....	46
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	46

CAPÍTULO II.....	47
RESUMO.....	48
ABSTRACT.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	50
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	52
2.1 FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO EXPERIMENTAL.....	52
2.2 TESTE DE TOLERÂNCIA A BAIXAS TEMPERATURAS.....	54
2.3 EXTRAÇÃO DE DNA.....	56
2.4 PROCESSAMENTO DOS DADOS GENÔMICOS E RECONSTRUÇÃO DO PEDIGREE.....	56
2.5 ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS UTILIZANDO PBLUP E GBLUP.....	59
2.6 PREDIÇÃO GENÉTICA E GENÔMICA COM VALIDAÇÃO CRUZADA.....	62
2.7 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS).....	64
2.8 QUANTIFICAÇÃO DOS EFEITOS DOS MARCADORES E DA VARIÂNCIA GENÉTICA EXPLICADA.....	65
2.9 IDENTIFICAÇÃO DE GENES CANDIDATOS.....	66
3 RESULTADOS.....	68
3.1 CURVA DE SOBREVIVÊNCIA ACUMULADA.....	68
3.2 DISTRIBUIÇÃO FENOTÍPICA DO TEMPO ATÉ A MORTE (HTD).....	68
3.3 PARÂMETROS GENÉTICOS E COMPONENTES DE VARIÂNCIA.....	69
3.4 ACURÁCIA PREDITIVA DOS MODELOS GENÉTICOS.....	70
3.5 ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS).....	71
3.6 VARIÂNCIA GENÉTICA EXPLICADA PELOS MARCADORES.....	74

3.7 GENES CANDIDATOS ASSOCIADOS A TOLERÂNCIA AO FRIO.....	76
4 DISCUSSÃO.....	80
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
6 REFERÊNCIAS.....	92
APÊNDICE - RELAÇÃO COMPLETA DOS GENES IDENTIFICADOS.....	101

RESUMO GERAL

A tolerância ao frio representa um dos principais desafios para a expansão do cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em regiões sujeitas a baixas temperaturas. No entanto, o conhecimento sobre a base genética dessa característica ainda é limitado, restringindo o desenvolvimento de estratégias de seleção. Este estudo teve como objetivo caracterizar a base genética da tolerância ao frio em uma população sintética de tambaqui por meio da integração de abordagens de genética quantitativa e genômica. Foram avaliados 808 animais submetidos a um desafio de quedas sucessivas de temperatura, sendo analisadas as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária. Os parâmetros genéticos foram estimados utilizando modelos mistos baseados em informações de pedigree e genômicas, enquanto análises de associação genômica ampla (GWAS) identificaram regiões genômicas associadas aos fenótipos. As estimativas de herdabilidade indicaram variabilidade genética moderada para as características estudadas, e a correlação genética entre HTD e sobrevivência binária foi alta e positiva ($0,99 \pm 0,05$), demonstrando que ambos os fenótipos representam a mesma base genética da resposta ao frio. A utilização de informações genômicas proporcionou maior acurácia preditiva que os modelos baseados apenas em pedigree, evidenciando o potencial da seleção genômica para o melhoramento da espécie. As análises de GWAS revelaram arquitetura genética predominantemente poligênica, caracterizada pela contribuição conjunta de múltiplas regiões genômicas de pequeno a moderado efeito. Foram identificados SNPs sugestivamente associados aos fenótipos avaliados e genes candidatos relacionados à resposta ao estresse térmico, metabolismo energético, homeostase celular e resposta imune. Em conjunto, os resultados demonstram que a tolerância ao frio apresenta base genética suficiente para responder à seleção e que a incorporação de informações genômicas pode aumentar a eficiência dos programas de melhoramento genético do tambaqui. Esta tese amplia o conhecimento sobre a arquitetura genética da tolerância ao frio e fornece bases científicas para o desenvolvimento de estratégias de seleção genômica voltadas à obtenção de populações mais adaptadas às variações térmicas.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*; tolerância ao frio; parâmetros genéticos; GWAS; seleção genômica.

GENERAL ABSTRACT

Cold tolerance is one of the main challenges limiting the expansion of tambaqui (*Colossoma macropomum*) farming into regions exposed to low temperatures. However, the genetic basis of this trait remains poorly understood, restricting the development of effective breeding strategies. This study aimed to characterize the genetic basis of cold tolerance in a synthetic tambaqui population by integrating quantitative genetics and genomic approaches. A total of 808 fish were evaluated under a progressive low-temperature challenge, and the traits hours to death (HTD) and binary survival were analyzed. Genetic parameters were estimated using mixed animal models based on pedigree and genomic information, while genome-wide association studies (GWAS) were performed to identify genomic regions associated with the evaluated phenotypes. Heritability estimates indicated moderate genetic variability for the evaluated traits, and the genetic correlation between HTD and binary survival was high and positive (0.99 ± 0.05), demonstrating that both phenotypes represent the same genetic basis underlying the response to cold stress. The incorporation of genomic information provided higher predictive accuracy than pedigree-based models, highlighting the potential of genomic selection for tambaqui breeding. Genome-wide association analyses revealed a predominantly polygenic genetic architecture, characterized by the joint contribution of multiple genomic regions with small to moderate effects. Suggestively associated SNPs and candidate genes related to thermal stress response, energy metabolism, cellular homeostasis, and immune response were identified. Overall, the results demonstrate that cold tolerance in tambaqui has sufficient genetic variability to respond to selection and that genomic information can improve the efficiency of breeding programs. This thesis expands the current knowledge of the genetic architecture of cold tolerance and provides a scientific basis for the implementation of genomic selection strategies aimed at developing populations better adapted to thermal variation.

Keywords: *Colossoma macropomum*; cold tolerance; genetic parameters; GWAS; genomic selection.

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura tem se consolidado como um dos setores de maior crescimento na produção de alimentos aquáticos. Segundo a FAO (2025), a produção mundial aquícola alcançou cerca de 94 milhões de toneladas em 2022, superando pela primeira vez a pesca extrativista (Zhang et al., 2025) e acompanhando o aumento da demanda global por pescado, cujo consumo per capita passou de 9,1 kg em 1961 para 20,6 kg em 2021.

Dentro desse cenário de expansão global, a América Latina ocupa posição estratégica na produção aquícola. As Américas alcançaram aproximadamente 4,9 milhões de toneladas de pescado cultivado em 2023, com destaque para o Brasil, que liderou a produção continental com 792 mil toneladas, valor superior ao registrado em 2022 e equivalente a um aumento de 7,32%, o que evidencia a recente expansão do setor no país (FAO, 2025).

No Brasil, a produção aquícola manteve trajetória de crescimento, alcançando 1.011.540 toneladas de peixes de cultivo em 2025, o que representa um aumento de aproximadamente 4,42% em relação a 2024. Esses dados foram obtidos a partir de relatórios do setor produtivo da piscicultura brasileira publicados pela Peixe BR (2026). Entre as espécies cultivadas, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) manteve a liderança da produção nacional, representando cerca de 70 % do total, evidenciando a concentração produtiva do setor em poucas espécies.

Apesar dessa predominância, a produção de espécies nativas neotropicais, incluindo pacu (*Piaractus mesopotamicus*), pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seus híbridos, representa parcela expressiva da piscicultura brasileira. Em 2025, essas espécies totalizaram 257.070 toneladas, correspondendo a aproximadamente 25,4% da produção nacional (Peixe BR, 2026). Entre essas espécies, o tambaqui destaca-se como a principal espécie nativa produzida no país.

Nesse contexto, o tambaqui apresenta elevada relevância produtiva no Brasil e ampla distribuição geográfica. Originário das bacias Amazônica e do Orinoco, consolidou-se como o principal peixe amazônico de criação comercial, com destaque produtivo no Norte do Brasil e em países como Bolívia, Colômbia e Venezuela (Val e Oliveira, 2021; Hilsdorf et al., 2022; Valladão et al., 2018; Chagas

et al., 2019; Valladão et al., 2020; Valenti et al., 2021; Maciel-Honda et al., 2022). Além disso, a espécie tem sido introduzida e cultivada em diversos países fora da América do Sul, incluindo Estados Unidos, México, China, Indonésia, Malásia, Mianmar, Vietnã, Singapura e Taiwan (Woynárovich e Van Anrooy, 2019; Amanajás e Val, 2023; St Louis et al., 2022; Val e Oliveira, 2021; Hilsdorf et al., 2022).

Essa expansão é particularmente expressiva na Ásia, refletindo a crescente inserção global da espécie na aquicultura. Apesar dessa ampla distribuição, o cultivo do tambaqui no Brasil permanece concentrado nas regiões Norte e Nordeste, onde as condições térmicas são favoráveis ao desempenho da espécie (Baldisserotto e Gomes, 2005; Santos et al., 2021).

Em contraste, nas regiões Sul e Sudeste, períodos prolongados de baixas temperaturas durante o inverno limitam a produção, resultando em perdas, mortalidade e redução do crescimento dos animais. Em condições de frio, o tambaqui apresenta redução da taxa metabólica, diminuição do consumo alimentar e alterações fisiológicas que comprometem o crescimento e aumentam a suscetibilidade a estresses e mortalidade (Paulino et al., 2026; Zhu et al., 2022).

Como consequência, observa-se redução do desempenho produtivo, com menor ganho de peso e crescimento mais lento dos animais, especialmente em regiões Sul e Sudeste, quando comparadas às condições mais favoráveis do Norte e Nordeste (Baldisserotto e Gomes, 2005; Fernandes et al., 2018; Mareco et al., 2023). Essa diferença de desempenho evidencia a limitação do tambaqui fora de sua faixa climática natural e reforça a necessidade do desenvolvimento de estratégias que promovam sua adaptação a ambientes de menor temperatura (Merola & Pagán-Font, 1988; Agudelo et al., 2022).

Nesse sentido, a seleção de animais mais tolerantes ao frio apresenta potencial para reduzir perdas produtivas, aumentar a eficiência do sistema de produção e favorecer a expansão territorial do cultivo para as regiões Sul e Sudeste, contribuindo para o aumento do volume produzido e para a consolidação da espécie em mercados ainda em desenvolvimento. Diante dessas limitações, alternativas têm sido adotadas no setor.

A utilização de híbridos interespecíficos tem sido empregada como estratégia produtiva, uma vez que esses cruzamentos são amplamente utilizados

na piscicultura com o objetivo de explorar características desejáveis, como crescimento acelerado e maior tolerância a variações ambientais (Hashimoto et al., 2014; Fernandes et al., 2018; Mareco et al., 2023).

Considerando esses aspectos, a produção de espécies nativas está fortemente associada à formação de híbridos, que representam parcela expressiva da produção aquícola. As espécies puras desempenham papel estratégico nesse sistema, pois constituem a base para a obtenção desses cruzamentos (Calcagnotto et al., 1999).

Dessa forma, o melhoramento genético do tambaqui puro apresenta potencial ampliado de impacto, ao influenciar tanto a produção da espécie quanto o desempenho dos híbridos utilizados na piscicultura. Um exemplo recorrente é o cruzamento entre fêmeas de tambaqui e machos de pacu para a produção do híbrido tambacu, que combina crescimento rápido com maior tolerância a baixas temperaturas (Hashimoto et al., 2014; Fernandes et al., 2018; Reis Neto et al., 2019; Neto et al., 2020; Fantinatti et al., 2021; Mareco et al., 2023; Miranda et al., 2023).

Entretanto, a hibridização interespecífica apresenta limitações e riscos. Entre os principais impactos estão os escapes acidentais, que podem resultar em contaminação genética de populações selvagens e de plantéis produtivos, com efeitos sobre a biodiversidade e risco de extinção de espécies nativas (Baggio et al., 2016; Knytl et al., 2018; Dobrzycka Krahel e Román-Hidalgo, 2025). Esses efeitos são intensificados quando híbridos férteis escapam para o ambiente natural ou são comercializados como espécies puras (do Prado et al., 2012; Hashimoto et al., 2014; Korniienko et al., 2020).

Diante dessas limitações, o melhoramento genético surge como alternativa estratégica para viabilizar o cultivo do tambaqui puro em regiões de clima mais frio. Esse melhoramento pode ser conduzido com base em informações fenotípicas e de pedigree ou por meio da incorporação de dados genômicos, que permitem maior precisão na identificação de indivíduos superiores (Gjedrem, 2005; Liang et al., 2025).

A predição genômica tem se destacado como ferramenta eficiente para aumentar a acurácia das avaliações genéticas, especialmente para características

de baixa herdabilidade e de mensuração complexa (Sukhavachana et al., 2022). Além disso, estudos de associação genômica ampla permite identificar regiões genômicas associadas à resistência a baixas temperaturas (Hanchapola et al., 2026).

Sob essa perspectiva, a incorporação da tolerância ao frio como critério de seleção apresenta aplicabilidade direta em programas reais de melhoramento, permitindo a identificação de animais superiores e a redução de perdas produtivas. Essa abordagem contribui para a eficiência do sistema e para a viabilidade econômica da atividade (Dantas et al., 2022; Allal & Nguyen, 2022). Os resultados também são diretamente aplicáveis a empresas e produtores que atuam na comercialização de material genético, possibilitando o desenvolvimento de linhagens mais adaptadas a diferentes condições térmicas e contribuindo para a expansão da cadeia produtiva do tambaqui.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de ganho genético para tolerância a baixas temperaturas em uma população base de tambaqui (*Colossoma macropomum*), por meio da estimação de parâmetros genéticos e da predição de valores genéticos estimados EBVs (*Estimated Breeding Values*) e valores genéticos genômicos estimados GEBVs (*Genomic Estimated Breeding Values*). Foram utilizadas abordagens baseadas em pedigree, por meio do modelo PBLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) baseado em pedigree e genômicas, por meio do modelo GBLUP (*Genomic Best Linear Unbiased Prediction*), com o objetivo de comparar a acurácia e o potencial preditivo dos valores estimados. Adicionalmente, buscou-se identificar regiões genômicas associadas à característica por meio de análises de associação genômica ampla.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

O tambaqui (*Colossoma macropomum*), nativo das bacias Amazônica e do Orinoco, é uma das espécies de maior importância ecológica e econômica da América do Sul (Araújo-Lima e Gomes, 2013; Souza et al., 2018). Nos ambientes naturais, atua na dinâmica dos ecossistemas como dispersor de sementes (Costa-Pereira et al., 2018; Val & Oliveira, 2021; Hilsdorf et al., 2022).

Na aquicultura, o tambaqui é uma das espécies mais cultivadas da América do Sul (Melo et al., 2024). No Brasil, consolidou-se como a principal espécie nativa da aquicultura, refletindo sua elevada relevância regional e nacional (Sena et al., 2024; da Cunha et al., 2020; Lira et al., 2020).

O sucesso produtivo está associado a atributos zootécnicos, fisiológicos e mercadológicos (Melo et al., 2024). A espécie apresenta elevada robustez, com tolerância a baixas concentrações de oxigênio dissolvido e a uma ampla faixa de altas temperaturas (Gomes et al., 2018; da Fonseca et al., 2024). Essas características favorecem sua adaptação a diferentes sistemas de cultivo e sua capacidade de utilizar dietas artificiais (Ferreira et al., 2019; Hoga et al., 2019).

Do ponto de vista zootécnico, o tambaqui apresenta rápido crescimento, grande porte, resistência a doenças e facilidade de reprodução em cativeiro (Hoga et al., 2019; Pires et al., 2018). Esses atributos, aliados à qualidade da carne, têm impulsionado a expansão da espécie na aquicultura brasileira (Mazini et al., 2022).

O tambaqui apresenta ampla aceitação no mercado, associada à preferência dos consumidores, ao preço acessível e à qualidade sensorial, como sabor e textura, sustentando seu valor comercial (Mebratu et al., 2023).

Em contraste com essas vantagens, a produção ainda é limitada pela elevada mortalidade durante o inverno nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, onde a temperatura da água frequentemente cai abaixo de 17 °C, comprometendo o desempenho e a sobrevivência dos animais (Fernandes et al., 2018; Mareco et al., 2023). Como alternativa, produtores recorrem ao híbrido tambacu, resultante do cruzamento entre fêmeas de tambaqui e machos de pacu, com o objetivo de combinar o crescimento do tambaqui com a maior tolerância ao frio do pacu (Borges et al., 2014; Reis Neto et al., 2012; Reis Neto et al., 2020; Lira et al., 2020).

Entretanto, a ausência de controle reprodutivo e o uso indiscriminado de híbridos podem gerar impactos ambientais e variação indesejada no desempenho zootécnico. O vigor híbrido é maximizado na primeira geração (F1), enquanto indivíduos pós-F1 ou retrocruzados não mantêm o mesmo desempenho, comprometendo a eficiência produtiva e aumentando o risco de introgressão genética em populações naturais (Hayden et al., 2010; Reis Neto et al., 2020; Vetešník et al., 2024).

Esses fatores reforçam a necessidade de programas estruturados de melhoramento genético, com ênfase no aumento da resistência térmica e no aprimoramento de características zootécnicas. A seleção de espécies aquícolas com maior tolerância a baixas temperaturas tem sido apontada como uma estratégia promissora para aumentar a sustentabilidade e a viabilidade econômica da aquicultura (Han et al., 2025).

Iniciativas baseadas em genética quantitativa e seleção direcionada têm potencial para reduzir a dependência de híbridos, elevar a eficiência dos plantéis e fortalecer a sustentabilidade da cadeia produtiva (Falconer & Mackay, 1996; Lynch e Walsh, 1998; Gjedrem e Rye, 2018). Nesse contexto, abordagens baseadas na predição de valores genéticos e genômicos têm sido amplamente utilizadas em programas de melhoramento aquícola, permitindo maior precisão na identificação de indivíduos superiores e maior eficiência no ganho genético das populações.

2.2 MELHORAMENTO GENÉTICO DE TAMBAQUI

A produção comercial de espécies nativas provenientes de programas de melhoramento na América do Sul permanece limitada, conforme relatado por Ariede et al. (2020). No caso do tambaqui, os esforços iniciais concentram-se principalmente na estimativa de parâmetros genéticos relacionados ao crescimento e às medidas corporais. Essas iniciativas são pontuais e isoladas, conduzidas por instituições de pesquisa, e ainda não resultaram na disponibilização de linhagens melhoradas ao setor produtivo, conforme destacado por Ferreira et al. (2022).

Uma das iniciativas mais estruturadas foi o projeto Aquabrazil, voltado ao desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil, conduzido entre 2007 e 2011. Embora tenha contribuído para o avanço do conhecimento em genética quantitativa de peixes nativos, seus resultados não se converteram na disponibilização comercial de linhagens melhoradas (Hilsdorf et al., 2022). Como consequência, a aquicultura brasileira permanece dependente de estoques reprodutivos formados, em sua maioria, por animais não selecionados, provenientes de populações selvagens.

A maioria dos peixes produzidos na aquicultura sul-americana ainda deriva de populações não melhoradas, mantendo a dependência de capturas naturais

para reposição dos plantéis e limitando a obtenção de ganhos produtivos consistentes (Mastrochirico-Filho et al., 2019; Del Pazo et al., 2021; Freitas et al., 2021; Mascali et al., 2022; Mareco et al., 2023).

A implantação desses programas constitui uma estratégia para reduzir a dependência de híbridos, como o tambacu, e promover o desenvolvimento de linhagens puras adaptadas a condições ambientais específicas (Pernet & Browman, 2021; Cortes et al., 2025). No caso do tambaqui, isso possibilita a seleção de indivíduos mais tolerantes ao frio, favorecendo a expansão da espécie para regiões de clima subtropical e a redução das perdas associadas ao estresse térmico. Para viabilizar esse avanço, são necessários estudos que investiguem o potencial genético e a resposta à seleção para características relacionadas à tolerância a baixas temperaturas.

No Brasil, diferentes grupos de pesquisa têm contribuído de forma significativa para o avanço da genética de espécies nativas, incluindo o tambaqui. Estudos conduzidos por Hashimoto e colaboradores têm abordado aspectos fundamentais, como variabilidade genética, parâmetros genéticos, associação genômica e aplicação de ferramentas de seleção genômica, ampliando a compreensão dos mecanismos genéticos que influenciam características de interesse aquícola (Ariede et al., 2020; Lira et al., 2020; Agudelo et al., 2024; Manso et al., 2024).

De forma complementar, iniciativas voltadas à estruturação de programas de melhoramento têm sido discutidas por outros grupos de pesquisa, incluindo contribuições de Shiotsuki e colaboradores, que destacam a importância do estabelecimento de bases genéticas para a consolidação de programas estruturados na espécie (Shiotsuki et al., 2018; Silva et al., 2023; Varela et al., 2021).

2.3 PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO

O controle genético de características quantitativas, como a resistência ao frio, pode ser investigado por meio de parâmetros genéticos clássicos. Essa abordagem permite estimar a variância genética aditiva, a herdabilidade e o potencial de resposta à seleção (Falconer & Mackay, 1996; Lynch & Walsh, 1998;

Pujol et al., 2018). Para esse tipo de modelo, são indispensáveis informações fenotípicas individuais e de parentesco entre os indivíduos da população estudada (Gama, 2002; Gjedrem e Robinson, 2014; Benfey et al., 2024).

A variância genética aditiva representa a fração da variabilidade fenotípica atribuída aos efeitos aditivos dos alelos, sendo o principal componente responsável pela resposta à seleção. Essa variância reflete a capacidade de transmissão das diferenças genéticas para a geração seguinte, constituindo a base do ganho genético em programas de melhoramento. Assim, características com maior variância genética aditiva apresentam maior potencial de resposta à seleção ao longo das gerações (Falconer & Mackay, 1996; Lynch & Walsh, 1998).

Características quantitativas contínuas, como o tempo até a morte, podem ser analisadas por meio de modelos lineares mistos, que assumem distribuição aproximadamente normal dos dados. Em contraste, características categóricas, como a sobrevivência binária, requerem abordagens específicas, como os modelos limiar (threshold), que consideram a natureza discreta do fenótipo por meio de uma variável latente contínua. A escolha do modelo adequado é fundamental para garantir estimativas consistentes dos parâmetros genéticos, uma vez que a utilização de modelos incompatíveis com a distribuição dos dados pode resultar em estimativas viesadas (Falconer & Mackay, 1996; Gianola & Foulley, 1983).

2.4 PREDIÇÃO GENÉTICA E GENÔMICA EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO

A avaliação genética de características quantitativas em programas de melhoramento animal baseia-se na estimação do valor genético dos indivíduos, que corresponde à contribuição genética aditiva transmitida à progênie. Esses valores, conhecidos como EBVs (*Estimated Breeding Values*), são obtidos por meio de modelos estatísticos que integram informações fenotípicas e relações de parentesco, permitindo a identificação de indivíduos superiores para seleção (Henderson, 1975; Falconer & Mackay, 1996; Lynch & Walsh, 1998).

O método mais amplamente utilizado para essa finalidade é o PBLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) baseado em pedigree, no qual a estrutura de parentesco entre os indivíduos é representada por meio da matriz de

relacionamento aditivo (matriz *A*). Esse modelo permite a estimação dos efeitos genéticos aditivos com base na similaridade genética esperada entre indivíduos aparentados, sendo amplamente aplicado em programas de melhoramento de espécies aquícolas (Henderson, 1975; Gjedrem & Rye, 2018).

Apesar de sua ampla aplicação, o PBLUP apresenta limitações associadas ao uso de relações de parentesco esperadas, que podem não refletir com precisão a variabilidade genética real entre os indivíduos. Nesse contexto, o avanço das tecnologias de genotipagem possibilitou a incorporação de informações genômicas às avaliações genéticas.

Na predição genômica, os valores genéticos genômicos GEBVs (*Genomic Estimated Breeding Values*) são estimados a partir de marcadores moleculares distribuídos ao longo do genoma, geralmente SNPs, permitindo capturar a variabilidade genética real observada entre os indivíduos. Um dos métodos mais utilizados é o GBLUP (*Genomic Best Linear Unbiased Prediction*), no qual a matriz de parentesco baseada em pedigree é substituída por uma matriz de relacionamento genômico (matriz *G*), construída com base nos marcadores moleculares (VanRaden, 2008; Meuwissen et al., 2001).

A utilização de informações genômicas permite maior precisão na predição dos valores genéticos, especialmente para características de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração, além de possibilitar a seleção de indivíduos em estágios precoces de desenvolvimento. Como consequência, a predição genômica tem contribuído para o aumento da acurácia e para a aceleração do progresso genético em diversas espécies de interesse aquícola (Yáñez et al., 2014; Gutiérrez et al., 2015; Yoshida et al., 2018; Houston et al., 2020).

A acurácia da predição genética representa a correlação entre os valores genéticos estimados e os valores genéticos verdadeiros dos indivíduos, sendo um dos principais indicadores da eficiência dos programas de melhoramento. Métodos baseados em informação genômica tendem a apresentar maior acurácia em comparação àqueles baseados exclusivamente em pedigree, especialmente em populações com estrutura familiar complexa ou informação fenotípica limitada (Legarra et al., 2008; Ødegård et al., 2011).

Nesse contexto, a integração entre predição genética tradicional e predição genômica representa uma abordagem promissora para o melhoramento de espécies aquícolas, permitindo maior eficiência na seleção e contribuindo para o desenvolvimento de linhagens adaptadas a condições ambientais desafiadoras, como a exposição a baixas temperaturas.

Programas mais avançados, como os implementados para truta arco-íris e salmão do Atlântico, utilizam painéis comerciais de SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) de alta densidade, com mais de 50 mil marcadores, em estudos de associação genômica e predição genética (Reis Neto et al., 2019; Ali et al., 2020). Essas informações são incorporadas a modelos de seleção genômica, permitindo ganhos genéticos superiores aos obtidos pela seleção tradicional e a identificação de regiões genômicas associadas a fenótipos relevantes, especialmente para características de baixa herdabilidade ou difíceis de mensurar (Yáñez et al., 2014; Gutiérrez et al., 2015; Yoshida et al., 2022; Hao et al., 2023; Tang et al., 2025).

2.5 ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS)

Os estudos de associação genômica ampla GWAS (*Genome-Wide Association Study*) são ferramentas importantes para identificar genes e regiões cromossômicas associadas a características de interesse. Essa abordagem explora a diversidade genética das populações para detectar regiões do genoma associadas a fenótipos relevantes, contribuindo para a compreensão da arquitetura genética das características e para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético (Sorkheh et al., 2008; Ning et al., 2019; Kim et al., 2025).

Em análises de GWAS, os SNPs identificados podem representar mutações causais ou atuar como marcadores associados ao desequilíbrio de ligação (DL). O DL reflete a associação estatística entre loci e influencia a capacidade dos marcadores de prever variantes genéticas funcionais (Matos et al., 2013; Ortega et al., 2017; Yao et al., 2025). Dessa forma, o sucesso dos estudos depende tanto do DL quanto da quantidade de variância genética associada à característica avaliada (Sodeland et al., 2013; Barria et al., 2018; Yoshida et al., 2019).

Em espécies aquícolas, modelos mistos baseados em matrizes de relacionamento genômico têm sido amplamente empregados em análises GWAS para controlar efeitos de parentesco e estrutura populacional, reduzindo associações espúrias e aumentando a robustez das inferências genéticas.

Apesar dos avanços metodológicos, a genotipagem de alta densidade ainda possui custos elevados, limitando sua adoção em larga escala na aquicultura (VanRaden et al., 2011; Boudry et al., 2021; Qu et al., 2024; Mastrochirico-Filho et al., 2025).

Ainda que estudos de mapeamento molecular estejam bem estabelecidos para diversas espécies de importância aquícola (Palaikostas & Houston, 2018; Liang et al., 2025; Wu et al., 2021), pesquisas com espécies nativas da América do Sul ainda são escassas. Essa lacuna reforça a necessidade de investimentos contínuos, especialmente para espécies como o tambaqui, cuja expansão depende do desenvolvimento de linhagens mais adaptadas a condições ambientais desafiadoras, como as baixas temperaturas.

Em estudos de associação genômica ampla, a realização de múltiplos testes simultâneos aumenta a probabilidade de erros do tipo I, tornando necessária a aplicação de métodos de correção estatística, como a correção de Bonferroni, que é amplamente utilizado por seu caráter conservador na identificação de associações significativas.

2.6 BASE FISIOLÓGICA E GENÉTICA DA TOLERÂNCIA AO FRIO

A compreensão dos mecanismos fisiológicos associados à tolerância ao frio é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficientes de seleção genética, pois permite a definição de fenótipos biologicamente consistentes (Gerken et al., 2016). Em peixes ectotérmicos, a temperatura regula diretamente processos metabólicos, imunológicos e hormonais, constituindo um fator central para a manutenção da homeostase (Liu et al., 2025). Exposições abaixo da faixa térmica ótima comprometem esse equilíbrio e reduzem o desempenho produtivo (Ranasingh et al., 2024).

A resistência ao frio em peixes é uma característica complexa, influenciada por vários genes, caracterizando sua natureza quantitativa (Cnaani et al., 2003;

Ahmad et al., 2025). Durante o estresse térmico, muitos genes podem alterar sua expressão, contribuindo para diferenças na tolerância ao frio entre indivíduos e espécies (Song et al., 2024). Essa variação genética sugere que a tolerância ao frio possui base genética suficiente para responder aos processos de seleção artificial, conforme os princípios da genética quantitativa (Falconer e Mackay, 1996; Lynch e Walsh, 1998).

A existência de variação genética associada à tolerância ao frio reforça a importância de definir fenótipos confiáveis, capazes de representar adequadamente a resposta fisiológica dos indivíduos ao estresse térmico. Características relacionadas à sobrevivência e ao desempenho sob baixas temperaturas podem capturar parte dessa variação genética e servir como base para estimativas de parâmetros genéticos e para a aplicação de estratégias de seleção. Assim, a qualidade da fenotipagem torna-se um elemento central para o avanço de programas de melhoramento genético voltados à tolerância ao frio.

2.7 METODOLOGIAS DE FENOTIPAGEM DA TOLERÂNCIA AO FRIO

A seleção genética para resistência ao frio depende da obtenção de fenótipos confiáveis, obtidos a partir de protocolos experimentais padronizados e reprodutíveis. A forma como a tolerância térmica é avaliada influencia diretamente a qualidade das estimativas de parâmetros genéticos e a eficiência das estratégias de seleção. A fenotipagem adequada constitui a base para a avaliação do potencial genético associado à tolerância ao frio em peixes cultivados (Charo-Karisa et al., 2005; Ai et al., 2022).

A avaliação da tolerância ao frio também pode ser realizada por meio de características associadas à sobrevivência dos indivíduos sob estresse térmico. Fenótipos como a sobrevivência e o tempo até a morte, expresso em dias ou horas, têm sido utilizados como medidas diretas da tolerância ao frio, sendo amplamente empregados em estudos de genética quantitativa e predição genômica (Ødegård et al., 2011; Yoshida et al., 2018).

Esses fenótipos capturam a resposta dos indivíduos à exposição prolongada a baixas temperaturas, integrando os efeitos fisiológicos do estresse térmico ao longo do tempo. Além disso, permitem a aplicação de modelos estatísticos

adequados, incluindo abordagens baseadas em análise de sobrevivência, sendo particularmente úteis para a estimativa de parâmetros genéticos (Kleinbaum & Klein, 2012; Legarra & Reverter, 2018).

De acordo com Kir et al. (2017), a tolerância térmica em peixes é geralmente avaliada por métodos dinâmicos ou estáticos, que permitem a estimativa de limites críticos e letais de temperatura (Beitinger et al., 2000; Bennett e Beitinger, 1997; Lutterschmidt e Hutchison, 1997; Bennett e Judd, 1992). A aplicação dessas metodologias requer condições controladas, pois fatores como a aclimação, a taxa de resfriamento e as variáveis ambientais influenciam diretamente os fenótipos obtidos (Beitinger et al., 2000; Yanar et al., 2019; Pacher et al., 2024).

Nos métodos dinâmicos, a temperatura da água é ajustada gradualmente até que os peixes atinjam um ponto crítico de tolerância, geralmente identificado pela perda de equilíbrio, conhecida como LOE (*Loss of Equilibrium*) (Lutterschmidt e Hutchison, 1997). Esse ponto é amplamente utilizado para a estimativa dos limites críticos de temperatura, CTmin (*Critical Thermal Minimum*) e CTmax (*Critical Thermal Maximum*), pois representa a incapacidade do animal de manter a natação coordenada sob estresse térmico (Kaspari et al., 2015; Madeira et al., 2017).

Os métodos dinâmicos apresentam a vantagem de serem rápidos e operacionalmente simples, permitindo a avaliação de um grande número de indivíduos em curto período. No entanto, a precisão das estimativas de CTmin e CTmax depende diretamente da taxa de variação da temperatura, uma vez que mudanças muito rápidas podem superestimar a tolerância térmica, enquanto variações muito lentas podem induzir aclimação ou estresse prolongado, alterando a resposta fisiológica (Mora e Maya, 2006).

Nos métodos estáticos, os peixes são mantidos em temperaturas fixas próximas aos limites térmicos, e a mortalidade acumulada ao longo do tempo é utilizada para estimar a ILLT (*Lower Incipient Lethal Temperature*) e a IULT (*Upper Incipient Lethal Temperature*) correspondentes às condições nas quais parte da população não consegue sobreviver por períodos prolongados (Bennett e Beitinger, 1997; Kir et al., 2017). Esses ensaios permitem avaliar a tolerância térmica sob exposição contínua ao estressor, oferecendo uma medida complementar àquelas obtidas pelos métodos dinâmicos.

Além disso, a LTmax (*Lethal Temperature Maximum*) representa o limite térmico absoluto no qual 50% dos peixes não conseguem sobreviver após exposição a temperaturas elevadas, sendo determinada a partir da mortalidade observada sob condições controladas (Mora e Maya, 2006). Esse parâmetro fornece uma medida complementar da resposta térmica da espécie, permitindo caracterizar os limites fisiológicos extremos da espécie em situações de estresse térmico intenso.

Em conjunto, os métodos dinâmicos e estáticos fornecem informações complementares sobre a tolerância térmica em peixes, ao capturar respostas fisiológicas sob diferentes condições de exposição ao estresse térmico (Moyano et al., 2020). Enquanto os métodos dinâmicos descrevem limites funcionais de tolerância, os métodos estáticos caracterizam a sobrevivência dos indivíduos sob exposição prolongada a temperaturas próximas aos limites letais (Mora e Maya, 2006). A escolha do método deve considerar o objetivo do estudo, a espécie avaliada e a aplicabilidade dos fenótipos gerados em análises genéticas.

2.8 POTENCIAL GENÉTICO E IMPORTÂNCIA DA TOLERÂNCIA AO FRIO

Características quantitativas associadas à resistência térmica, como a tolerância ao frio, têm recebido atenção crescente na aquicultura por apresentarem potencial de resposta à seleção genética. Em espécies tropicais cultivadas em regiões subtropicais, oscilações térmicas sazonais comprometem a sobrevivência e o desempenho produtivo, tornando a resistência ao frio uma característica estratégica para programas de melhoramento (Jiao et al., 2025; Yanar et al., 2019).

No tambaqui (*Colossoma macropomum*), temperaturas inferiores a 17 °C comprometem processos fisiológicos essenciais, aumentam a mortalidade e resultam em prejuízos econômicos expressivos (Fernandes et al., 2018; Chu et al., 2020; Ranasingh et al., 2024). Essas limitações comprometem diretamente o desempenho zootécnico da espécie e restringem sua expansão produtiva para as regiões Sul e Sudeste do Brasil. Como consequência, o cultivo permanece dependente do híbrido tambacu como alternativa para enfrentar episódios de baixas temperaturas (Neto et al., 2020).

Diante desse cenário, estratégias de melhoramento genético voltadas ao aumento da tolerância ao frio tornam-se essenciais para reduzir perdas produtivas e ampliar a adaptabilidade dos plantéis de tambaqui. A resposta à seleção depende da existência de variância genética aditiva para a característica, permitindo o aumento gradual da frequência de alelos associados à tolerância ao frio ao longo das gerações (Charlesworth e Jensen, 2021).

Além da existência de variabilidade genética para tolerância térmica, estudos recentes têm buscado identificar regiões genômicas e marcadores associados a essa característica em diferentes espécies aquícolas.

2.9 GENÉTICA DA TOLERÂNCIA AO FRIO EM TAMBAQUI

A possibilidade de resposta à seleção para tolerância ao frio depende da existência de variância genética aditiva para essa característica. A avaliação do potencial genético envolve a estimativa de herdabilidade e de correlações genéticas, além da identificação de regiões genômicas associadas à resistência térmica. Esses parâmetros permitem avaliar a viabilidade do melhoramento genético e orientar estratégias de seleção em espécies aquícolas (Lagarde et al., 2023).

As estimativas de herdabilidade para resistência ao frio variam entre espécies aquícolas, indicando diferentes magnitudes de controle genético. Valores moderados foram reportados no tamboril-vermelho (*Sciaenops ocellatus*), com herdabilidade de 0,20 para sobrevivência sob temperatura constante (método estático), (Saillant et al., 2008) e 0,32 para sobrevivência sob resfriamento progressivo (método dinâmico), (Ma et al., 2007). No camarão (*Fenneropenaeus chinensis*), foi estimado valor de 0,26 para temperatura no momento da morte (TAD - *Temperature at Death*), também sob método dinâmico (Wang et al., 2017). Esses resultados indicam a presença de variabilidade genética mensurável para tolerância ao frio em diferentes espécies.

Em contraste, valores baixos foram observados em outras espécies. Li et al. (2015) estimaram herdabilidade de 0,026 para sobrevivência e tempo acumulado até a morte (CDH - *Cooling Degree Hours*), no camarão-branco-do-Pacífico (*Penaeus vannamei*), utilizando o método dinâmico. De forma semelhante, Charo-

Karisa et al. (2005) relataram valores entre 0,08 e 0,09 para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), com base em temperatura no momento da morte (TAD) e tempo acumulado até a morte (CDH), também sob método dinâmico. Esses resultados reforçam que a magnitude da variabilidade genética associada à tolerância ao frio pode variar entre espécies.

O foco desta seção é a tolerância ao frio. Contudo, estimativas de herdabilidade para tolerância ao calor são apresentadas como evidência complementar da existência de variabilidade genética para resistência térmica em espécies aquícolas.

Valores de herdabilidade acima de 0,20 foram reportados em diferentes espécies, incluindo o salmão-do-Atlântico (*Salmo salar*), com valores entre 0,21 e 0,47 para temperatura máxima (CTmax/ITmax), obtidos por aquecimento progressivo (método dinâmico) (Benfey et al., 2024; Gonen et al., 2024; Ignatz et al., 2025). Na truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), os valores variaram de 0,41 para dias até a morte DTM (*Days to Mortality*) sob exposição prolongada (método estático) a 0,84 para CTmax sob aquecimento rápido (método dinâmico) (Gallardo-Hidalgo et al., 2021; Ihssen, 1986).

Valores elevados também foram observados em gambúsia-oriental (*Gambusia holbrooki*), entre 0,23 e 0,32 para temperatura em dias até a morte (DTM) sob estresse térmico agudo (método dinâmico) (Meffe et al., 1995), e em abalone (*Haliotis*), entre 0,35 e 0,42 para tolerância ao calor sob desafio térmico (método dinâmico) (Liu et al., 2022). Esses resultados reforçam que a tolerância térmica, de forma geral, possui variabilidade genética relevante em diferentes grupos taxonômicos.

Em conjunto, as estimativas de herdabilidade e as associações entre fenótipos demonstram a existência de variabilidade genética associada à tolerância térmica em espécies aquícolas. Esses resultados indicam potencial de resposta à seleção e sustentam a investigação dessa característica na espécie avaliada neste estudo.

A investigação genômica da tolerância ao frio em tambaqui tem avançado com base em evidências de que esse fenótipo apresenta variância genética aditiva suficiente para responder à seleção. Além das estimativas de herdabilidade e das

correlações genéticas, os avanços recentes em genômica têm favorecido a identificação de variantes associadas à tolerância térmica. A detecção de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) por meio de análises de associação genômica ampla (GWAS) permite localizar marcadores fortemente associados ao fenótipo de interesse, passíveis de incorporação em modelos de predição (Lagarde et al., 2023).

Diversas espécies já tiveram SNPs e genes candidatos associados à tolerância térmica, tanto ao calor quanto ao frio. No entanto, os estudos especificamente voltados à tolerância ao frio ainda são limitados. Destaca-se o trabalho conduzido em baiacu (*Takifugu obscurus*) por Han et al. (2025). Para tolerância ao calor, estudos já foram reportados em vieira-chinesa (*Chlamys farreri*) (Yu et al., 2023), black bass (*Micropterus salmoides*) (Li et al., 2024), large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) (Wu et al., 2021), salmão-do-Atlântico (*Salmo salar*) (Kim et al., 2025; Ignatz et al., 2025), linguado-oliva (*Paralichthys olivaceus*) (Hanchapola et al., 2025; Udayantha et al., 2023), northern pike (*Esox lucius*) (Jiang et al., 2022) e truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Yoshida & Yáñez, 2022).

A consolidação de QTLs e genes candidatos associados à tolerância térmica em diferentes espécies reforça o potencial das abordagens genômicas, como estudos de associação genômica ampla, para acelerar o ganho genético em populações de peixes cultivados. A avaliação dos parâmetros genéticos e a identificação de regiões genômicas associadas à tolerância ao frio na população base de tambaqui analisada nesta tese representam um passo importante para o desenvolvimento de linhagens adaptadas às baixas temperaturas típicas das regiões Sul e Sudeste do Brasil.

Esses avanços reforçam a importância da integração entre parâmetros genéticos e abordagens genômicas no desenvolvimento de estratégias de seleção voltadas à tolerância ao frio.

2.10 DEFINIÇÃO DOS FENÓTIPOS DE RESISTÊNCIA AO FRIO

A resistência ao frio pode ser avaliada por diferentes fenótipos, sendo os mais utilizados a sobrevivência binária (morto/vivo) e a característica tempo até a morte HTD (*Hours to Death*). A sobrevivência binária representa o desfecho final

do desafio térmico, enquanto o tempo até a morte corresponde ao número de dias desde o início do desafio até a ocorrência do evento (Henryon et al., 2002; Kodagoda et al., 2026). Ambos estão relacionados à resposta dos indivíduos ao estresse térmico, mas diferem quanto à natureza estatística e à forma como são incorporados nos modelos de avaliação genética (Hosmer et al., 2008).

A característica tempo até a morte (HTD) é uma variável contínua que permite quantificar a dinâmica temporal da mortalidade sob exposição ao frio. Esse fenótipo pode ser analisado por meio de modelos lineares mistos, como PBLUP e GBLUP, assumindo distribuição aproximadamente normal dos resíduos e permitindo a estimação direta de variâncias genéticas e parâmetros associados (Ødegård et al., 2006; Henryon et al., 2002; Henderson, 1975). A principal vantagem desse fenótipo é a maior quantidade de informação por indivíduo, pois incorpora o tempo até a ocorrência do evento, aumentando a sensibilidade para detectar diferenças genéticas (Ødegård et al., 2006). No entanto, esse fenótipo pode ser mais suscetível a variações ambientais e à estrutura do experimento.

Para o HTD, os componentes de variância podem ser estimados por meio de métodos baseados em máxima verossimilhança restrita (REML), amplamente utilizados na estimação de parâmetros genéticos em características quantitativas (Misztal et al., 2016).

A sobrevivência binária é uma variável categórica amplamente utilizada na avaliação da tolerância ao frio, na qual os indivíduos são classificados como mortos ou vivos ao final do período de desafio. Nesse caso, a característica é geralmente codificada como 0 para indivíduos mortos e 1 para sobreviventes, sendo estes considerados mais resistentes (Henryon et al., 2005). Por se tratar de uma variável discreta, sua análise requer modelos específicos, como os modelos limiar (*threshold*), que consideram a natureza não normal dos dados. Essa abordagem é simples e de fácil interpretação. No entanto, não considera a dinâmica temporal da mortalidade, podendo resultar em perda de informação quando comparada a características contínuas baseadas no tempo até o evento (Ødegård et al., 2006).

Para a característica sobrevivência binária, são amplamente utilizados modelos limiares (*threshold*), que consideram a natureza categórica dos dados e assumem a existência de uma variável latente contínua (*liability*), cuja expressão

fenotípica observada corresponde à classificação binária de sobrevivência (Misztal et al., 2016).

Mesmo com aplicação tradicional em estudos de resistência a patógenos, esses fenótipos são igualmente adequados para a avaliação da tolerância ao frio, uma vez que o estresse térmico também resulta em eventos de mortalidade e variação no tempo até a morte. Em estudos de resistência a doenças em peixes, tanto o tempo até a morte quanto a sobrevivência binária são amplamente utilizados como medidas de resistência em testes de desafio (Henryon et al., 2002; Henryon et al., 2005; Ødegård et al., 2006). Dessa forma, a utilização desses dois fenótipos permite explorar diferentes aspectos da resposta biológica dos indivíduos ao estresse térmico, ampliando a capacidade de inferência dos modelos genéticos.

A relação entre sobrevivência e tempo até a morte tem sido consistentemente investigada em diferentes contextos experimentais. Em salmão-do-Atlântico (*Salmo salar*), foi observada correlação fenotípica positiva entre sobrevivência e tempo até a morte ($r = 0,71$), indicando que famílias com maior sobrevivência tendem a apresentar maior tempo até a morte (Holborn et al., 2018). Resultados semelhantes foram reportados em camarão-branco-do-Pacífico (*Penaeus vannamei*), com altas correlações genéticas ($r_g > 0,8$) entre sobrevivência binária e A característica tempo até a morte (HTD), sugerindo que ambos os fenótipos capturam, em grande parte, a mesma informação genética (Ren et al., 2022).

De forma complementar, estudos em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) demonstraram alta associação genética entre esses fenótipos, indicando que a sobrevivência, além de mais simples de mensurar, pode ser utilizada de forma eficiente em programas de melhoramento, sem perda significativa de informação quando comparada ao tempo até a morte (Joshi et al., 2021).

3 REFERÊNCIAS

AGUDELO, J. F. G. *et al.* Genomic selection signatures in farmed *Colossoma macropomum* from tropical and subtropical regions in South America. *Evolutionary Applications*, v. 15, n. 4, p. 679–693, 2022.

AGUDELO, J. F. *et al.* Genetic parameters for host-response to acanthocephaliasis caused by the endoparasite *Neoechinorhynchus buttnerae* in the Amazon fish *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, v. 582, p. 740533, 2024.

AHMAD, M.; KHAN, N.; GUL, S.; ZUBERI, A.; WANG, Y. Thermal tolerance and immune competence in *Labeo rohita*: evaluating stock-specific variations for climate-resilient aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, p. 111011, 2025.

AI, C. H.; LI, B. J.; XIA, J. H. Mapping QTL for cold-tolerance trait in a GIFT-derived tilapia line by ddRAD-seq. *Aquaculture*, v. 556, p. 738273, 2022.

ALI, A.; AL-TOBASEI, R.; LOURENCO, D.; LEEDS, T.; KENNEY, B.; SALEM, M. Genome-wide identification of loci associated with growth in rainbow trout. *BMC Genomics*, v. 21, n. 1, p. 209, 2020.

ALLAL, F.; NGUYEN, N. H. Genomic selection in aquaculture species. In: *Genomic prediction of complex traits: methods and protocols*. New York: Springer, 2022. p. 469–491.

AMANAJÁS, R. D.; VAL, A. L. Thermal biology of tambaqui (*Colossoma macropomum*): general insights for aquaculture in a changing world. *Reviews in Aquaculture*, v. 15, n. 2, p. 480–490, 2023.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (ed.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: UFSM, 2013. p. 225–246.

ARIEDE, R. B. *et al.* Genetic (co)variation between resistance to *Aeromonas hydrophila* and growth in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, v. 523, p. 735225, 2020.

BAGGIO, R. A. *et al.* Hybrids between *Pseudoplatystoma corruscans* and *P. reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) previously reported in the Upper Paraná River are likely escapes from aquaculture farms. *Zoologia*, Curitiba, v. 33, n. 2, 2016.

BALDISSEROTTO, B. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. In: GOMES, L. C. (ed.). Santa Maria: UFSM, 2005. p. 303–325.

BARRÍA, A.; LÓPEZ, M. E.; YOSHIDA, G. M.; CARVALHEIRO, R.; LHORENTE, J. P.; YÁÑEZ, J. M. Population genomic structure and genome-wide linkage disequilibrium in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using dense SNP genotypes. *Frontiers in Genetics*, v. 9, p. 649, 2018.

BEITINGER, T. L.; BENNETT, W. A.; MCCAULEY, R. W. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental Biology of Fishes*, v. 58, n. 3, p. 237–275, 2000.

BENFEY, T. J.; GONEN, S.; BARTLETT, C. B.; GARBER, A. F. Thermal tolerance has high heritability in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture Reports*, v. 37, p. 102249, 2024.

BENNETT, W. A.; BEITINGER, T. L. Temperature tolerance of the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Copeia*, p. 77–87, 1997.

BENNETT, W. A.; JUDD, F. W. Comparison of methods for determining low temperature tolerance: experiments with pinfish, *Lagodon rhomboides*. *Copeia*, p. 1059–1065, 1992.

BORGES, A.; CONTE-JUNIOR, C. A.; FRANCO, R. M.; MÁRSICO, E. T.; FREITAS, M. Q. Quality Index Method (QIM) for the hybrid tambacu (*Colossoma macropomum* × *Piaractus mesopotamicus*) and the correlation among its quality parameters. *LWT – Food Science and Technology*, v. 56, n. 2, p. 432–439, 2014.

BOUDRY, P. *et al.* Current status and potential of genomic selection to improve selective breeding in the main aquaculture species of International Council for the Exploration of the Sea (ICES) member countries. *Aquaculture Reports*, v. 20, p. 100700, 2021.

CALCAGNOTTO, D.; RUSSELLO, M. A.; DESALLE, R. Hybridization and contemporary evolution in an introduced population of cichlid fishes (*Cichla* spp.) in Brazil. *Molecular Ecology*, v. 8, n. 6, p. 1071–1081, 1999.

CHAGAS, E. C. *et al.* *Neoechinorhynchus buttnerae* parasitic infection in tambaqui (*Colossoma macropomum*) on fish farms in the state of Amazonas. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 45, n. 2, p. 1–6, 2019.

CHARLESWORTH, B.; JENSEN, J. D. Effects of selection at linked sites on patterns of genetic variability. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 52, n. 1, p. 177–197, 2021.

CHARO-KARISA, H.; REZK, M. A.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. Heritability of cold tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. *Aquaculture*, v. 249, n. 1–4, p. 115–123, 2005.

CHU, T.; LIU, F.; QIN, G.; ZHAN, W.; WANG, M.; LOU, B. Transcriptome analysis of *Larimichthys polyactis* under heat and cold stress. *Cryobiology*, v. 96, p. 175–183, 2020.

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*, v. 223, n. 1–4, p. 117–128, 2003.

CORTES, J. R. *et al.* Climate-smart aquaculture: innovations and challenges in mitigating climate change impacts on fisheries and coastal agriculture. *Aquaculture and Fisheries*, 2025.

COSTA-PEREIRA, R. *et al.* Defaunation shadow on mutualistic interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 115, n. 12, p. E2673–E2675, 2018.

DA CUNHA, F. P.; DE SOUSA CARDOSO, A. C.; MERLANO, J. A. R.; DA SILVA NORNBERG, B. F.; MARINS, L. F.; JERÔNIMO, G. T.; ALMEIDA, D. V. Non-lethal molecular diagnostic for acanthocephalosis in *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, v. 519, p. 734860, 2020.

DA FONSECA, S. M. *et al.* Cryoanesthesia in tambaqui *Colossoma macropomum*: behavioral and electrocardiographic responses. *Aquaculture*, v. 582, p. 740551, 2024.

DA GAMA, L. T. *Melhoramento genético animal*. Lisboa: Escolar Editora, 2002.

DANTAS, D. P.; FLICKINGER, D. L.; COSTA, G. A.; MORAES-VALENTI, P.; VALENTI, W. C. Economic effects of production scale, use of agricultural greenhouses, and integration of tropical aquaculture species when farming in a subtropical climate. *Aquaculture International*, v. 30, n. 2, p. 547–579, 2022.

DEL PAZO, F. *et al.* Genetic diversity and structure of the commercially important native fish *Piaractus mesopotamicus* from cultured and wild fish populations: relevance for broodstock management. *Aquaculture International*, v. 29, n. 1, p. 289–305, 2021.

DO PRADO, F. D.; HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Detection of hybrids and genetic introgression in wild stocks

of two catfish species (Siluriformes: Pimelodidae): the impact of hatcheries in Brazil. *Fisheries Research*, v. 125, p. 300–305, 2012.

DOBRZYCKA-KRAHEL, A.; ROMÁN-HIDALGO, C. Can the use of aquatic non-native species across Europe mitigate their environmental impact? *Environmental Impact Assessment Review*, v. 114, p. 107932, 2025.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. *Introduction to quantitative genetics*. 4. ed. Essex: Longman, 1996.

FANTINATTI, B. E. *et al.* Integrative microRNAome analysis of skeletal muscle of *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Piaractus mesopotamicus* (pacu), and the hybrid tambacu, based on next-generation sequencing data. *BMC Genomics*, v. 22, n. 1, p. 237, 2021.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *FishStatJ – Global Aquaculture Production Database*. Rome, 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/statistics-query/en>. Acesso em: 25 nov. 2025.

FERNANDES, E. M.; DE ALMEIDA, L. C. F.; HASHIMOTO, D. T.; LATTANZI, G. R.; GERVAZ, W. R.; LEONARDO, A. F.; NETO, R. V. R. Survival of purebred and hybrid Serrasalminidae under low water temperature conditions. *Aquaculture*, v. 497, p. 97–102, 2018.

FERREIRA, C. M.; SINHORIN, V. D. G.; NETTO, G. D. V. F.; HOSHIBA, M. A.; DE ABREU, J. S. Effects of hydroxy-selenomethionine on performance, innate immune system and antioxidant defense of tambaqui (*Colossoma macropomum*) exposed to a physical stressor. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 121, p. 362–369, 2022.

FERREIRA, L. C. *et al.* Antiparasitic activity of *Mentha piperita* (Lamiaceae) essential oil against *Piscinoodinium pillulare* and its physiological effects on *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Aquaculture*, v. 512, p. 734343, 2019.

FREITAS, M. V. *et al.* Genotype by environment interaction and genetic parameters for growth traits in the Neotropical fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, v. 530, p. 735933, 2021.

GALLARDO-HIDALGO, J.; BARRÍA, A.; YOSHIDA, G. M.; YÁÑEZ, J. M. Genetics of growth and survival under chronic heat stress and trade-offs with growth- and robustness-related traits in rainbow trout. *Aquaculture*, v. 531, p. 735685, 2021.

GERKEN, A. R.; MACKAY, T. F.; MORGAN, T. J. Artificial selection on chill-coma recovery time in *Drosophila melanogaster*: direct and correlated responses to selection. *Journal of Thermal Biology*, v. 59, p. 77–85, 2016.

GIANOLA, D.; FOULLEY, J. L. Sire evaluation for ordered categorical data with a threshold model. *Genetics Selection Evolution*, v. 15, n. 2, p. 201–224, 1983.

GJEDREM, T. Breeding plans. In: GJEDREM, T. *Selection and breeding programs in aquaculture*. Berlin: Springer, 2005. p. 1–364.

GJEDREM, T.; ROBINSON, N. Advances by selective breeding for aquatic species: a review. *Agricultural Sciences*, v. 5, n. 12, p. 1152–1158, 2014.

GJEDREM, T.; RYE, M. Selection response in fish and shellfish: a review. *Reviews in Aquaculture*, v. 10, n. 1, p. 168–179, 2018.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (ed.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2018. p. 165–204.

GONEN, S.; BENFEY, T. J.; GARBER, A. F. The genomic architecture of high temperature tolerance in a year class of Atlantic salmon. *Aquaculture*, v. 578, p. 740020, 2024.

GUTIERREZ, A. P.; YÁÑEZ, J. M.; FUKUI, S.; SWIFT, B.; DAVIDSON, W. S. Genome-wide association study (GWAS) for growth rate and age at sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *PLoS ONE*, v. 10, n. 3, p. e0119730, 2015.

HAN, S.; WANG, J.; ZHANG, J.; WANG, Y.; LUO, Y.; LIU, Q.; CHEN, L. GWAS and selective sweep analysis reveal the genetic basis of cold tolerance in the domesticated pufferfish (*Takifugu obscurus*). *Aquaculture*, v. 598, p. 742018, 2025.

HANCHAPOLA, H. A. C. R. *et al.* Genome-wide association study identifies novel candidate genes linked to acute and chronic thermal stress resilience in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Genomics*, p. 111124, 2025.

HANCHAPOLA, H. A. C. R. *et al.* Genome-wide association analysis to identify novel candidate genes and genomic model optimization to predict acute low-temperature stress resilience in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, p. 101764, 2026.

HAO, Y. *et al.* Genome-wide association study reveals growth-related SNPs and candidate genes in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*, v. 577, p. 739979, 2023.

HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.; MARTINEZ, P.; PORTO-FORESTI, F. Genetic identification of F1 and post-F1 serrasalmid juvenile hybrids in Brazilian aquaculture. *PLoS ONE*, v. 9, n. 3, p. e89902, 2014.

HAYDEN, B.; PULCINI, D.; KELLY-QUINN, M.; O'GRADY, M.; CAFFREY, J.; MCGRATH, A.; MARIANI, S. Hybridisation between two cyprinid fishes in a novel habitat: genetics, morphology and life-history traits. *BMC Evolutionary Biology*, v. 10, n. 1, p. 169, 2010.

HENDERSON, C. R. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, v. 31, p. 423–447, 1975.

HENRYON, M.; BERG, P.; OLESEN, N. J.; KJÆR, T. E.; SLIERENDRECHT, W. J.; JOKUMSEN, A.; LUND, I. Selective breeding provides an approach to increase resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to the diseases enteric redmouth disease, rainbow trout fry syndrome and viral haemorrhagic septicaemia. *Aquaculture*, v. 250, n. 3–4, p. 621–636, 2005.

HENRYON, M.; JOKUMSEN, A.; BERG, P.; LUND, I.; PEDERSEN, P. B.; OLESEN, N. J.; SLIERENDRECHT, W. J. Genetic variation for growth rate, feed conversion efficiency, and disease resistance exists within a farmed population of rainbow trout. *Aquaculture*, v. 209, n. 1–4, p. 59–76, 2002.

HILSDORF, A. W. S. *et al.* The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: from Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, v. 14, n. 2, p. 993–1027, 2022.

HOGA, C. A. *et al.* Development and validation of an analytical method for the determination of 17 β -estradiol residues in muscle of tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) by LC-MS/MS and its application in samples from a fish sexual reversion study. *Journal of Chromatography B*, v. 1128, p. 121774, 2019.

HOLBORN, M. K.; ANG, K. P.; ELLIOTT, J. A. K.; POWELL, F.; BOULDING, E. G. Genome-wide association analysis for bacterial kidney disease resistance in a commercial North American Atlantic salmon (*Salmo salar*) population using a 50K SNP panel. *Aquaculture*, v. 495, p. 465–471, 2018.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S.; MAY, S. *Applied survival analysis: regression modeling of time-to-event data*. 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2008.

HOUSTON, R. D. *et al.* Harnessing genomics to fast-track genetic improvement in aquaculture. *Nature Reviews Genetics*, v. 21, n. 7, p. 389–409, 2020.

IGNATZ, E. H. *et al.* Application of genomic tools to study and potentially improve the upper thermal tolerance of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics*, v. 26, n. 1, p. 294, 2025.

IHSSEN, P. E. Selection of fingerling rainbow trout for high and low tolerance to high temperature. *Aquaculture*, v. 57, n. 1, p. 370, 1986.

ØDEGÅRD, J.; OLESEN, I.; GJERDE, B.; KLEMETSDAL, G. Evaluation of statistical models for genetic analysis of challenge test data on furunculosis resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*): prediction of field survival. *Aquaculture*, v. 259, p. 116–123, 2006.

JIANG, Y.; GUO, J.; HAISA, A.; SHEN, Y. Genome-wide association analysis of heat tolerance in the northern pike (*Esox lucius*). *Aquaculture*, v. 559, p. 738459, 2022.

JIAO, H. *et al.* Uncovering the chromatin-mediated transcriptional regulatory network governing cold stress responses in fish immune cells. *Journal of Genetics and Genomics*, 2025.

JOSHI, R.; SKAARUD, A.; ALVAREZ, A. T.; MOEN, T.; ØDEGÅRD, J. Bayesian genomic models boost prediction accuracy for survival to *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics Selection Evolution*, v. 53, n. 1, p. 37, 2021.

KASPARI, M.; CLAY, N. A.; LUCAS, J.; YANOVIK, S. P.; KAY, A. Thermal adaptation generates a diversity of thermal limits in a rainforest ant community. *Global Change Biology*, v. 21, n. 3, p. 1092–1102, 2015.

KIM, M. S. *et al.* Genome-wide association study of upper thermal tolerance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, p. 743381, 2025.

KIR, M.; SUNAR, M. C.; ALTINDAĞ, B. C. Thermal tolerance and preferred temperature range of juvenile meagre acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, v. 65, p. 125–129, 2017.

KLEINBAUM, D. G.; KLEIN, M. *Survival analysis: a self-learning text*. 3. ed. New York: Springer, 2012.

KNYTL, M.; KALOUS, L.; RYLKOVÁ, K.; CHOLEVA, L.; MERILÄ, J.; RÁB, P. Morphologically indistinguishable hybrid *Carassius* female with 156 chromosomes: a threat for the threatened crucian carp, *C. carassius* L. *PLoS ONE*, v. 13, n. 1, p. e0190924, 2018.

KODAGODA, Y. K. *et al.* Genomic prediction of survival traits for scuticociliatosis resistance in a vaccinated olive flounder cohort: comprehensive evaluation and optimization of statistical and machine learning models. *Aquaculture Reports*, v. 47, p. 103464, 2026.

KORNIENKO, Y.; NGUYEN, L.; BAUMGARTNER, S.; VATER, M.; TIEDEMANN, R.; KIRSCHBAUM, F. Intragenus F1-hybrids of African weakly electric fish (*Campylomormyrus tamandua* ♂ × *C. compressirostris* ♀) are fertile. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 206, n. 4, p. 571–585, 2020.

LAGARDE, H. *et al.* Genetic architecture of acute hyperthermia resistance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and genetic correlations with production traits. *Genetics Selection Evolution*, v. 55, p. 39, 2023.

LEGARRA, A.; REVERTER, A. Semi-parametric estimates of population accuracy and bias of predictions of breeding values and future phenotypes using the LR method. *Genetics Selection Evolution*, v. 50, n. 1, p. 53, 2018.

LEGARRA, A.; ROBERT-GRANIÉ, C.; MANFREDI, E.; ELSEN, J. M. Performance of genomic selection in mice. *Genetics*, v. 180, n. 1, p. 611–618, 2008.

LI, W.; LUAN, S.; LUO, K.; SUI, J.; XU, X.; TAN, J.; KONG, J. Genetic parameters and genotype by environment interaction for cold tolerance, body weight and survival of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* at different temperatures. *Aquaculture*, v. 441, p. 8–15, 2015.

LI, X. *et al.* Genome-wide association analysis reveals the genetic sites of heat resistance in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, v. 590, p. 741025, 2024.

LIANG, F. *et al.* Construction of a genome-wide linkage map and QTL mapping for growth and hypoxia tolerance traits in Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*). *Genomics*, p. 111157, 2025.

LIRA, L. V. *et al.* Quantitative genetic variation for resistance to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in the Neotropical fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Reports*, v. 17, p. 100338, 2020.

LIU, C. *et al.* Deciphering the genetic basis and genomic prediction of heat tolerance trait from whole-genome resequencing in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *Aquaculture*, v. 598, p. 741951, 2025.

LIU, J. *et al.* Genomic selection applications can improve the environmental performance of aquatics: a case study on the heat tolerance of abalone. *Evolutionary Applications*, v. 15, n. 6, p. 992–1001, 2022.

LUTTERSCHMIDT, W. I.; HUTCHISON, V. H. The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Canadian Journal of Zoology*, v. 75, n. 10, p. 1553–1560, 1997.

LYNCH, M.; WALSH, B. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sunderland: Sinauer Associates, 1998.

MA, L.; SAILLANT, E.; GATLIN III, D. M.; NEILL, W. H.; VEGA, R. R.; GOLD, J. R. Heritability of cold tolerance in red drum. *North American Journal of Aquaculture*, v. 69, n. 4, p. 381–387, 2007.

MACIEL-HONDA, P. O. *et al.* First record of *Neoechinorhynchus buttnerae* and *Piscinoodinium pillulare* infection in *Colossoma macropomum* in the state of Tocantins, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 32, p. e013622, 2022.

MADEIRA, C.; MENDONÇA, V.; LEAL, M. C.; FLORES, A. A.; CABRAL, H. N.; DINIZ, M. S.; VINAGRE, C. Thermal stress, thermal safety margins and acclimation capacity in tropical shallow waters: an experimental approach testing multiple end-points in two common fish. *Ecological Indicators*, v. 81, p. 146–158, 2017.

MANSO, S. C.; GARCIA, B. F.; MASTROCHIRICO-FILHO, V. A.; PORTO-FORESTI, F.; YÁÑEZ, J. M.; HASHIMOTO, D. T. Genomic predictions for resistance to *Aeromonas hydrophila* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*, v. 582, p. 740553, 2024.

MARECO, E. A. *et al.* Transcriptomic insight into the hybridization mechanism of the tambacu, a hybrid from *Colossoma macropomum* and *Piaractus mesopotamicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, v. 45, p. 101041, 2023.

MASCALI, F. C. *et al.* Development and validation of sex-specific markers in *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, v. 558, p. 738374, 2022.

MASTROCHIRICO-FILHO, V. A. *et al.* Assessing genetic diversity for a prebreeding program in *Piaractus mesopotamicus* by SNPs and SSRs. *Genes*, v. 10, n. 9, p. 668, 2019.

MASTROCHIRICO-FILHO, V. A. *et al.* Evaluating the genetic diversity in farmed populations of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Brazil using SNP markers. *Aquaculture and Fisheries*, 2025.

MATOS, M. C. *Associação genômica ampla para características reprodutivas em bovinos da raça Nelore*. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MAZINI, B. S. M.; MARTINS, G. P.; DE CASTRO MENEZES, L. L.; GUIMARÃES, I. G. Nutritional feed additives reduce the adverse effects of transport stress in the immune system of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Fish and Shellfish Immunology Reports*, v. 3, p. 100051, 2022.

MEBRATU, A. T.; VANHANDSAEME, L.; ASFAW, Y. T.; MERCKX, W.; JANSSENS, G. P. J. Exploring fibrous ingredients for fish: the case of feeding sugar beet pulp to tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Heliyon*, v. 9, n. 12, 2023.

MEFFE, G. K.; WEEKS, S. C.; MULVEY, M.; KANDL, K. L. Genetic differences in thermal tolerance of eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) from ambient and thermal ponds. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 52, n. 12, p. 2704–2711, 1995.

MELO, N.; DE SOUZA, S. P.; KONIG, I.; DE JESUS PAULA, D. A.; FERREIRA, I. S.; LUZ, R. K.; MURGAS, L. D. S. Sensitivity of different organs and tissues as biomarkers of oxidative stress in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) submitted to fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 291, p. 111595, 2024.

MEROLA, N.; PAGÁN-FONT, F. A. Pond culture of the Amazon fish tambaqui, *Colossoma macropomum*: a pilot study. *Aquacultural Engineering*, v. 7, n. 2, p. 113–125, 1988.

MEUWISSEN, T. H.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, v. 157, n. 4, p. 1819–1829, 2001.

MIRANDA, S. *et al.* The effects of water temperature and hybridization on embryonic development and gametogenesis of two species of Amazonian tetra. *Theriogenology Wild*, v. 3, p. 100051, 2023.

MISZTAL, I. Inexpensive computation of the inverse of the genomic relationship matrix in populations with small effective population size. *Genetics*, v. 202, p. 401–409, 2016.

MORA, C.; MAYA, M. F. Effect of the rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes. *Journal of Thermal Biology*, v. 31, n. 4, p. 337–341, 2006.

MOYANO, M. *et al.* Linking individual physiological indicators to the productivity of fish populations: a case study of Atlantic herring. *Ecological Indicators*, v. 113, p. 106146, 2020.

NETO, R. V. R. *et al.* Performance of tambacu hybrid (♂ *Piaractus mesopotamicus* × ♀ *Colossoma macropomum*) and its parental pacu (*Piaractus mesopotamicus*) evaluated in cages under different feeding programmes. *Aquaculture Reports*, v. 17, p. 100355, 2020.

NING, X. *et al.* Genome-wide association study reveals *E2F3* as the candidate gene for scallop growth. *Aquaculture*, v. 511, p. 734216, 2019.

ØDEGÅRD, J.; BARANSKI, M.; GJERDE, B.; GJEDREM, T. Methodology for genetic evaluation of disease resistance in aquaculture species: challenges and future prospects. *Aquaculture Research*, v. 42, p. 103–114, 2011.

ORTEGA, M. S. *et al.* Association of single nucleotide polymorphisms in candidate genes previously related to genetic variation in fertility with phenotypic measurements of reproductive function in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v. 100, n. 5, p. 3725–3734, 2017.

PACHER, K. *et al.* Thermal tolerance in an extremophile fish from Mexico is not affected by environmental hypoxia. *Biology Open*, v. 13, n. 2, p. bio060223, 2024.

PALAIOKOSTAS, C.; KOCOUR, M.; PRCHAL, M.; HOUSTON, R. D. Accuracy of genomic evaluations of juvenile growth rate in common carp (*Cyprinus carpio*) using genotyping by sequencing. *Frontiers in Genetics*, v. 9, p. 82, 2018.

PAULINO, R. R. *et al.* Effect of dietary oil source on mitigating oxidative stress in tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles subjected to acute cold stress. *Aquaculture International*, v. 34, n. 2, p. 68, 2026.

PEIXE BR. *Anuário PeixeBR 2026: panorama da aquicultura brasileira*. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, 2026.

PERNET, F.; BROWMAN, H. I. The future is now: marine aquaculture in the Anthropocene. *ICES Journal of Marine Science*, v. 78, n. 1, p. 315–322, 2021.

PIRES, L. B. et al. *Colossoma macropomum* females can reproduce more than once in the same reproductive period. *Animal Reproduction Science*, v. 196, p. 138–142, 2018.

PUJOL, B. et al. The missing response to selection in the wild. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 33, n. 5, p. 337–346, 2018.

QU, S.; LU, S.; LIU, Y.; LI, M.; CHEN, S. Accurate genomic selection using low-density SNP panels preselected by maximum likelihood estimation. *Aquaculture*, v. 579, p. 740154, 2024.

RANASINGHE, N.; HUANG, Y. R.; WU, W. H.; LEE, S. S.; HO, C. W.; LEE, T. H.; HSIAO, K. Y. Environmental salinity differentiates responses to acute hypothermal stress in milkfish. *Science of the Total Environment*, v. 954, p. 176643, 2024.

REIS NETO, R. V.; YOSHIDA, G. M.; LHORENTE, J. P.; YÁÑEZ, J. M. Genome-wide association analysis for body weight identifies candidate genes related to development and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Genetics and Genomics*, v. 294, n. 3, p. 563–571, 2019.

REIS NETO, R. V. et al. Interrelationships between morphometric variables and rounded fish body yields evaluated by path analysis. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 41, n. 7, p. 1576–1582, 2012.

REN, S.; MATHER, P. B.; TANG, B.; HURWOOD, D. A. Insight into selective breeding for robustness based on field survival records: new genetic evaluation of survival traits in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) breeding line. *Frontiers in Genetics*, v. 13, p. 1018568, 2022.

SAILLANT, E.; WANG, X.; MA, L.; GATLIN III, D. M.; VEGA, R. R.; GOLD, J. R. Genetic effects on tolerance to acute cold stress in red drum, *Sciaenops ocellatus* L. *Aquaculture Research*, v. 39, n. 13, p. 1393–1398, 2008.

SANTOS, F. A. et al. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): importance of stocking density and classification. *Aquaculture*, v. 534, p. 736274, 2021.

SENA, M. C. et al. Maximum storage time of refrigerated blood and frozen plasma samples from tambaqui, *Colossoma macropomum*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 273, p. 110969, 2024.

SHIOTSUKI, L.; CARDOSO, F. F.; ALBUQUERQUE, L. G. Method for the estimation of genetic merit of animals with uncertain paternity under Bayesian inference. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v. 135, n. 2, p. 116–123, 2018.

SILVA, G. F.; SHIOTSUKI, L.; DIAS, L. T.; TEIXEIRA, R. A. Estimativa de parâmetros genéticos para ganho de peso e comprimento em tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Brazilian Journal of Biology*, v. 83, p. e277423, 2023.

SODELAND, M.; GAARDER, M.; MOEN, T.; THOMASSEN, M.; KJØGLUM, S.; KENT, M.; LIEN, S. Genome-wide association testing reveals quantitative trait loci for fillet texture and fat content in Atlantic salmon. *Aquaculture*, v. 408–409, p. 169–174, 2013.

SONG, G.; LIU, R.; CHEN, S.; LI, Q.; CUI, Z.; LONG, Y. Comparative transcriptomic and epigenomic analyses to identify cold resistance-associated genes and disclose the regulatory mechanisms in tilapias. *Aquaculture*, v. 587, p. 740858, 2024.

SORKHEH, K.; MALYSHEVA-OTTO, L. V.; WIRTHENSOHN, M. G.; TARKESH-ESFAHANI, S.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. Linkage disequilibrium, genetic association mapping and gene localization in crop plants. *Genetics and Molecular Biology*, v. 31, p. 805–814, 2008.

SOUZA, A. M.; CAMPECHE, D. F. B.; MORAES, G.; MELO, F. V. S. T.; CRUZ NETO, M. A.; MELO, J. F. B. Replacing cornmeal with mango meal in diets for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*: growth and metabolic parameters. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 44, n. 3, p. 1–7, 2018.

ST. LOUIS, T. J.; PEDROZA FILHO, M. X.; FLORES, R. M. V. Consumption frequencies, determinants, and habits of aquaculture species in Brazil. *Aquaculture International*, v. 30, n. 2, p. 919–936, 2022.

SUKHAVACHANA, S.; SENANAN, W.; TUNKIJJANUKIJ, S.; POOMPUANG, S. Improving genomic prediction accuracy for harvest traits in Asian seabass (*Lates calcarifer*, Bloch 1790) via marker selection. *Aquaculture*, v. 550, p. 737851, 2022.

TANG, H. et al. Estimation of genetic parameters for upper thermal tolerance and growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*, v. 598, p. 742073, 2025.

UDAYANTHA, H. M. V. et al. Identification of candidate variants and genes associated with temperature tolerance in olive flounders by genome-wide association study (GWAS). *Aquaculture*, v. 576, p. 739858, 2023.

VAL, A. L.; OLIVEIRA, A. M. *Colossoma macropomum*—a tropical fish model for biology and aquaculture. *Journal of Experimental Zoology Part A*, v. 335, p. 761–770, 2021.

VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, v. 19, p. 100611, 2021.

VALLADÃO, G. M. R. et al. Challenges in the control of acanthocephalosis in aquaculture: special emphasis on *Neoechinorhynchus buttnerae*. *Reviews in Aquaculture*, v. 12, n. 3, p. 1360–1372, 2020.

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, v. 10, n. 2, p. 351–369, 2018.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, v. 91, n. 11, p. 4414–4423, 2008.

VANRADEN, P. M.; O'CONNELL, J. R.; WIGGANS, G. R.; WEIGEL, K. A. Genomic evaluations with many more genotypes. *Genetics Selection Evolution*, v. 43, n. 1, p. 1–11, 2011.

VARELA, E. S. et al. A high-density linkage map and sex-linked markers for the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. *BMC Genomics*, v. 22, n. 1, p. 709, 2021.

VETEŠNÍK, L.; POJEZDAL, L.; RESCHOVÁ, S.; ŠIMKOVÁ, A. Specific anti-SVCV antibodies in hybrids of common carp (*Cyprinus carpio*) and gibel carp (*Carassius gibelio*) reflect heterosis advantage and genetic breakdown. *Aquaculture*, v. 593, p. 741320, 2024.

WANG, M. et al. Evaluation of genetic parameters for growth and cold tolerance traits in *Fenneropenaeus chinensis* juveniles. *PLoS ONE*, v. 12, n. 8, p. e0183801, 2017.

WOYNÁROVICH, A.; VAN ANROOY, R. *Field guide to the culture of tambaqui (Colossoma macropomum, Cuvier, 1816)*. Rome: FAO, 2019. (FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, n. 624).

WU, Y. et al. GWAS identified candidate variants and genes associated with acute heat tolerance of large yellow croaker. *Aquaculture*, v. 540, p. 736696, 2021.

YANAR, M.; ERDOĞAN, E.; KUMLU, M. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish species. *Aquaculture*, v. 501, p. 382–386, 2019.

YÁÑEZ, J. M.; HOUSTON, R. D.; NEWMAN, S. Genetics and genomics of disease resistance in salmonid species. *Frontiers in Genetics*, v. 5, p. 415, 2014.

YAO, Y. et al. A genome-wide association study of growth traits in “Green Pacific hybrid abalone” (*Haliotis discus hannai* ♀ × *H. fulgens* ♂). *Aquaculture*, v. 601, p. 742225, 2025.

YOSHIDA, G. M.; YÁÑEZ, J. M. Increased accuracy of genomic predictions for growth under chronic thermal stress in rainbow trout by prioritizing variants from GWAS using imputed sequence data. *Evolutionary Applications*, v. 15, n. 4, p. 537–552, 2022.

YOSHIDA, G. M.; BANGERA, R.; CARVALHEIRO, R.; CORREA, K.; FIGUEROA, R.; LHORENTE, J. P.; YÁÑEZ, J. M. Genomic prediction accuracy for resistance against *Piscirickettsia salmonis* in farmed rainbow trout. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 8, n. 2, p. 719–726, 2018.

YOSHIDA, G. M.; LHORENTE, J. P.; CORREA, K.; SOTO, J.; SALAS, D.; YÁÑEZ, J. M. Genome-wide association study and cost-efficient genomic predictions for growth and fillet yield in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 9, n. 8, p. 2597–2607, 2019.

YU, H. et al. Deciphering the genetic basis and prediction of genomic estimated breeding values for heat tolerance in Zhikong scallop (*Chlamys farreri*). *Aquaculture*, v. 565, p. 739090, 2023.

ZHANG, W. et al. Estimation of genetic parameters for the alkalinity tolerance trait in *Urechis unicinctus*. *Aquaculture Reports*, v. 44, p. 103018, 2025.

ZHU, W. et al. Rising floor and dropping ceiling: organ heterogeneity in response to cold acclimation of the largest extant amphibian. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 289, n. 1984, 2022.

4 OBJETIVOS

Verificar a possibilidade de obtenção de ganho genético por seleção para tolerância a baixas temperaturas em uma população base de tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando abordagens quantitativas e genômicas.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar componentes de (co)variância e parâmetros genéticos para resistência a baixas temperaturas (sobrevivência), comparando abordagens quantitativas e genômicas em uma população base de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetida a um desafio de quedas sucessivas de temperatura.
- Comparar a precisão de métodos de avaliação genética baseados em pedigree com abordagens de predição genômica utilizando polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de alta densidade.
- Realizar um estudo de associação genômica ampla (GWAS) para resistência a baixas temperaturas (sobrevivência) em uma população base de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetida a um desafio de quedas sucessivas de temperatura.
- Identificar, nas regiões genômicas de destaque, genes potencialmente associados à resistência a baixas temperaturas por meio de análise de similaridade.

**CAPÍTULO 2 – PARÂMETROS GENÉTICOS E
ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA
(GWAS) PARA CARACTERÍSTICAS DE
TOLERÂNCIA A BAIXAS TEMPERATURAS EM
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

RESUMO

A tolerância ao frio é uma característica de importância estratégica para o melhoramento genético do tambaqui (*Colossoma macropomum*), especialmente em regiões sujeitas a baixas temperaturas. No entanto, sua base genética ainda é pouco compreendida, limitando o desenvolvimento de estratégias de seleção. Neste capítulo, foram estimados parâmetros genéticos e realizadas análises de associação genômica ampla (GWAS) para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária em uma população de tambaqui submetida a desafio de baixas temperaturas, com o objetivo de caracterizar a base genética da tolerância ao frio, avaliar o potencial da informação genômica na predição dos valores genéticos e identificar regiões genômicas associadas aos fenótipos avaliados. Os parâmetros genéticos foram estimados por modelos animais mistos utilizando informações de pedigree e genômicas, e as análises de GWAS foram conduzidas pelo procedimento MLMA-LOCO. As estimativas de herdabilidade indicaram variabilidade genética moderada para as características avaliadas, e a correlação genética entre HTD e sobrevivência binária foi alta e positiva ($0,99 \pm 0,05$), evidenciando que ambos os fenótipos representam a mesma base genética da resposta ao frio. O GBLUP apresentou maior acurácia preditiva que o PBLUP, demonstrando o potencial da informação genômica para aumentar a eficiência da seleção. As análises de GWAS revelaram arquitetura genética predominantemente poligênica, caracterizada pela contribuição conjunta de múltiplas regiões genômicas de pequeno a moderado efeito. Foram identificados SNPs sugestivamente associados aos fenótipos avaliados e genes candidatos relacionados à resposta ao estresse térmico, metabolismo energético, homeostase celular, sinalização intracelular e resposta imune. Em conjunto, os resultados demonstram que a tolerância ao frio em tambaqui apresenta variabilidade genética suficiente para responder à seleção e que a informação genômica pode aumentar a acurácia da predição dos valores genéticos. A integração entre genética quantitativa e análises de associação genômica amplia a compreensão da arquitetura genética da característica e fornece bases para estratégias de seleção genômica em programas de melhoramento da espécie.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*; tolerância ao frio; parâmetros genéticos; herdabilidade; GBLUP; GWAS; arquitetura genética; seleção genômica.

ABSTRACT

Cold tolerance is a trait of strategic importance for the genetic improvement of tambaqui (*Colossoma macropomum*), particularly in regions exposed to low temperatures. However, its genetic basis remains poorly understood, limiting the development of effective breeding strategies. In this chapter, genetic parameters were estimated and genome-wide association analyses (GWAS) were performed for hours to death (HTD) and binary survival in a tambaqui population subjected to a low-temperature challenge. The objectives were to characterize the genetic basis of cold tolerance, evaluate the potential of genomic information to improve the prediction of breeding values, and identify genomic regions associated with the evaluated phenotypes. Genetic parameters were estimated using mixed animal models based on pedigree and genomic information, whereas GWAS was performed using the MLMA-LOCO procedure. Heritability estimates indicated moderate genetic variability for the evaluated traits, and the genetic correlation between HTD and binary survival was high and positive (0.99 ± 0.05), indicating that both phenotypes capture essentially the same genetic basis underlying the response to cold stress. In addition, GBLUP showed higher predictive accuracy than PBLUP, demonstrating the potential of genomic information to improve selection efficiency. Genome-wide association analyses revealed a predominantly polygenic genetic architecture, characterized by the joint contribution of multiple genomic regions with small to moderate effects. Suggestively associated SNPs were identified, as well as candidate genes involved in biological processes related to thermal stress response, energy metabolism, cellular homeostasis, intracellular signaling, and immune response. Overall, the results demonstrate that cold tolerance in tambaqui exhibits sufficient genetic variability to respond to selection and that genomic information can improve the accuracy of breeding value prediction. The integration of quantitative genetics and genome-wide association analyses expands the understanding of the genetic architecture underlying this trait and provides a scientific basis for the implementation of genomic selection strategies in tambaqui breeding programs.

Keywords: *Colossoma macropomum*; cold tolerance; genetic parameters; heritability; GBLUP; GWAS; genetic architecture; genomic selection.

1 INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma das principais espécies nativas da aquicultura brasileira, destacando-se pelo rápido crescimento, rusticidade, elevado desempenho produtivo e importância econômica para o setor aquícola nacional (Wojnárovich e Van Anrooy, 2019; Hilsdorf et al., 2022; Val e De Oliveira, 2021; Guimarães et al., 2024). Apesar de seu elevado potencial produtivo, a espécie apresenta baixa tolerância a temperaturas reduzidas, o que limita a expansão de seu cultivo para regiões subtropicais, como o Sul e o Sudeste do Brasil, onde episódios de baixas temperaturas comprometem o desempenho produtivo e aumentam a mortalidade dos animais (Campos et al., 2015; Agudelo et al., 2022; Fernandes et al., 2018; Neto et al., 2020).

Como alternativa para reduzir os impactos das baixas temperaturas, a utilização de híbridos interespecíficos, especialmente o tambacu, tem sido adotada em pisciculturas comerciais (Fernandes et al., 2018; Lira et al., 2020; Del Pazo et al., 2021). Embora a hibridação possa proporcionar combinações favoráveis de características produtivas e adaptativas, essa estratégia difere de programas de melhoramento baseados na seleção contínua dentro de populações de tambaqui. A manutenção dessas combinações genéticas ao longo das gerações pode ser comprometida pelos processos de segregação e recombinação, dificultando o estabelecimento de linhagens geneticamente estáveis e a obtenção de ganhos genéticos permanentes (Baggio et al., 2016; Hayden et al., 2010; Reis Neto et al., 2020; Knytl et al., 2018; Vetešník et al., 2024; Dobrzycka Krahel e Román-Hidalgo, 2025).

Nesse contexto, o melhoramento genético constitui uma estratégia sustentável para o desenvolvimento de populações de tambaqui mais tolerantes ao frio, permitindo atuar diretamente sobre a variabilidade genética da característica e reduzir perdas produtivas associadas ao estresse térmico (Han et al., 2025). Entretanto, a implementação de programas de seleção depende da existência de variabilidade genética suficiente para a característica de interesse e da compreensão de sua arquitetura genética.

A estimação de parâmetros genéticos, como herdabilidade, componentes de variância, covariância e correlações genéticas, permite quantificar a contribuição

da variabilidade genética para a expressão fenotípica e avaliar o potencial de resposta à seleção (Charlesworth e Jensen, 2022; Gjedrem et al., 2012; Gheyas et al., 2009; Jiao et al., 2025; Yanar et al., 2019). Paralelamente, a incorporação de informações genômicas tem ampliado a capacidade de predição dos valores genéticos, uma vez que marcadores moleculares permitem caracterizar com maior precisão as relações genéticas entre os indivíduos. Essa abordagem pode aumentar a acurácia da seleção, especialmente para características de difícil mensuração ou que exigem a exposição dos animais a condições desafiadoras, como a tolerância ao frio (Gutierrez et al., 2018; Yoshida e Yáñez, 2022).

Embora a estimação de parâmetros genéticos permita quantificar a contribuição global da variância genética para a expressão fenotípica e estimar o potencial de resposta à seleção, essa abordagem não identifica quais regiões do genoma contribuem para a variação observada. Nesse sentido, as análises de associação genômica ampla (GWAS) possibilitam identificar polimorfismos e regiões genômicas associados aos fenótipos, estimar os efeitos dos marcadores e investigar genes candidatos potencialmente envolvidos nos mecanismos biológicos relacionados à tolerância térmica (Han et al., 2025). Em espécies aquícolas, essa abordagem tem contribuído para a compreensão da arquitetura genética de características relacionadas à sobrevivência, adaptação e resposta a condições térmicas adversas, fornecendo informações relevantes para o desenvolvimento de estratégias de seleção genômica (Wu et al., 2021; Jiang et al., 2022; Yoshida e Yáñez, 2022; Yu et al., 2023; Udayantha et al., 2023; Li et al., 2024; Kim et al., 2025; Ignatz et al., 2025).

Assim, a genética quantitativa e a genômica fornecem informações complementares sobre a base genética da tolerância ao frio. Enquanto a estimação de parâmetros genéticos permite quantificar a magnitude da variabilidade genética, estimar a herdabilidade e avaliar o potencial de resposta à seleção, as análises genômicas possibilitam aprimorar a predição dos valores genéticos e identificar regiões do genoma associadas à expressão da característica. A integração dessas abordagens permite investigar a tolerância ao frio em diferentes níveis, desde a quantificação da variabilidade genética até a identificação de marcadores e genes candidatos potencialmente envolvidos nos mecanismos biológicos da resposta ao estresse térmico.

Dessa forma, este capítulo teve como objetivo caracterizar a base genética da tolerância ao frio em uma população de tambaqui submetida a desafio de baixas temperaturas, por meio da estimação de parâmetros genéticos, da comparação entre estratégias de predição baseadas em pedigree e informações genômicas e da identificação de regiões genômicas associadas às características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária. Os resultados obtidos fornecem subsídios para a compreensão da arquitetura genética da tolerância ao frio e para o desenvolvimento de estratégias de seleção genômica aplicadas ao melhoramento genético da espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Formação da população experimental

Foram produzidas 35 famílias de tambaqui (*Colossoma macropomum*) utilizando reprodutores mantidos pela Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional de Pariquera-Açu, e pela Embrapa Pesca e Aquicultura, cujos reprodutores pertencem à população-base do programa de melhoramento genético descrita por Ataides (2022). Destas, 4 famílias foram produzidas na APTA e 31 na Embrapa Pesca e Aquicultura. As reproduções ocorreram em janeiro de 2025, com intervalo aproximado de 10 dias entre os grupos produzidos pelas duas instituições. As combinações parentais utilizadas encontram-se apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Combinações parentais utilizadas na formação da população experimental de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Família (ID)	Tag_fêmea	Tag_macho
F01 (E)	54303_F14	36876_M05
F02 (E)	54303_F14	31789_M12
F03 (E)	36879_F10	42756_M17
F04 (E)	36879_F10	49658_M13
F05 (E)	44279_F07	31565_M10
F06 (E)	44279_F07	36894_M08
F07 (E)	37386_F08	38956_M20
F08 (E)	37386_F08	42627_M03
F09 (E)	37386_F08	31789_M12
F10 (E)	37386_F08	79244_M16
F11 (E)	34041_F09	42579_M04

F12 (E)	60707_F19	46791_M32
F13 (E)	60667_F28	34760_M26
F14 (E)	60667_F28	46791_M32
F15 (E)	60667_F28	57212_M27
F16 (E)	14902_F27	57212_M27
F17 (E)	14902_F27	46791_M32
F18 (E)	42363_F18	15777_M24
F19 (E)	42363_F18	57212_M27
F20 (E)	44757_F26	57212_M27
F21 (E)	44757_F26	23225_M21
F22 (E)	54787_F22	42038_M28
F23 (E)	54787_F22	46791_M32
F24 (E)	54787_F22	53312_M22
F25 (E)	44757_F26	53312_M22
F26 (E)	43368_F20	15738_M33
F27 (E)	43368_F20	22812_M23
F28 (E)	60707_F19	15017_M25
F29 (E)	67497_F23	23225_M21
F30 (E)	14902_F27	43979_M31
F31 (E)	60707_F19	04403_M01
F32 (A)	04230_0FR	04266_0MR
F33 (A)	04230_0FR	04272_0MR
F34 (A)	04230_0FR	04226_0MR
F35 (A)	04230_0FR	04232_0MR

(E) = famílias produzidas na Embrapa Pesca e Aquicultura; (A) = famílias produzidas na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA).

Considerando as combinações parentais apresentadas na Tabela 1, a população experimental foi composta por 12 grupos de meios-irmãos maternos e 5 grupos de meios-irmãos paternos. Apenas a família F11 foi completamente isolada, sem compartilhamento de parentais com os demais acasalamentos.

As reproduções foram realizadas por indução hormonal utilizando extrato de hipófise de carpa, conforme protocolo descrito por Criscuolo-Urbinati et al. (2012). As fêmeas receberam duas doses hormonais (0,5 e 5,0 mg kg⁻¹), enquanto os machos receberam dose única de 2,5 mg kg⁻¹. Após o período de latência, os ovócitos foram obtidos por extrusão manual, sendo posteriormente realizada a fertilização artificial. Os embriões permaneceram em incubadoras cônicas de fibra de vidro com capacidade de 60 L, mantendo-se a identificação das famílias durante o período embrionário e a fase inicial de larvicultura.

Após três dias de larvicultura inicial, as famílias produzidas na APTA foram transferidas para um viveiro escavado comum, formando um único pool de larvas. As famílias produzidas na Embrapa permaneceram separadas durante a fase inicial de alevinagem e foram agrupadas posteriormente durante o transporte para São Paulo.

Os animais passaram a ser criados em tanques escavados com área aproximada de 200 m², profundidade média de 1,50 m e abastecimento contínuo de água, com vazão aproximada de 30 L min⁻¹. Os animais da APTA foram mantidos em um único tanque, enquanto os provenientes da Embrapa foram distribuídos em dois tanques distintos. Como consequência da formação dos pools, a identificação familiar individual deixou de ser mantida durante a fase de crescimento, sendo a atribuição das famílias e a reconstrução do pedigree realizadas posteriormente por meio de marcadores moleculares obtidos após a genotipagem dos indivíduos.

Durante os estágios iniciais de desenvolvimento, as larvas foram alimentadas seis vezes ao dia com ração contendo 52% de proteína bruta (100–800 µm). Na fase de alevinagem, foram utilizadas dietas comerciais com 40% de proteína bruta (1,2 mm). Durante a fase de crescimento, os animais receberam ração comercial contendo 32% de proteína bruta, fornecida duas vezes ao dia.

Após atingirem peso corporal médio de 70,00 ± 31,48 g (média ± desvio-padrão), os animais foram identificados individualmente com microchips do tipo PIT-tag (*Passive Integrated Transponder*), implantados na cavidade abdominal sob anestesia. Durante o procedimento de identificação individual, foram coletadas amostras de nadadeira caudal para extração de DNA e análises genômicas. Após a biometria e identificação individual, os animais foram transportados para o Laboratório de Desafios às Mudanças Climáticas (LDMC).

2.2 Teste de tolerância a baixas temperaturas

Após a identificação individual, os animais foram transportados para o Laboratório de Desafios às Mudanças Climáticas (LDMC) da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR/UNESP). O laboratório conta com um sistema de recirculação de água composto por oito caixas de polietileno com capacidade de 500 L cada, conectadas a um reservatório central, bomba de

recirculação de 0,5 CV, filtro de areia com capacidade para 50 kg de material filtrante, aquecedor elétrico e um chiller industrial de 20.000 BTUs (Evacon®, Brasil), permitindo o controle contínuo da temperatura da água durante todo o período experimental. O monitoramento térmico foi realizado por meio de termômetros digitais instalados no sistema. Após a chegada ao laboratório, os animais foram distribuídos entre as oito unidades experimentais para o início do período de adaptação.

O desafio térmico iniciou-se com sete dias de adaptação dos indivíduos à temperatura de 28 °C. Após esse período, a temperatura da água foi reduzida gradualmente à taxa aproximada de 1 °C por dia até atingir 11 °C, conforme protocolo adaptado de Jiang et al., (2022). Durante todo o experimento, os animais foram monitorados diariamente para registro dos fenótipos.

Com base nos registros obtidos durante o desafio térmico, foram definidas as características sobrevivência binária e tempo até a morte em horas, HTD (*Hours to Death*). O HTD foi calculado individualmente como o intervalo, em horas, entre o início da redução térmica e a morte de cada animal, conforme descrito por Yoshida e Yáñez (2022). A sobrevivência binária foi codificada como 0 para indivíduos mortos durante o período experimental e 1 para indivíduos sobreviventes ao final do desafio.

Foram removidos 10 indivíduos com registros de HTD inferiores a 480 horas, correspondentes a mortalidades ocorridas antes da fase crítica de resfriamento. Esses registros foram considerados não representativos da resposta fisiológica específica ao frio e, portanto, não foram incluídos nas análises subsequentes. Após esse procedimento, a população final utilizada nas análises foi composta por 786 indivíduos.

Adicionalmente, foi construída uma curva acumulada de sobrevivência utilizando os registros de HTD, com o objetivo de descrever a dinâmica de mortalidade e sobrevivência dos indivíduos ao longo do desafio térmico experimental.

2.3 Extração de DNA

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de amostras de sangue e, quando necessário, de fragmentos de nadadeira caudal dos peixes avaliados e de seus respectivos parentais. As amostras de nadadeira foram utilizadas quando as amostras de sangue não estavam disponíveis ou apresentavam qualidade insuficiente para extração. O DNA foi obtido pelo método de precipitação salina (*salting-out*), utilizando tampão TNES, conforme protocolo adaptado de Miller et al. (1988). O procedimento incluiu lise celular, digestão com proteinase K e RNase A, precipitação das proteínas com NaCl 5 M e recuperação do DNA por precipitação com isopropanol, seguida de lavagem em etanol 70% e eluição em tampão TE ou água ultrapura.

A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1%, enquanto a pureza foi analisada por espectrofotometria em NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific), considerando as razões de absorbância A260/A280 e A260/A230. A quantificação foi realizada em fluorímetro Qubit®, utilizando o Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen). Após a avaliação de qualidade e a padronização das concentrações, as amostras foram armazenadas em temperatura adequada até o envio e posteriormente encaminhadas para genotipagem pela Thermo Fisher Scientific, em Austin, Estados Unidos.

2.4 Processamento dos dados genômicos e reconstrução do pedigree

Os dados genotípicos foram obtidos utilizando o painel Axiom® SerraSNP Tambaqui (~30K SNPs), desenvolvido para serrasalmídeos por Mastrochirico Filho et al. (2021). Foram genotipados os animais submetidos ao desafio térmico e seus respectivos parentais. O painel original, composto por 29.575 SNPs, foi submetido aos procedimentos de controle de qualidade e padronização dos dados. Posteriormente, os marcadores foram ancorados ao genoma de referência de tambaqui para obtenção das coordenadas físicas utilizadas nas análises subsequentes.

Devido à formação de pools de larvas provenientes de diferentes famílias durante a fase de crescimento, tornou-se necessário reconstruir as relações de parentesco entre os animais avaliados utilizando informações genômicas. Para isso, foi conduzida uma análise de atribuição parental no software CERVUS versão

3.0.7, utilizando um painel de 775 SNPs independentes selecionados após controle de qualidade, filtragem por frequência alélica mínima e poda por desequilíbrio de ligação ($MAF \geq 0,20$; $r^2 < 0,20$).

As atribuições de parentesco foram realizadas por máxima verossimilhança, utilizando os critérios de confiança strict (95%) e relaxed (80%), conforme descrito por Kalinowski et al. (2007). Foram mantidas apenas as atribuições compatíveis com as combinações parentais registradas durante a formação das famílias experimentais.

As análises permitiram a reconstrução genética de 25 famílias da população experimental com pedigree completo, possibilitando a identificação simultânea dos parentais maternos e paternos de 773 progênies (Tabela 2). Essas progênies foram utilizadas nas análises subsequentes relacionadas à tolerância ao frio.

Tabela 2 – Reconstrução do Pedigree e desempenho fenotípico das famílias submetidas ao desafio térmico experimental.

Família	Animais	Sobreviventes	Mortos	Sobrevivência (%)	HTD (h)
F2	17	0	17	0	532,41
F3	12	2	10	16,67	541,99
F5	39	8	31	20,51	538,72
F6	6	0	6	0	526,53
F12	15	5	10	33,33	546,19
F13	109	12	97	11,01	533,79
F14	18	6	12	33,33	544,93
F15	31	1	30	3,23	528,31
F16	33	0	33	0	525,26
F17	26	0	26	0	523,6
F18	16	1	15	6,25	524,25
F19	30	0	30	0	526,72
F20	38	4	34	10,53	532,82
F21	30	3	27	10	528,62
F22	25	0	25	0	523,39
F23	42	7	35	16,67	532,19
F24	39	0	39	0	521,05
F25	18	2	16	11,11	533,35
F26	52	30	22	57,69	558,17
F27	22	9	13	40,91	549,39
F28	71	7	64	9,86	533,43
F32	32	0	32	0	522,33
F33	12	0	12	0	518,73
F34	12	0	12	0	518,85
F35	28	0	28	0	519,59

HTD (*Hours to Death*): tempo até a morte em horas durante o desafio térmico experimental.

Para as análises de associação genômica ampla (GWAS), variância genética explicada e predição genômica, foram utilizados painéis SNP específicos após controle de qualidade. O resumo das etapas de processamento dos dados genotípicos e fenotípicos utilizados nas análises encontra-se apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Resumo das etapas de processamento dos dados genotípicos e fenotípicos utilizados nas análises de parentesco, predição genômica e associação genômica ampla.

Etapas/conjunto de dados	Indivíduos	SNPs	Descrição
Banco genotípico inicial	847	29.575	Painel Axiom® SerraSNP bruto
Painel físico inicial	808	22.582	SNPs ancorados ao genoma
Painel pós-QC/HWE para parentesco	808	14.390	geno $\leq 0,05$; HWE = 0,001
Painel rigoroso pós-LD pruning	808	313	MAF $\geq 0,30$ e $r^2 < 0,10$
Painel moderado pós-LD pruning	808	775	MAF $\geq 0,20$ e $r^2 < 0,20$
Painel leve pós-LD pruning	808	2.022	MAF $\geq 0,10$ e $r^2 < 0,30$
Painel final utilizado no CERVUS	808	775	Painel moderado
Progênie fenotipada	786	-	Animais avaliados no desafio térmico
Progênie com família definida	773	-	Animais com pai e mãe
Progênie sem família definida	13	-	Pai ausente no pedigree (-999)
População final para GWAS	786	18.226	geno 0.05, maf 0.01
População final para variância explicada	786	18.226	Mesma base física utilizada no GWAS
População final para predição genômica	786	16.899	geno 0.05, maf 0.05

QC = controle de qualidade; HWE = equilíbrio de Hardy-Weinberg; LD = desequilíbrio de ligação; MAF = frequência mínima do alelo menor; r^2 = coeficiente de correlação; geno = proporção máxima de genótipos ausentes permitida por marcador SNP.

Além da reconstrução do pedigree e da definição da população utilizada nas análises de predição genômica, foi realizada uma caracterização da diversidade genética da população experimental. Para isso, foram estimadas a frequência do alelo menor (MAF), a heterozigosidade observada média (H_o) e a heterozigosidade esperada média (H_e) com base nos 22.582 SNPs fisicamente ancorados ao genoma de referência após o controle de qualidade. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros de diversidade genética estimados para a população experimental de tambaqui utilizando 22.582 SNPs fisicamente ancorados ao genoma de referência após o controle de qualidade genotípica.

Parâmetros Populacionais	Média
Ho	0,293 ± 0,179
He	0,299 ± 0,170
MAF	0,222 ± 0,152
Coeficiente de parentesco	-0,001 ± 0,073
Coeficiente de endogamia	0,021 ± 0,210

Ho = heterozigosidade observada média; He = heterozigosidade esperada média; MAF = frequência do alelo menor.

2.5 Estimativa de parâmetros genéticos utilizando PBLUP e GBLUP

Os componentes de (co)variância das características avaliadas foram estimados por meio de modelos animais mistos. Os modelos incluíram caixa experimental como efeito fixo, peso corporal inicial como covariável linear e os efeitos genético aditivo individual e residual como efeitos aleatórios.

Nas análises baseadas em pedigree foi utilizado o método PBLUP (*Pedigree Best Linear Unbiased Prediction*), no qual as relações genéticas entre os indivíduos foram representadas pela matriz de parentesco (A) derivada do pedigree reconstruído. Nas análises genômicas foi utilizado o método GBLUP (*Genomic Best Linear Unbiased Prediction*), em que a matriz (A) foi substituída pela matriz de relacionamento genômico (G) construída a partir do painel final de 16.899 SNPs após controle de qualidade, conforme proposto por VanRaden (2008).

As análises foram conduzidas separadamente para tempo até a morte em horas (HTD) e sobrevivência binária sob as abordagens PBLUP e GBLUP. Para a característica contínua HTD, os componentes de variância foram estimados por meio de modelo animal linear misto utilizando o método da máxima verossimilhança restrita (REML), implementado no programa AIREMLF90. O modelo utilizado pode ser representado pela seguinte expressão:

$$y = Xb + Za + e$$

Onde:

- y = vetor de observações fenotípicas tempo até a morte (HTD)
- b = vetor de efeitos fixos (caixa) e covariável peso corporal inicial
- a = vetor de efeitos genéticos aditivos dos indivíduos
- e = vetor de efeitos residuais

- X e Z = matrizes de incidência que relacionam as observações aos efeitos fixos e aleatórios, respectivamente.

Assume-se que:

$$a \sim N(0, A\sigma^2a)$$

$$e \sim N(0, I\sigma^2e)$$

onde:

- A = matriz de parentesco baseada em pedigree (PBLUP) ou matriz de relacionamento genômico (G) nas análises GBLUP
- σ^2a = variância genética aditiva
- σ^2e = variância residual
- I = matriz identidade.

Para a característica sobrevivência binária, foi utilizado um modelo limiar (*threshold*), considerando a natureza categórica da variável fenotípica observada. Nesse modelo, assume-se a existência de uma variável latente contínua subjacente (*liability*), cuja expressão fenotípica observada corresponde à classificação binária de sobrevivência dos indivíduos durante o desafio térmico. Dessa forma, os fenótipos observados representam categorias discretas derivadas de uma distribuição contínua subjacente, conforme abordagem amplamente utilizada para características binárias em genética quantitativa.

O modelo também incluiu as caixas experimentais e o peso corporal como efeitos fixos, além do efeito genético aditivo e residual como efeitos aleatórios. O modelo limiar utilizado pode ser representado pela seguinte expressão:

$$\lambda = Xb + Za + e$$

Onde:

- λ = vetor da variável latente subjacente (*liability*);
- b = vetor de efeitos fixos e covariáveis associadas ao modelo;
- a = vetor de efeitos genéticos aditivos;
- e = vetor de efeitos residuais;
- X e Z = matrizes de incidência para os efeitos fixos e aleatórios respectivamente.

Assume-se que:

$$a \sim N(0, A\sigma^2a)$$

Onde:

- A = matriz de parentesco baseada em pedigree (PBLUP) ou matriz de relacionamento genômico (G) nas análises GBLUP;
- σ^2a = variância genética aditiva na escala da variável latente.

As estimativas dos componentes de variância foram obtidas por meio de amostragem de Gibbs, utilizando o programa THRGIBBS1F90, pertencente ao pacote BLUPF90 (Misztal et al., 2016). As cadeias de amostragem de Gibbs foram executadas com 800.000 iterações, considerando um período inicial de descarte (*burn-in*) de 80.000 iterações e intervalo de amostragem (*thinning*) de 100 iterações entre amostras consecutivas, conforme recomendações descritas por Sorensen e Gianola (2002).

Nas análises genômicas conduzidas sob abordagem GBLUP, para as duas características, os modelos foram os mesmos, porém com substituição da matriz de parentesco baseada em pedigree (A) pela matriz de relacionamento genômico (G), como mencionado anteriormente. Dessa forma, os modelos permitiram incorporar diretamente a informação genômica na estimação dos parâmetros genéticos avaliados.

A correlação genética entre as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária foi estimada por meio de um modelo animal bivariado misto, em que a característica HTD foi analisada como variável contínua sob modelo linear, enquanto a sobrevivência binária foi analisada como variável categórica sob modelo limiar (*threshold*).

O modelo bivariado permitiu a estimação simultânea das variâncias genéticas aditivas de cada característica e da covariância genética entre elas, possibilitando avaliar o grau de associação entre os efeitos genéticos que influenciam ambas as variáveis fenotípicas.

O modelo utilizado pode ser representado da seguinte forma:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \end{bmatrix}$$

Onde:

- y_1 e y_2 = y_1 tempo até a morte (HTD) e y_2 sobrevivência binária;
- b_1 e b_2 = vetores de efeitos fixos;
- a_1 e a_2 = efeitos genéticos aditivos dos indivíduos;
- e_1 e e_2 = efeitos residuais;
- X_1 e X_2 = matrizes de incidência para os efeitos fixos;
- Z_1 e Z_2 = matrizes de incidência para os efeitos aleatórios.

A correlação genética foi estimada conforme a seguinte expressão:

$$r_g = \frac{\sigma_{a_{12}}}{\sqrt{\sigma_{a_1}^2 \sigma_{a_2}^2}}$$

Onde:

- r_g = correlação genética entre as características;
- $\sigma_{a_{12}}$ = covariância genética aditiva entre as características;
- $\sigma_{a_1}^2 \sigma_{a_2}^2$ = variâncias genéticas aditivas das características avaliadas.

As correlações fenotípicas entre tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária foram estimadas de forma análoga, utilizando as respectivas covariâncias fenotípicas obtidas a partir do modelo bivariado.

As estimativas de herdabilidade (h^2) foram obtidas como a razão entre a variância genética aditiva e a variância fenotípica total das características avaliadas. Para as características analisadas sob modelos lineares, a herdabilidade foi calculada conforme a seguinte expressão:

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_e^2}$$

- σ_a^2 = variância genética aditiva;
- σ_e^2 = variância residual.

Para sobrevivência binária, a herdabilidade foi estimada na escala subjacente da liability conforme abordagem descrita por Sorensen e Gianola (2002).

2.6 Predição genética e genômica com validação cruzada

Além dos componentes de (co)variância e parâmetros genéticos, estimados a partir dos modelos ajustados PBLUP e GBLUP, foram realizadas análises de

predição genética (EBVs) e genômica (GEBVs) para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária por meio da validação cruzada do tipo 5-fold.

Para isso, a população foi dividida aleatoriamente em cinco subconjuntos de tamanho semelhante, sendo que em cada rodada aproximadamente 80% dos indivíduos compuseram a população de treinamento e 20% a população de validação, cujos fenótipos foram omitidos durante o ajuste dos modelos. O procedimento foi repetido cinco vezes, garantindo que todos os indivíduos fossem utilizados uma única vez na validação, simulando cenários práticos de seleção genética em indivíduos sem registros fenotípicos.

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada comparando os valores genéticos preditos (EBVs/GEBVs) dos indivíduos da validação com os fenótipos observados. A acurácia preditiva foi estimada pela correlação entre valores genéticos preditos e fenótipos observados, ajustada pela herdabilidade da característica, e também pela covariância entre os valores genéticos preditos e os obtidos no conjunto completo, conforme Legarra e Reverter (2018). O viés foi avaliado pelo coeficiente de regressão dos fenótipos ajustados sobre os valores genéticos preditos, sendo valores próximos de 1 indicativos de ausência de viés.

A Acurácia 1 foi estimada conforme a seguinte expressão:

$$Acc_1 = \frac{cor(\hat{u}, y)}{\sqrt{h^2}}$$

- $cor(\hat{u}, y)$: corresponde a correlação entre os valores genéticos preditos e os fenótipos ajustados;
- h^2 : corresponde a herdabilidade da característica.

A Acurácia 2 foi estimada conforme descrito por Legarra e Reverter (2018):

$$Acc_2 = \sqrt{\frac{cov(\hat{u}_{full}, \hat{u}_{cv})}{\sigma_a^2}}$$

- $cov(\hat{u}_{full}, \hat{u}_{cv})$: representa a covariância entre os valores genéticos obtidos no conjunto completo e aqueles estimados nos grupos de validação;
- σ_a^2 : variância genética aditiva.

As acurácias obtidas para os modelos PBLUP e GBLUP foram comparadas entre si, permitindo avaliar o ganho de eficiência de seleção pela incorporação de informações genômicas nas análises de predição.

2.7 Análises de associação genômica ampla (GWAS)

As análises de associação genômica ampla GWAS (*Genome-Wide Association Study*) foram realizadas com o objetivo de identificar marcadores SNP potencialmente associados às características avaliadas.

Foram incluídos nas análises 786 indivíduos da progênie com informações fenotípicas e genotípicas disponíveis, considerando o conjunto final de 18.226 marcadores SNP previamente submetidos às etapas de controle de qualidade genotípica. Inicialmente, os arquivos genotípicos em formato PED/MAP foram convertidos para o formato binário BED utilizando o software PLINK. Posteriormente, foram aplicados novos filtros adicionais relacionados à frequência do alelo menor ($MAF < 0,05$), taxa de genotipagem dos marcadores (geno 0.05), taxa de genotipagem individual (mind 0.10) e equilíbrio de Hardy–Weinberg ($HWE < 1 \times 10^{-6}$).

As análises foram conduzidas utilizando modelos mistos lineares implementados no software GCTA, empregando a abordagem MLMA-LOCO (*Mixed Linear Model Association – Leave One Chromosome Out*).

O modelo misto linear utilizado pode ser representado por:

$$y = Xb + Sa + Zu + e$$

Onde:

- y = vetor de observações fenotípicas (tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária);
- b = vetor de efeitos fixos (caixa experimental e covariável peso corporal);
- a = efeito do SNP testado;
- u = vetor de efeitos genéticos poligênicos dos indivíduos;
- e = vetor de efeitos residuais;
- X , S e Z = matrizes de incidência que relacionam as observações aos efeitos fixos, ao SNP testado e aos efeitos aleatórios, respectivamente.

Assume-se que:

$$u \sim N(0, H\sigma^2 u)$$

$$e \sim N(0, I\sigma^2 e)$$

onde:

- H = Combinação da matriz de relacionamento genômico G e de pedigree A
- $\sigma^2 u$ = variância genética poligênica;
- $\sigma^2 e$ = variância residual;
- I = matriz identidade.

A significância dos marcadores SNP foi avaliada utilizando correção de Bonferroni, considerando o número total de marcadores avaliados no estudo. O nível de significância ajustado foi definido por:

$$\alpha_{ajustado} = \frac{0,05}{n}$$

Onde:

α = nível de significância global adotado (0,05);

n = número total de marcadores SNP avaliados (22.582 SNPs).

Adicionalmente, foi adotado um limiar sugestivo de associação para auxiliar na identificação de regiões genômicas potencialmente relevantes. Os resultados das análises GWAS foram visualizados por meio de gráficos Manhattan e QQ plot no ambiente R utilizando o pacote qqman (Turner, 2018), permitindo identificar regiões associadas às características avaliadas.

2.8 Quantificação dos efeitos dos marcadores e da variância genética explicada

Após as análises de associação genômica ampla (GWAS), foi realizada uma etapa complementar destinada à quantificação dos efeitos dos marcadores SNP e de sua contribuição para a variância genética aditiva das características relacionadas à tolerância ao frio. Enquanto o GWAS permitiu identificar marcadores estatisticamente associados aos fenótipos avaliados, essa etapa possibilitou quantificar a contribuição relativa de cada marcador para a variabilidade genética observada.

Os efeitos dos marcadores SNP e a proporção da variância genética aditiva explicada por cada marcador foram estimados utilizando o programa postGSf90, pertencente ao pacote BLUPF90 (Misztal et al., 2014), conforme a metodologia proposta por Wang et al. (2014). As estimativas foram obtidas a partir dos efeitos genéticos dos marcadores e posteriormente organizadas de acordo com sua posição genômica, permitindo a identificação de regiões cromossômicas com maior contribuição para as características avaliadas.

A proporção da variância genética aditiva explicada por cada marcador SNP foi calculada pela seguinte expressão:

$$Var(\%) = \frac{2p(1-p)\alpha^2}{\sigma_a^2} \times 100$$

p = frequência alélica do marcador;

α = efeito estimado do SNP;

σ_a^2 = variância genética aditiva total;

$Var(\%)$ = proporção da variância genética explicada pelo marcador.

Os resultados obtidos foram utilizados para complementar a interpretação dos achados do GWAS, auxiliando na identificação de marcadores e regiões genômicas potencialmente relevantes para a tolerância ao frio em tambaqui.

2.9 Identificação de genes candidatos

Os marcadores SNP identificados nas análises de associação genômica ampla (GWAS) para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária foram utilizados para a prospecção de genes candidatos potencialmente associados à tolerância ao frio em tambaqui (*Colossoma macropomum*). Foram consideradas para investigação as regiões genômicas contendo SNPs que ultrapassaram os limiares sugestivo e significativo definidos nas análises de associação.

Para cada SNP de interesse, foi estabelecida uma janela genômica de ± 200 kb ao redor da posição física do marcador, permitindo a identificação de genes posicionais localizados nas regiões associadas. A identificação dos genes foi

realizada com base na anotação da montagem genômica de referência de tambaqui disponibilizada pelo Laboratório de Genética em Aquicultura e Conservação (LaGeAC).

Além da evidência estatística obtida nas análises GWAS, a interpretação das regiões associadas foi complementada pelas estimativas de variância genética explicada pelos marcadores. Para isso, os SNPs identificados nas análises de associação foram comparados com os resultados obtidos pelo programa postGSf90, permitindo avaliar simultaneamente a significância estatística e a contribuição genética dos marcadores para a variabilidade das características avaliadas.

A priorização dos genes candidatos foi baseada principalmente nos resultados das análises GWAS, considerando a intensidade do sinal de associação dos marcadores SNP identificados para as características avaliadas. As estimativas de variância genética explicada foram utilizadas como evidência complementar para auxiliar a interpretação da relevância genética das regiões associadas. A interpretação funcional foi realizada com base nas anotações gênicas disponíveis e em evidências descritas na literatura para genes relacionados à resposta ao estresse térmico, metabolismo energético, resposta imune e manutenção da homeostase celular, conforme abordagens empregadas em estudos anteriores com peixes (Yoshida & Yáñez, 2021; Tang et al., 2023; Tao et al., 2026).

3 RESULTADOS

3.1 Curva de sobrevivência acumulada

A Figura 1 apresenta a curva acumulada de sobrevivência dos animais submetidos ao desafio térmico experimental. As primeiras mortalidades associadas à exposição ao frio foram observadas próximas de 480 horas, enquanto a maior concentração de mortes ocorreu entre 520 e 535 horas de desafio térmico. Ao final do experimento, aproximadamente 12% dos indivíduos permaneceram sobreviventes. Esse padrão evidencia diferenças fenotípicas na tolerância ao frio entre os indivíduos avaliados, fornecendo a base para as análises genéticas realizadas neste estudo.

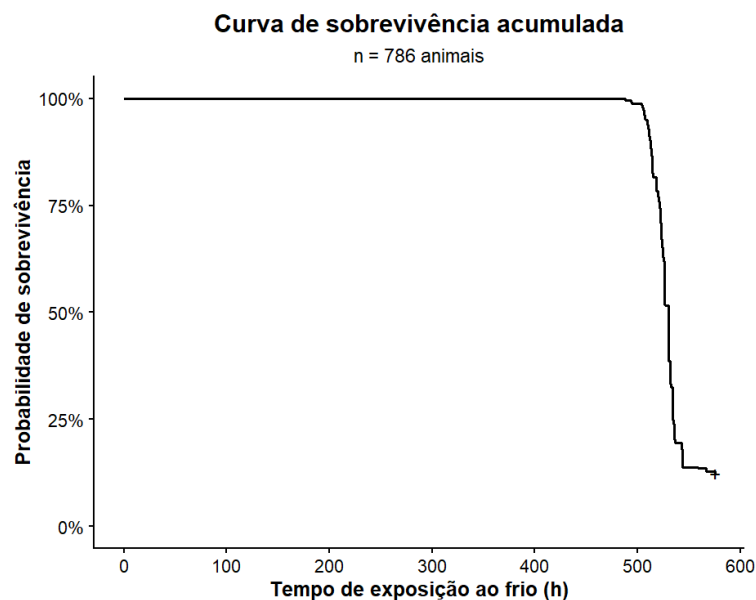


Figura 1 – Curva de sobrevivência acumulada dos animais submetidos ao desafio térmico experimental para tolerância a baixas temperaturas em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

3.2 Distribuição fenotípica do tempo até a morte (HTD)

A Figura 2 apresenta a distribuição fenotípica da característica tempo até a morte (HTD) dos animais submetidos ao desafio térmico experimental. Observou-se maior concentração de indivíduos entre aproximadamente 520 e 535 horas de exposição ao frio, indicando diferenças na resposta dos animais ao estresse térmico. Essa distribuição evidencia a existência de variabilidade fenotípica para a característica, condição essencial para a estimativa de parâmetros genéticos e para a identificação de indivíduos com maior tolerância a baixas temperaturas.

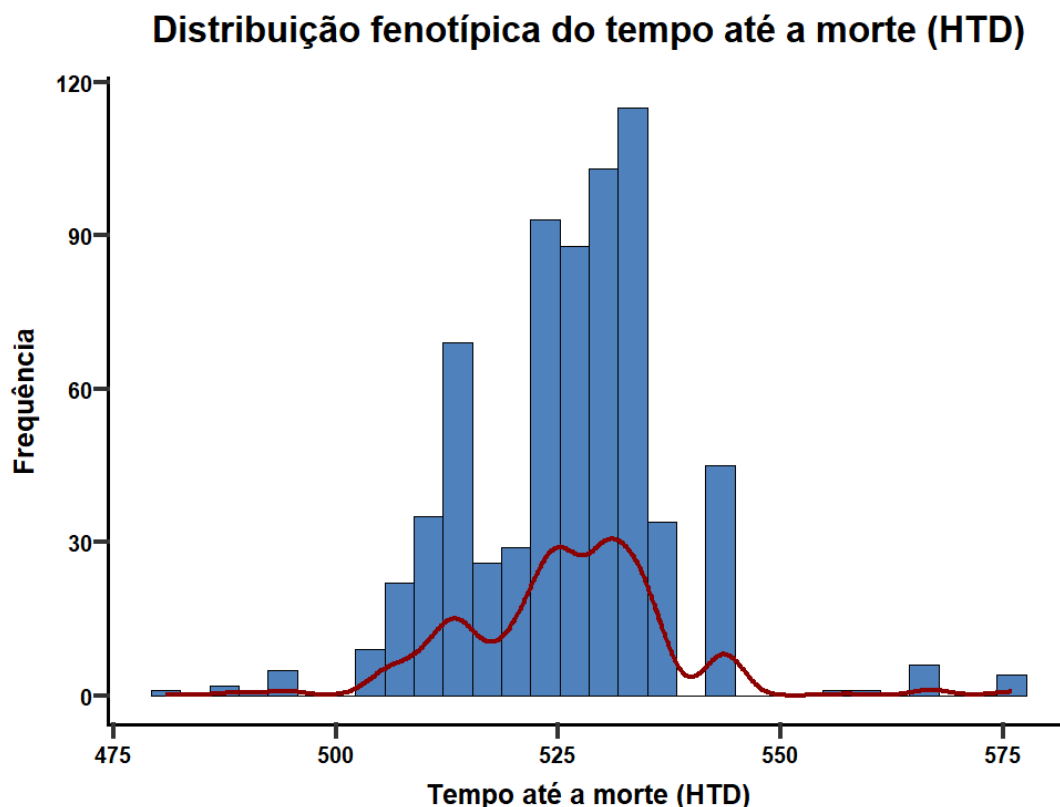


Figura 2 - Distribuição fenotípica da característica tempo até a morte (HTD) dos animais submetidos ao desafio térmico experimental para tolerância a baixas temperaturas em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

3.3 Parâmetros genéticos e componentes de variância

As estimativas de herdabilidade para HTD variaram de $0,27 \pm 0,06$ no modelo GBLUP a $0,41 \pm 0,12$ no modelo PBLUP, enquanto para sobrevivência binária a herdabilidade estimada foi de $0,25 \pm 0,07$. Além disso, observou-se elevada correlação genética entre HTD e sobrevivência binária ($r_g = 0,99 \pm 0,04$). Esses resultados evidenciam a existência de variabilidade genética aditiva para resistência ao frio em tambaqui, indicando potencial de resposta à seleção para ambas as características.

Tabela 5 – Estimativas dos componentes de variância e parâmetros genéticos para tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Parâmetros Genéticos	Tempo até morte (HTD)		Sobrevivência Binária
	PBLUP	GBLUP	GBLUP
σ^2a	148,40 $\pm$ 53,71	93,75 $\pm$ 23,12	0,232 $\pm$ 0,097
σ^2e	212,01 $\pm$ 30,94	264,64 $\pm$ 16,84	0,674 $\pm$ 0,060
σ^2p	360,41	340,79	0,906
h^2	0,41 $\pm$ 0,123	0,275 $\pm$ 0,058	0,25 $\pm$ 0,07
rg (HTD $\times$ sobrevivência)	-	-	0,99 $\pm$ 0,04

σ^2a : variância genética aditiva; σ^2e : variância residual; σ^2p : variância fenotípica; h^2 : herdabilidade; rg: correlação genética.

3.4 Acurácia preditiva dos modelos genéticos

As análises de acurácia preditiva para a característica tempo até a morte (HTD) demonstraram desempenho superior do modelo GBLUP em comparação ao PBLUP. O modelo genômico apresentou maiores valores de Acurácia 1 e Acurácia 2 tanto nos grupos de validação quanto nas médias gerais, indicando maior capacidade de predição dos valores genéticos. Em relação ao viés, ambos os modelos apresentaram variações entre os grupos de validação. Entretanto, o GBLUP apresentou comportamento mais estável, com menor oscilação entre os folds, enquanto o PBLUP apresentou maior variação entre os grupos avaliados. Em conjunto, os resultados indicam que a incorporação de informações genômicas pode aumentar a capacidade preditiva e a consistência das avaliações genéticas para resistência ao frio em tambaqui (Figuras 3, 4 e 5).

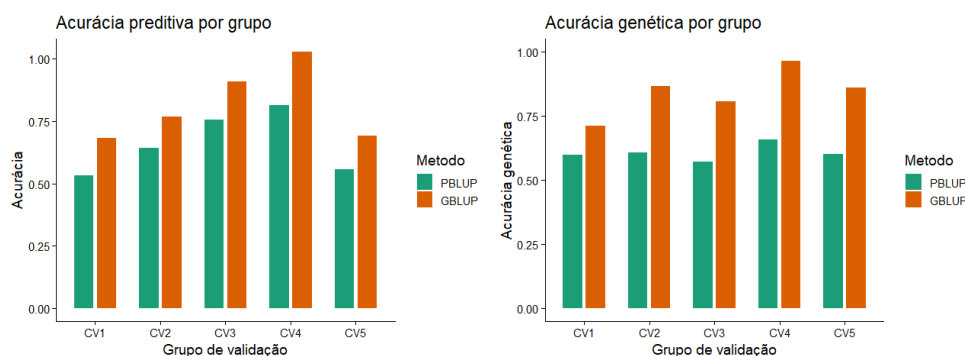


Figura 3 - Acurácia preditiva (Acc1) e acurácia genética (Acc2) dos modelos PBLUP e GBLUP nos cinco grupos de validação cruzada para a característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

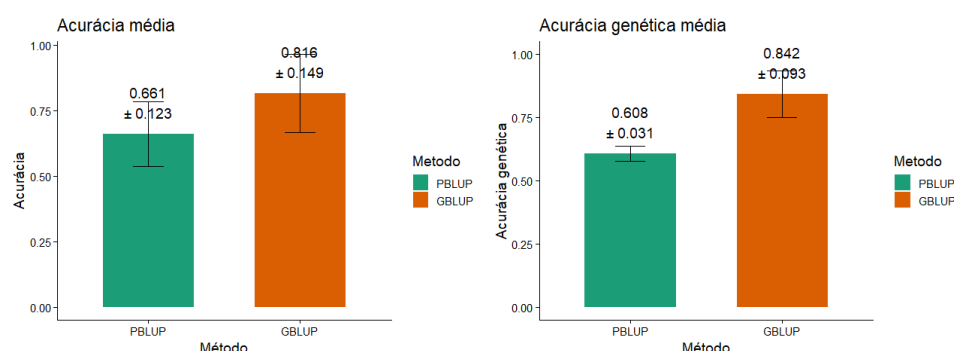


Figura 4 - Comparação das médias da acurácia preditiva (Acc1) e da acurácia genética (Acc2) dos modelos PBLUP e GBLUP para a característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

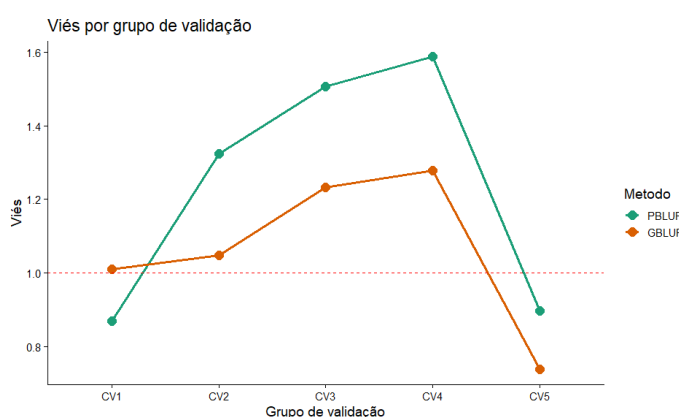


Figura 5 - Viés dos valores genéticos preditos nos grupos de validação cruzada (CV1–CV5) para os modelos PBLUP e GBLUP na característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*). A linha tracejada representa o valor de referência para predições não viesadas (1,0).

3.5 Análises de Associação Genômica Ampla (GWAS)

As análises de associação genômica ampla identificaram regiões sugestivamente associadas às características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária, distribuídas nos cromossomos 4, 15, 16, 17, 20, 21 e 26 do genoma do tambaqui. Foram identificados 12 SNPs sugestivos, sendo nove associados à característica HTD e três à sobrevivência binária. Dentre essas regiões, cinco corresponderam a regiões intergênicas, enquanto as demais apresentaram genes anotados em janelas de ± 200 kb ao redor dos marcadores

associados. Os SNPs identificados ultrapassaram os limiares de associação sugestiva e incluíram marcadores com elevados níveis de significância estatística, indicando que a tolerância ao frio apresenta arquitetura genética complexa e provavelmente controlada por múltiplas regiões genômicas. (Figuras 1 e 2).

Os gráficos QQ plot demonstraram concordância geral entre as distribuições observadas e esperadas dos valores de p, sugerindo controle adequado dos efeitos de estrutura populacional e ausência de desvios sistemáticos capazes de comprometer a interpretação dos resultados (Figuras 3 e 4).

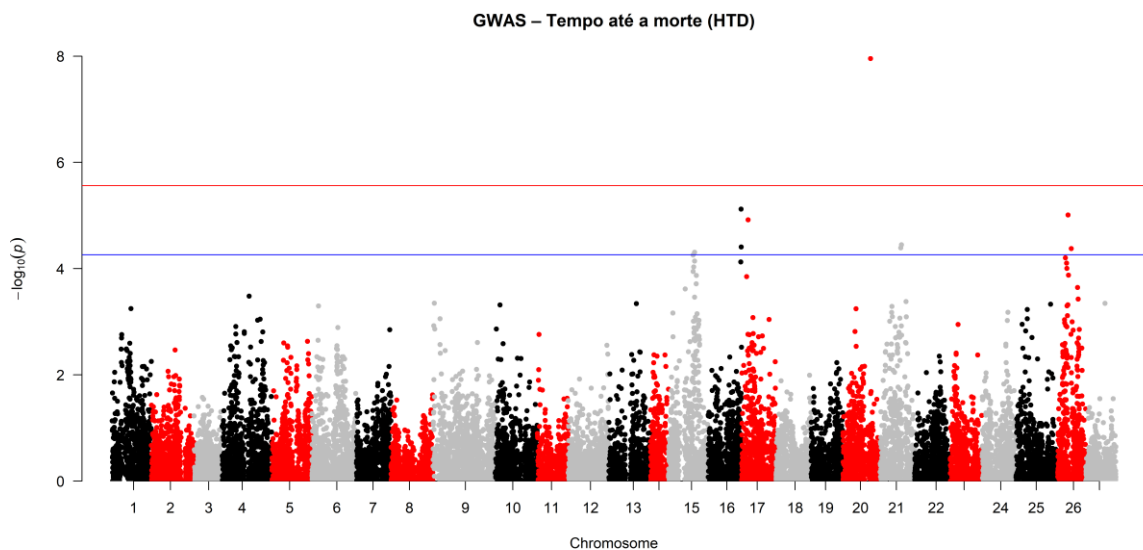


Figura 1 - Manhattan plot da análise de associação genômica ampla (GWAS) para a característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido ao desafio térmico. O eixo X representa os cromossomos e o eixo Y os valores de $-\log_{10}(P)$. As linhas horizontais indicam os limiares de associação sugestiva (azul) e de significância genômica (vermelho).

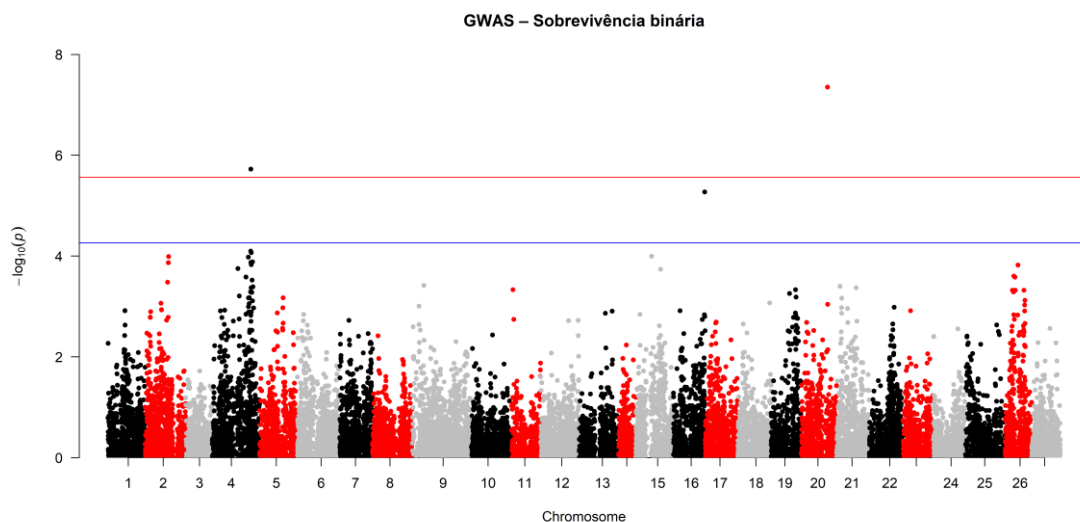


Figura 2 - Manhattan plot da análise de associação genômica ampla (GWAS) para a característica sobrevivência binária em tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido ao desafio térmico. O eixo X representa os cromossomos e o eixo Y os valores de $-\log_{10}(P)$. As linhas horizontais indicam os limiares de associação sugestiva (azul) e de significância genômica (vermelho).

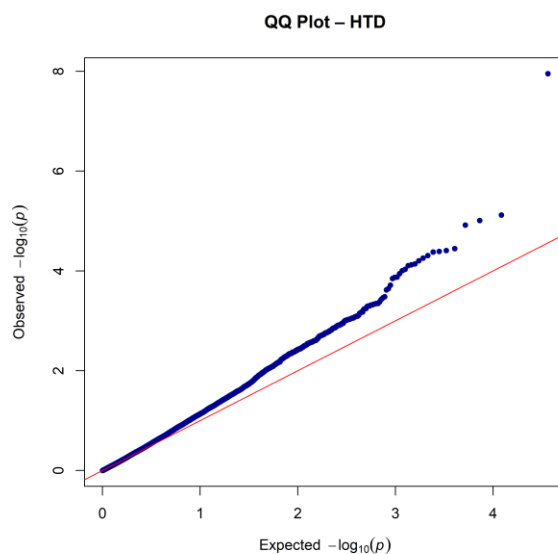


Figura 3 - QQ Plot da análise de associação genômica ampla (GWAS) para a característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido ao desafio térmico. Os pontos representam a distribuição observada dos valores de $-\log_{10}(P)$, enquanto a linha diagonal representa a distribuição esperada sob a hipótese nula de ausência de associação.

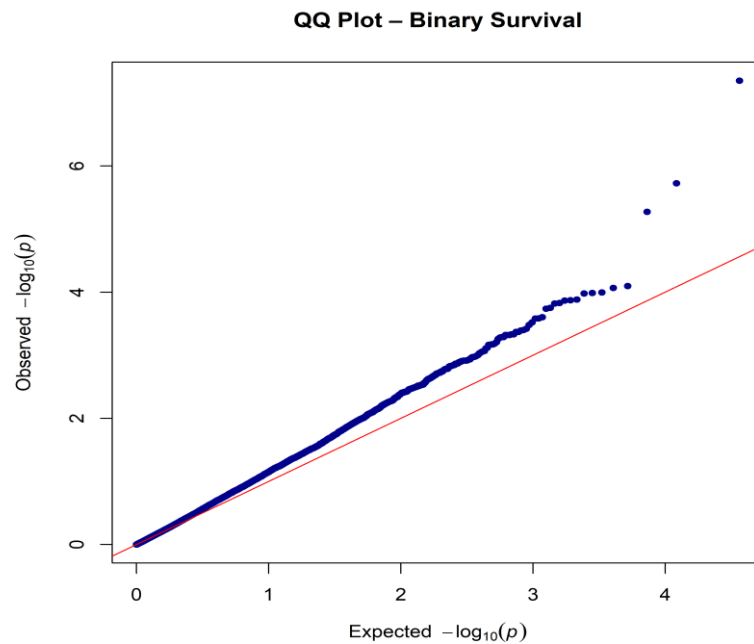


Figura 4 - QQ plot da análise de associação genômica ampla (GWAS) para a característica sobrevivência binária em tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetido ao desafio térmico. Os pontos representam a distribuição observada dos valores de $-\log_{10}(P)$, enquanto a linha diagonal representa a distribuição esperada sob a hipótese nula de ausência de associação.

3.6 Variância genética explicada pelos marcadores

As análises de variância genética explicada por janelas consecutivas de 20 SNPs identificaram múltiplas regiões genômicas associadas às características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária, distribuídas em diferentes cromossomos do genoma do tambaqui. Foram observadas janelas com elevadas proporções de variância explicada em diversas regiões genômicas para ambos os fenótipos avaliados, sem evidências de uma única região de grande efeito responsável pela maior parte da variação genética observada. Esse padrão sugere que a tolerância ao frio apresenta arquitetura genética complexa e potencialmente poligênica, resultante da contribuição conjunta de múltiplos loci distribuídos ao longo do genoma. Além disso, as regiões com maiores proporções de variância explicada constituem alvos promissores para a identificação de SNPs e genes candidatos potencialmente envolvidos nos mecanismos biológicos associados à resistência ao frio em tambaqui (Figuras 5 e 6).

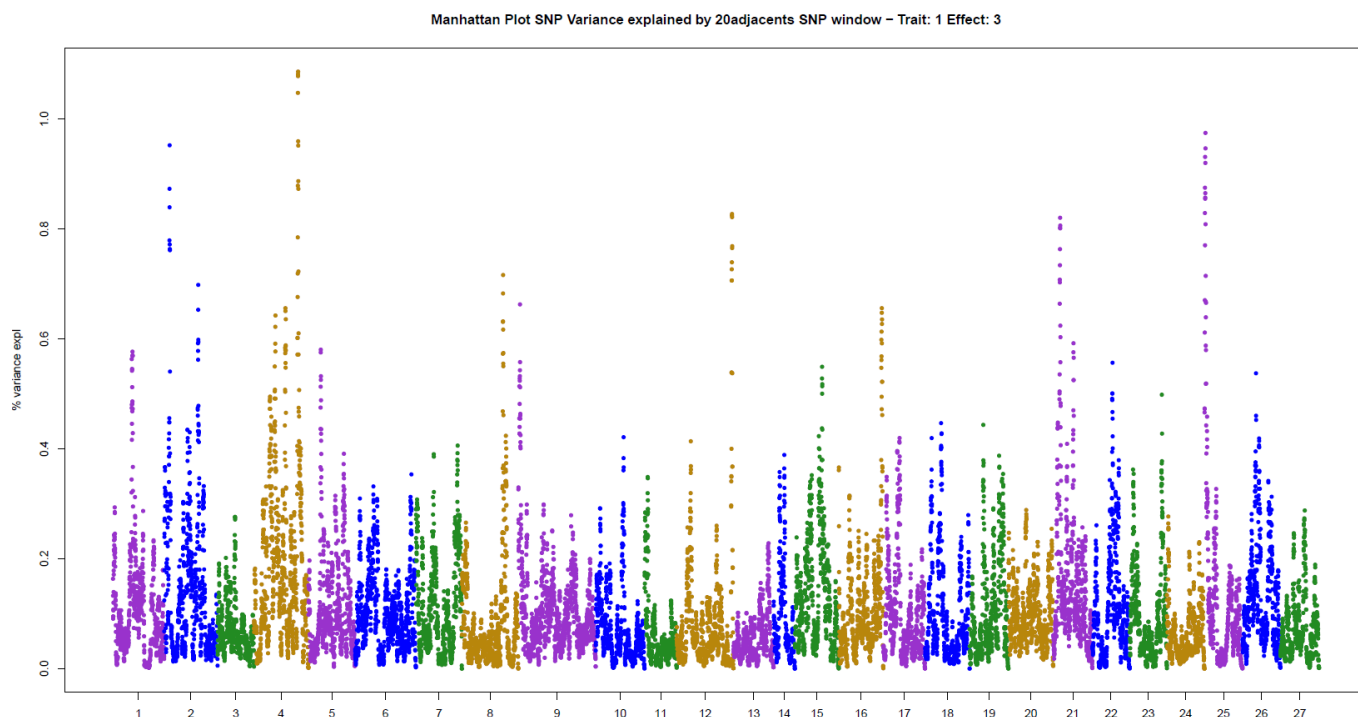


Figura 5 - Proporção da variância genética explicada por janelas consecutivas de 20 SNPs ao longo do genoma para a característica tempo até a morte (HTD) em tambaqui (*Colossoma macropomum*). As janelas foram organizadas de acordo com a posição cromossômica, permitindo a identificação de regiões genômicas associadas à variabilidade genética da característica.

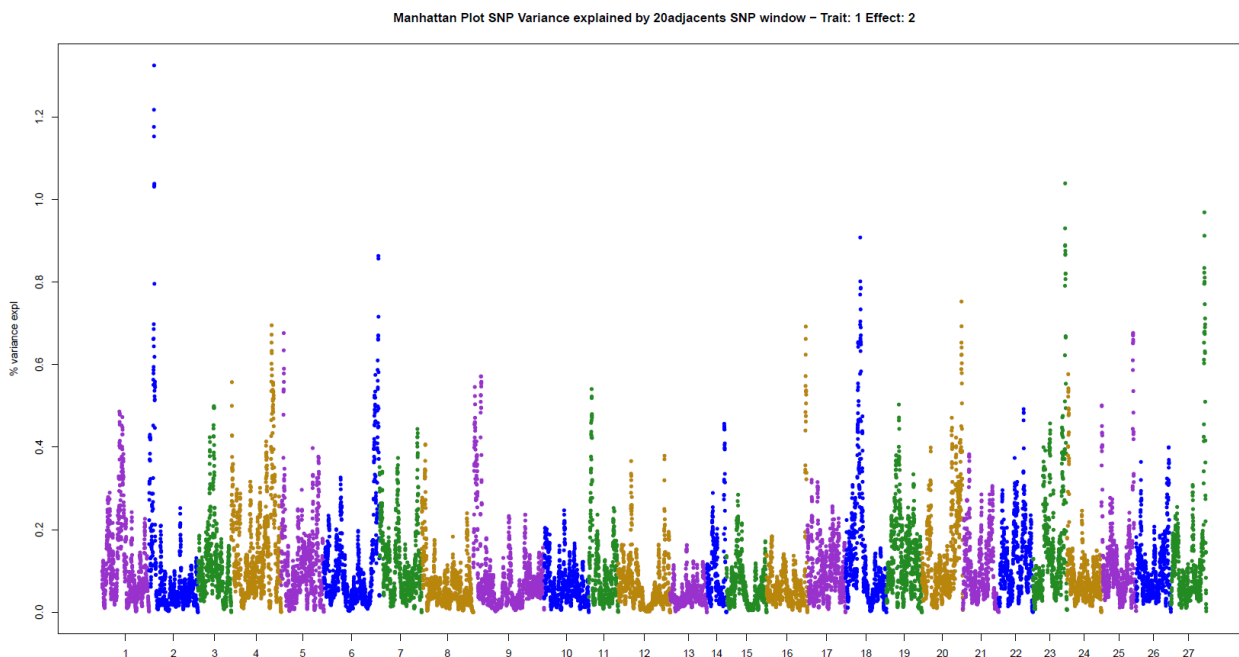


Figura 6 - Proporção da variância genética explicada por janelas consecutivas de 20 SNPs ao longo do genoma para a característica sobrevivência binária em tambaqui (*Colossoma macropomum*). As janelas foram organizadas de acordo com a posição cromossômica, permitindo a identificação de regiões genômicas associadas à variabilidade genética da característica.

3.7 Genes candidatos associados à tolerância ao frio

Foram identificadas regiões genômicas contendo genes potencialmente associados à tolerância ao frio. A Tabela 6 apresenta os SNPs sugestivos identificados para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária. Ao todo, foram identificados 12 SNPs sugestivos distribuídos nos cromossomos 4, 15, 16, 17, 20, 21 e 26, incluindo cinco regiões intergênicas e sete regiões contendo genes anotados em janelas de ± 200 kb ao redor dos marcadores associados. Destacou-se o SNP AX-508786288, localizado no cromossomo 20, que apresentou os maiores níveis de associação observados no estudo para ambos os fenótipos avaliados.

A Tabela 7 apresenta os principais genes candidatos priorizados para discussão biológica. A principal região anotada localizou-se no cromossomo 16, associada simultaneamente aos fenótipos HTD e sobrevivência binária, contendo genes relacionados à resposta ao estresse, metabolismo energético, processamento de RNA e regulação celular. Além da região compartilhada entre os fenótipos, regiões específicas associadas à sobrevivência binária foram identificadas no cromossomo 4, contendo genes relacionados à homeostase iônica, resposta imune e transporte intracelular. Para HTD, regiões associadas no cromossomo 15 apresentaram genes relacionados à inflamação, sinalização celular e homeostase iônica.

Os resultados indicaram que a variância genética encontra-se distribuída entre múltiplas regiões genômicas, sem evidência de SNPs de grande efeito responsáveis pela maior parte da variação observada. Em conjunto, esses achados reforçam a hipótese de que a tolerância ao frio em tambaqui apresenta arquitetura genética complexa e predominantemente poligênica, envolvendo múltiplas regiões genômicas e diferentes mecanismos biológicos relacionados à resposta ao estresse por baixas temperaturas.

A relação completa dos genes identificados nas janelas de ± 200 kb ao redor dos SNPs sugestivos encontra-se disponível na Tabela S1 (Apêndice A), apresentada após as Referências, enquanto a Tabela 7 reúne os genes candidatos priorizados para discussão biológica.

Tabela 6 – Regiões genômicas sugestivas associadas ao tempo até a morte (HTD) e à sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

TRAIT	SNP	CHR	POSICAO	LOGP	VARIANCIA_EXPLICADA	STATUS
BIN	AX-508786288	20	34033679	7,35350315	0,3503957	REGIAO_INTERGENICA
BIN	AX-508808703	4	50202754	5,72545423	0,3240397	GENE_CANDIDATO
BIN	AX-509149388	16	40550052	5,27290384	0,08704334	GENE_CANDIDATO
HTD	AX-508786288	20	34033679	7,9538093	0,06938869	REGIAO_INTERGENICA
HTD	AX-509149388	16	40550052	5,11897788	0,2401258	GENE_CANDIDATO
HTD	AX-508800817	26	12748014	5,010149	0,0971142	GENE_CANDIDATO
HTD	AX-509107674	17	8543702	4,9172936	0,1132651	GENE_CANDIDATO
HTD	AX-509100149	21	26679037	4,44811105	0,08152302	REGIAO_INTERGENICA
HTD	AX-509147686	16	40650626	4,40744576	0,09581407	GENE_CANDIDATO
HTD	AX-508822536	21	25700817	4,39130178	0,1540262	REGIAO_INTERGENICA
HTD	AX-509115692	26	16540913	4,3776927	0,3578329	REGIAO_INTERGENICA
HTD	AX-509137901	15	31892385	4,30849415	0,3125084	GENE_CANDIDATO

SNPs que ultrapassaram o limiar de associação sugestiva na análise de associação genômica ampla (GWAS), apresentando a característica avaliada (TRAIT), identificador do marcador (SNP), cromossomo (CHR), posição física no genoma (POSICÃO), intensidade do sinal de associação expressa como $-\log_{10}(p)$ (LOGP), proporção da variância genética explicada pelo marcador e status da região genômica. SNPs classificados como GENE_CANDIDATO possuem pelo menos um gene anotado na janela de ± 200 kb ao redor do marcador, enquanto SNPs classificados como REGIÃO_INTERGÊNICA não apresentaram genes anotados nessa janela. Todas as regiões sugestivas identificadas pelo GWAS foram mantidas, independentemente da presença de genes candidatos.

Tabela 7 – Genes candidatos prioritizados associados às características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

TRAIT	SNP	CHR	LOGP	VARIANCIA_EXPLICADA	SIMBOLO	FUNCAO_RESUMIDA
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	DNM	Endocitose
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	KCNT2	Canal de potássio
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	PLPP3	Metabolismo lipídico
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	RNASEH	Estabilidade RNA
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	TMED1	Transporte celular
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	TNFSF14	Resposta imune
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	TNFSF18	Resposta imune
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	TNFSF6	Resposta imune
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	Processamento RNA
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	adenosine receptor A2b	Resposta ao estresse
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	copine VII	Membrana celular
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	cytochrome b5 type B	Metabolismo energético
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	polyamine modulated factor 1 binding protein	Regulação celular
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	ribosomal protein L13	Síntese proteica
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	Processamento RNA
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	adenosine receptor A2b	Resposta ao estresse
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	copine VII	Membrana celular
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	cytochrome b5 type B	Metabolismo energético
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	polyamine modulated factor 1 binding protein	Regulação celular
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	ribosomal protein L13	Síntese proteica
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	ryanodine receptor 2b (cardiac)	Resposta ao cálcio e estress
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	Processamento RNA
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	adenosine receptor A2b	Resposta ao estresse

HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	copine VII	Membrana celular
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	cytochrome b5 type B	Metabolismo energético
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	polyamine modulated factor 1 binding protein	Regulação celular
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	SEMA3AB	Sinalização celular
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	SEMA3D	Sinalização celular
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	SEMA3E	Sinalização celular
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	anoctamin 2a	Homeostase iônica
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	interleukin 12B 2	Inflamação

Genes candidatos selecionados para discussão biológica com base em sua plausibilidade funcional em processos relacionados à tolerância ao frio, sobrevivência e resposta ao estresse. São apresentados a característica avaliada (TRAIT), o marcador associado (SNP), o cromossomo (CHR), a intensidade da associação genômica expressa como $-\log_{10}(p)$ (LOGP), a proporção da variância genética explicada pelo marcador, o símbolo do gene e sua principal função biológica. A seleção dos genes candidatos considerou evidências de participação em mecanismos de resposta imune, inflamação, homeostase iônica, metabolismo energético, sinalização celular, resposta ao estresse, processamento de RNA e manutenção da integridade celular, processos potencialmente envolvidos na resistência ao frio em tambaqui.

4. DISCUSSÃO

A curva acumulada de sobrevivência e a distribuição da característica HTD demonstraram que o desafio térmico foi capaz de gerar respostas fenotípicas distintas entre os indivíduos avaliados, evidenciadas pela concentração das mortalidades entre aproximadamente 520 e 535 horas de exposição ao frio e pela permanência de indivíduos sobreviventes ao final do experimento. Esse padrão sugere a existência de variabilidade biológica na capacidade de resistência ao frio, condição fundamental para estudos de genética quantitativa e melhoramento genético voltados à identificação de indivíduos mais tolerantes ao estresse térmico.

A exposição ao frio afeta diretamente processos metabólicos, imunológicos e fisiológicos relacionados à manutenção da homeostase, influenciando a capacidade de sobrevivência sob estresse térmico prolongado (Gerken et al., 2016; Liu et al., 2025). Em juvenis de tamboril-vermelho (*Sciaenops ocellatus*), Anderson e Scharf (2014) observaram aumento da mortalidade sob exposições mais severas ao frio, demonstrando que a intensidade do desafio térmico influencia a expressão fenotípica da tolerância ao frio. Nesse contexto, o protocolo de resfriamento gradual utilizado neste estudo permitiu a expressão fenotípica da tolerância ao frio, possibilitando a diferenciação entre indivíduos mais e menos resistentes ao estresse térmico.

A demonstração dessa variabilidade fenotípica constitui o primeiro requisito para a investigação da base genética da característica, uma vez que a resposta à seleção depende da existência de variação genética associada às diferenças observadas entre os indivíduos.

Uma vez demonstrada a existência de variabilidade fenotípica para a tolerância ao frio, torna-se necessário avaliar em que medida essa variação é determinada por efeitos genéticos aditivos, permitindo estimar o potencial de resposta à seleção.

As estimativas de herdabilidade observadas para HTD (GBLUP 0,27 – PBLUP 0,41) e sobrevivência binária (GBLUP 0,25) evidenciam a existência de variabilidade genética aditiva para tolerância ao frio em tambaqui. Esses resultados sugerem que a característica apresenta potencial de resposta à seleção. Assim, a tolerância ao frio não deve ser tratada apenas como uma resposta fisiológica ao

ambiente, mas também como uma característica com potencial de utilização em programas de melhoramento.

Os resultados obtidos neste estudo são compatíveis com valores relatados para tolerância ao frio em outras espécies aquícolas. Em tamboril-vermelho (*Sciaenops ocellatus*), Ma et al. (2007) estimaram herdabilidade de $0,32 \pm 0,12$ utilizando protocolo de resfriamento progressivo, enquanto Saillant et al. (2008) observaram valor de 0,20 sob condições de estresse térmico agudo. Em camarão-branco-chinês (*Fenneropenaeus chinensis*), Wang et al. (2017) relataram herdabilidade moderada ($0,265 \pm 0,091$), enquanto estimativas mais baixas foram observadas em juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e camarão-branco-do-Pacífico (*Penaeus vannamei*), variando entre 0,02 e 0,09 (Charo-Karisa et al., 2005; Li et al., 2015). Essas diferenças provavelmente refletem variações entre espécies, estruturas populacionais, intensidade e duração do desafio térmico, além dos critérios fenotípicos utilizados para caracterizar a tolerância ao frio.

Além das estimativas de herdabilidade, a correlação genética positiva entre HTD e sobrevivência binária ($r_g = 0,99 \pm 0,05$) indica forte associação entre ambas as características, sugerindo que indivíduos geneticamente mais tolerantes ao frio tendem a apresentar maior tempo de resistência e maior probabilidade de sobrevivência sob estresse térmico.

Apesar dessa forte associação genética, HTD e sobrevivência binária não representam exatamente a mesma dimensão fenotípica da tolerância ao frio. A sobrevivência binária classifica os indivíduos apenas quanto à ocorrência ou não de mortalidade durante o desafio térmico, enquanto o HTD incorpora diferenças no tempo de resistência dos indivíduos ao estresse térmico.

O HTD pode representar de forma mais sensível as diferenças individuais na resposta ao frio, uma vez que incorpora a dimensão temporal da mortalidade. Entretanto, estudos têm demonstrado que HTD e sobrevivência binária compartilham, em grande parte, a mesma base genética. Em tilápia-do-tilo desafiada com o vírus TiLV, Barría et al. (2020) observaram correlações entre os valores genéticos estimados para ambas as características variando de 0,912 a 0,99. De forma semelhante, em camarão-branco-do-Pacífico (*Penaeus vannamei*), foram reportadas altas correlações genéticas ($r_g > 0,8$) entre sobrevivência binária

e tempo até a morte (Ren et al., 2022). Esses resultados indicam que ambos os fenótipos descrevem essencialmente a mesma resistência biológica ao estresse, diferindo principalmente na quantidade de informação capturada por cada abordagem.

Embora a herdabilidade e as correlações genéticas demonstrem o potencial da característica para responder à seleção, a eficiência dessa resposta depende da capacidade dos modelos genéticos em prever corretamente o mérito genético dos indivíduos, justificando a avaliação do desempenho das abordagens de predição genômica.

Demonstrado o potencial de resposta à seleção para tolerância ao frio, torna-se relevante avaliar a capacidade dos diferentes modelos genéticos em prever o mérito genético dos indivíduos, aspecto fundamental para a aplicação dessa característica em programas de melhoramento.

As diferenças observadas entre as abordagens de avaliação genética evidenciam as vantagens da incorporação de informações genômicas para a predição dos valores genéticos de tolerância ao frio.

Para HTD, característica contínua, as estimativas puderam ser obtidas tanto nos modelos PBLUP quanto GBLUP, permitindo comparação direta entre abordagens baseadas em pedigree e em informações genômicas. Em contraste, a sobrevivência binária apresentou limitação de convergência no modelo PBLUP, sendo mantida apenas na abordagem GBLUP. Essa diferença é coerente com as dificuldades de ajuste frequentemente observadas em modelos aplicados a fenótipos binários, especialmente em situações com baixa incidência, categorias desbalanceadas ou menor quantidade de informação fenotípica disponível (Hidalgo et al., 2024). Além disso, fenótipos binários tendem a reduzir a capacidade de discriminação entre indivíduos, uma vez que diferenças graduais de resistência ao estresse térmico são resumidas em apenas duas categorias fenotípicas.

O melhor desempenho do modelo GBLUP demonstra que a incorporação de informações genômicas aumentou a precisão da predição dos valores genéticos para tolerância ao frio. Revisões recentes sobre seleção genômica em aquicultura indicam vantagens das abordagens genômicas na predição de características quantitativas complexas em comparação aos modelos baseados apenas em

pedigree (Song et al., 2025). Isso ocorre porque marcadores SNP permitem estimar de forma mais acurada as relações genéticas reais entre os indivíduos, superando limitações associadas ao parentesco esperado via pedigree (Meuwissen et al., 2001). A utilização dessas informações genômicas permite capturar com maior precisão a variabilidade genética presente na população, contribuindo para estimativas mais consistentes dos valores genéticos.

Resultados semelhantes foram observados por Yoshida et al. (2018), Vallejo et al. (2017) e Song et al. (2022), que relataram maior acurácia preditiva para modelos genômicos em diferentes espécies aquícolas. Entretanto, a magnitude desse ganho pode variar entre populações e espécies, dependendo de fatores como tamanho populacional, densidade de marcadores SNP, estrutura de parentesco, intensidade de desequilíbrio de ligação e representatividade da população de treinamento. Assim, embora os resultados obtidos reforcem o potencial do GBLUP para tolerância ao frio em tambaqui, a eficiência preditiva dessa abordagem ainda pode ser ampliada com populações de referência maiores, maior conectividade genética entre gerações e validações em diferentes condições de cultivo.

Os resultados obtidos também indicam que a tolerância ao frio em tambaqui envolve mecanismos fisiológicos complexos relacionados à manutenção do equilíbrio metabólico e celular durante a exposição prolongada a baixas temperaturas. Essa interpretação é compatível com o melhor desempenho do GBLUP, uma vez que características influenciadas por múltiplas regiões genômicas de pequeno efeito tendem a ser melhor preditas por modelos que utilizam informações distribuídas ao longo de todo o genoma.

Apesar do potencial observado, a aplicação da seleção para tolerância ao frio deve considerar possíveis respostas correlacionadas em características produtivas. Estudos adicionais avaliando correlações genéticas entre tolerância ao frio, crescimento, desempenho zootécnico e adaptação a diferentes ambientes serão importantes para definir estratégias de seleção mais seguras e eficientes. Essas avaliações podem auxiliar na incorporação da tolerância ao frio aos objetivos de melhoramento sem comprometer características economicamente relevantes.

Em conjunto, os resultados deste estudo evidenciam a existência de base genética aditiva para tolerância ao frio em tabaqui e demonstram o potencial das abordagens genômicas para aumentar a precisão da predição genética da característica. As estimativas de herdabilidade obtidas indicam que ganhos genéticos podem ser alcançados por meio da seleção de indivíduos mais tolerantes ao frio, favorecendo o aumento gradual da resistência da população ao longo das gerações. Considerando a expansão do cultivo de tabaqui para regiões sujeitas a temperaturas mais baixas, a incorporação de ferramentas genômicas em programas de melhoramento representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de populações mais adaptadas às variações térmicas em diferentes condições de cultivo.

Ainda que os modelos genômicos permitam aumentar a acurácia da predição dos valores genéticos, eles não identificam diretamente quais regiões do genoma contribuem para a variação da característica. Dessa forma, as análises de associação genômica ampla complementam a predição genômica ao possibilitar a identificação de regiões cromossômicas associadas à tolerância ao frio e ampliar a compreensão da arquitetura genética dessa característica.

Embora a predição genômica permita estimar com maior precisão o mérito genético dos indivíduos, compreender como a variabilidade genética está distribuída ao longo do genoma é fundamental para elucidar os mecanismos envolvidos na tolerância ao frio.

Os resultados do GWAS e das análises de variância genética explicada indicam que a resistência ao frio em tabaqui apresenta arquitetura genética complexa e predominantemente poligênica. Os sinais de associação foram amplamente distribuídos ao longo do genoma, sem evidência de QTLs de grande efeito associados à sobrevivência sob estresse térmico. Esse padrão sugere que a variação fenotípica para tolerância ao frio resulta da ação conjunta de múltiplas regiões genômicas de pequeno efeito, característica comum em fenótipos complexos e adaptativos (Goddard & Hayes, 2010).

Resultados semelhantes têm sido descritos em estudos de tolerância térmica e sobrevivência sob estresse ambiental em peixes, nos quais a arquitetura genética tende a ser distribuída, sem predominância consistente de loci majoritários (Yoshida & Yáñez, 2021; Lin et al., 2024; Gonen et al., 2024; Han et al., 2025).

Entretanto, a ausência de loci de grande efeito deve ser interpretada com cautela, pois também pode refletir limitações inerentes ao poder estatístico do GWAS, especialmente em características de sobrevivência influenciadas por fatores ambientais e por efeitos genéticos de baixa magnitude (Visscher et al., 2017).

Apesar do caráter poligênico da resistência ao frio, algumas regiões genômicas apresentaram contribuição moderada para a variabilidade genética das características avaliadas, padrão semelhante ao observado em estudos de associação genômica ampla (GWAS) para características complexas, como crescimento, rendimento corporal e resistência a doenças (Tsai et al., 2015; Gonzalez-Pena et al., 2016). Esses resultados reforçam que fenótipos complexos em organismos aquáticos geralmente apresentam arquitetura poligênica, controlada por múltiplos loci de pequeno a moderado efeito.

Diferenças entre regiões associadas identificadas em diferentes estudos podem estar relacionadas ao tamanho populacional, densidade de marcadores, estrutura genética das populações, metodologia estatística empregada e condições ambientais experimentais.

Por mais que a identificação dessas regiões forneça evidências sobre a organização genética da tolerância ao frio, a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos depende da investigação dos genes localizados nesses intervalos genômicos e de suas possíveis funções na resposta ao estresse térmico.

A identificação de regiões genômicas associadas à tolerância ao frio permitem avançar da compreensão da arquitetura genética da característica para a investigação dos possíveis mecanismos biológicos envolvidos na resposta ao estresse térmico. Nesse contexto, a análise dos genes localizados nas regiões associadas contribui para interpretar a plausibilidade biológica dos sinais identificados pelo GWAS.

Apesar de que a arquitetura genética observada seja predominantemente poligênica, algumas regiões genômicas apresentaram sinais consistentes de associação e permitiram a identificação de genes candidatos biologicamente plausíveis para a resposta ao frio.

Um dos resultados mais relevantes deste estudo foi a identificação do SNP AX-508786288, localizado no cromossomo 20, que apresentou os maiores níveis

de associação para HTD e sobrevivência binária. Apesar da ausência de genes anotados na região correspondente, o sinal foi consistente para ambos os fenótipos avaliados, sugerindo que essa região genômica pode representar um componente importante da base genética da tolerância ao frio em tambaqui. A identificação de regiões intergênicas associadas a características complexas não é incomum em estudos de GWAS, especialmente em espécies aquícolas cujo nível de anotação genômica ainda é limitado. Dessa forma, a região associada ao SNP AX-508786288 representa um alvo promissor para futuros estudos de caracterização genômica e validação funcional.

Além do SNP AX-508786288, outras regiões intergênicas também foram identificadas nos cromossomos 21 e 26. Embora não tenham apresentado genes anotados nas janelas de ± 200 kb avaliadas, essas regiões foram mantidas entre os resultados sugestivos do GWAS e podem representar elementos regulatórios ou regiões ainda não completamente anotadas no genoma do tambaqui. A identificação dessas regiões reforça a necessidade de futuros estudos de anotação funcional e caracterização genômica para melhor compreensão de sua possível participação na tolerância ao frio.

A concordância parcial entre os resultados obtidos para HTD e sobrevivência binária sugere que esses fenótipos compartilham parte da base genética associada à resistência ao frio. Embora o HTD represente uma medida contínua do tempo de resistência e a sobrevivência binária represente uma classificação categórica do desfecho, ambos refletem aspectos complementares da capacidade do animal de suportar o estresse térmico. Destaca-se a região localizada no cromossomo 16, associada ao SNP AX-509149388, identificada em ambos os fenótipos avaliados, sugerindo compartilhamento parcial da base genética envolvida nesses fenótipos e reforçando a consistência biológica dos sinais detectados.

Nessa região, foram identificados genes como adenosine receptor A2b e cytochrome b5 type B, relacionados à resposta ao estresse celular, metabolismo energético e atividade mitocondrial. Essa associação é biologicamente plausível, uma vez que estudos conduzidos em carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), peixe-porco-verde (*Thamnaconus septentrionalis*) e bagre (*Cranoglanis boudierius*) demonstraram que a exposição ao frio pode induzir alterações no metabolismo energético, dano mitocondrial, aumento do estresse oxidativo e ativação de

mecanismos celulares associados à manutenção energética e sobrevivência sob estresse térmico prolongado (Wang et al., 2024; Zang et al., 2025; Huo et al., 2026).

Para a sobrevivência binária, a região identificada no cromossomo 4 incluiu genes associados à homeostase iônica, integridade de membranas, apoptose e resposta imune, incluindo KCNT2, TNFSF14, TNFSF18 e PLPP3. Esses resultados são coerentes com os efeitos fisiológicos do frio em peixes, uma vez que a redução da temperatura pode comprometer a homeostase iônica, a integridade branquial e mecanismos responsáveis pelo equilíbrio celular. Estudos em medaka-indiano (*Oryzias melastigma*) e atum-albacora (*Thunnus albacares*) demonstraram que o estresse por frio altera mecanismos de transporte iônico, integridade tecidual e respostas oxidativas (Ranasinghe et al., 2025; Huang et al., 2025). Além disso, evidências em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) sugerem que canais envolvidos na percepção da temperatura podem contribuir para a resposta fisiológica ao frio (Cao et al., 2024).

A identificação de TNFSF14 e TNFSF18 também sugere participação de mecanismos inflamatórios e apoptóticos na resposta ao frio. Em esturjões híbridos (*Acipenser baerii* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂), Liu et al. (2025) observaram aumento do apoptose hepática e ativação de genes relacionados à imunidade inata durante o estresse crônico por frio. Resultados semelhantes foram descritos em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), incluindo alterações em genes inflamatórios, aumento do cortisol e sinais de dano celular após exposição prolongada a baixas temperaturas (Dellagostin et al., 2022). Esses achados sugerem que a sobrevivência sob frio depende não apenas da manutenção energética, mas também da capacidade de reduzir danos celulares e manter o equilíbrio fisiológico durante o estresse térmico.

No caso do HTD, regiões no cromossomo 15 apresentaram genes relacionados à sinalização celular e resposta imune, incluindo SEMA3D e interleukin 12B 2 (IL-12). A presença de IL-12 sugere que mecanismos imunológicos podem influenciar o tempo de resistência ao frio. Em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), Gao et al. (2023) demonstraram que a IL-12 participa da ativação de respostas imunes celulares. Além disso, estudos em truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) mostraram que baixas temperaturas podem comprometer respostas imunes em peixes ectotérmicos (Matsumoto et al., 2026). Em conjunto, esses resultados sugerem que a capacidade de manter respostas imunes eficientes

durante a exposição prolongada ao frio, pode contribuir para maior tempo de sobrevivência sob estresse térmico.

A presença de genes como PLPP3, TNFSF14 e TNFSF18 também sugere possível envolvimento de vias relacionadas ao metabolismo lipídico, apoptose e regulação imune durante a resposta ao frio. Estudos recentes em outras espécies de peixes demonstram que a adaptação ao estresse térmico envolve alterações em mecanismos associados ao metabolismo energético, estresse oxidativo, sobrevivência celular e vias regulatórias como FoxO, TGF- β e PPAR (Gao et al., 2026; Li et al., 2024; Zhu et al., 2024). Embora esses estudos não tenham sido conduzidos em tambaqui, eles reforçam a hipótese de que a tolerância ao frio depende da integração entre mecanismos metabólicos, celulares e imunológicos.

De forma geral, os genes candidatos identificados apontam para a participação integrada de processos relacionados ao metabolismo energético, estresse oxidativo, homeostase celular, apoptose, inflamação e resposta imune. Esses mecanismos são compatíveis com a natureza complexa da adaptação ao frio em peixes tropicais, nos quais a sobrevivência sob baixas temperaturas depende da manutenção simultânea do equilíbrio metabólico, celular e imunológico, uma vez que o estresse térmico desencadeia alterações coordenadas nas vias energéticas, antioxidantes, apoptóticas e imunes (Wang et al., 2026; Zhang et al., 2024; Qin et al., 2022; Pereira de Faria et al., 2023).

Em conjunto, os resultados de associação genômica e a caracterização dos genes candidatos fornecem evidências sobre os processos biológicos potencialmente envolvidos na tolerância ao frio em tambaqui. Essas informações ampliam a compreensão dos mecanismos genéticos da característica e subsidiam a discussão sobre o potencial de incorporação desse conhecimento em programas de melhoramento genético.

A compreensão da base genética, da capacidade preditiva dos modelos genômicos e dos possíveis mecanismos biológicos envolvidos na tolerância ao frio fornece subsídios para avaliar o potencial de aplicação dessa característica em programas de melhoramento genético.

A integração entre as análises de genética quantitativa e genômica permitiu caracterizar de forma abrangente a base genética da tolerância ao frio em tambaqui. As estimativas de herdabilidade demonstraram que a característica

apresenta potencial de resposta à seleção, enquanto o melhor desempenho do GBLUP evidenciou que a incorporação de informações genômicas pode aumentar a acurácia da predição dos valores genéticos. De forma complementar, as análises de GWAS indicaram que essa variabilidade genética está distribuída entre múltiplas regiões do genoma e identificaram genes candidatos biologicamente compatíveis com os mecanismos fisiológicos envolvidos na resposta ao frio.

Esses resultados ampliam o conhecimento sobre a arquitetura genética da tolerância ao frio em tambaqui e fornecem evidências de que programas de melhoramento poderão incorporar essa característica como objetivo de seleção. Entretanto, estudos futuros envolvendo populações maiores, diferentes gerações e validações funcionais dos genes candidatos serão importantes para confirmar os mecanismos identificados e ampliar a eficiência das estratégias de seleção genômica.

Considerando a expansão da piscicultura para regiões sujeitas a maiores oscilações térmicas, a incorporação de ferramentas genômicas aos programas de melhoramento representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de populações de tambaqui mais adaptadas às baixas temperaturas, contribuindo para aumentar a sustentabilidade, a produtividade e a competitividade da cadeia produtiva da espécie.

Em conjunto, os resultados desta tese demonstram que a integração entre a avaliação fenotípica, a genética quantitativa e as ferramentas genômicas constitui uma abordagem promissora para o entendimento e a seleção da tolerância ao frio em tambaqui, estabelecendo a base para as considerações finais deste trabalho.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A integração entre as análises fenotípicas, de genética quantitativa e genômica permitiu uma compreensão abrangente da tolerância ao frio em tambaqui, desde sua expressão fenotípica até a identificação de regiões genômicas e genes potencialmente envolvidos na resposta ao estresse térmico.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a tolerância ao frio em tambaqui (*Colossoma macropomum*) apresenta base genética suficiente para responder à seleção, evidenciada pelas estimativas de herdabilidade, pelo

desempenho superior das abordagens genômicas na predição dos valores genéticos e pela identificação de regiões genômicas associadas aos fenótipos avaliados. Em conjunto, esses achados ampliam o conhecimento sobre a arquitetura genética da característica e fornecem subsídios para sua incorporação em programas de melhoramento genético da espécie.

Entretanto, os resultados devem ser interpretados considerando as condições em que o experimento foi conduzido. O desafio térmico foi realizado em ambiente controlado, permitindo elevada padronização das condições experimentais e reduzindo fontes de variação ambiental. Embora esse delineamento seja essencial para a obtenção de estimativas genéticas consistentes e para a identificação de regiões genômicas associadas à característica, ele não reproduz integralmente a complexidade dos sistemas comerciais de produção. Em condições de campo, fatores como qualidade da água, manejo, densidade de estocagem, alimentação, sanidade e oscilações ambientais podem influenciar a expressão fenotípica da tolerância ao frio e, conseqüentemente, a magnitude das estimativas obtidas.

Dessa forma, recomenda-se que estudos futuros validem esses resultados em diferentes ambientes de produção e em outras populações geneticamente distintas, permitindo avaliar a consistência das estimativas e o desempenho das estratégias de seleção em condições mais próximas da realidade da piscicultura comercial. Além disso, estudos funcionais envolvendo os genes candidatos identificados poderão contribuir para elucidar os mecanismos biológicos relacionados à resposta ao frio e ampliar o potencial de aplicação dessas informações em programas de seleção genômica.

Apesar dessas limitações, este trabalho representa um avanço para o melhoramento genético do tambaqui ao integrar, de forma inédita, abordagens de genética quantitativa e genômica na investigação da tolerância ao frio. Os resultados obtidos estabelecem uma base científica para o desenvolvimento de estratégias de seleção voltadas à obtenção de populações mais adaptadas às variações térmicas, contribuindo para a expansão sustentável da produção da espécie em diferentes regiões de cultivo.

Dessa forma, esta tese amplia o conhecimento sobre os determinantes genéticos da tolerância ao frio em tabaqui e fornece fundamentos científicos que poderão orientar futuras pesquisas e subsidiar o desenvolvimento de programas de melhoramento voltados à adaptação da espécie a ambientes com maior desafio térmico.

6. REFERÊNCIAS

AGUDELO, J. F. G. *et al.* Genomic selection signatures in farmed *Colossoma macropomum* from tropical and subtropical regions in South America. *Evolutionary Applications*, v. 15, n. 4, p. 679–693, 2022.

ANDERSON, D. A.; SCHARF, F. S. The effect of variable winter severity on size-dependent overwinter mortality caused by acute thermal stress in juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *ICES Journal of Marine Science*, v. 71, n. 4, p. 1010–1021, 2014.

ATAIDES, K. D. S. Estudos genéticos e de interpretação de imagem de características morfométricas em peixes tambaqui (*Colossoma macropomum*). Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira, Universidade Estadual Paulista, Registro, 2022.

BAGGIO, R. A. *et al.* Hybrids between *Pseudoplatystoma corruscans* and *P. reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) previously reported in the Upper Paraná River are likely escapes from aquaculture farms. *Zoologia*, Curitiba, v. 33, n. 2, 2016.

BARRÍA, A. *et al.* Genetic parameters for resistance to Tilapia Lake Virus (TiLV) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, v. 522, p. 735126, 2020.

CAMPOS, J. L.; ONO, E. A.; ISTCHUK, P. I. A cadeia de produção e o preço do tambaqui. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, v. 25, n. 149, p. 42–45, maio/jun. 2015.

CAO, Z. *et al.* Low temperature inhibits food intake via TRPA1 channel activation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 592, p. 112333, 2024.

CHARLESWORTH, B. The effects of weak selection on neutral diversity at linked sites. *Genetics*, v. 221, n. 1, p. iyac027, 2022.

CHARO-KARISA, H. *et al.* Heritability of cold tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. *Aquaculture*, v. 249, n. 1–4, p. 115–123, 2005.

CRISCUOLO-URBINATI, E.; KURADOMI, R. Y.; URBINATI, E. C.; BATLOUNI, S. R. The administration of exogenous prostaglandin may improve ovulation in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Theriogenology*, v. 78, p. 2087–2094, 2012.

DA FONSECA, S. M. *et al.* Cryoanesthesia in tambaqui *Colossoma macropomum*: Behavioral and electrocardiographic responses. *Aquaculture*, v. 582, p. 740551, 2024.

DEL PAZO, F. *et al.* Genetic diversity and structure of the commercially important native fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*) from cultured and wild fish populations: relevance for broodstock management. *Aquaculture International*, v. 29, n. 1, p. 289–305, 2021.

DELLAGOSTIN, E. N. *et al.* Chronic cold exposure modulates genes related to feeding and immune system in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 128, p. 269–278, 2022.

DOBRZYCKA-KRAHEL, A.; ROMÁN-HIDALGO, C. Can the use of aquatic non-native species across Europe mitigate their environmental impact? *Environmental Impact Assessment Review*, v. 114, p. 107932, 2025.

FERNANDES, E. M. *et al.* Survival of purebred and hybrid Serrasalminidae under low water temperature conditions. *Aquaculture*, v. 497, p. 97–102, 2018.

FERREIRA, L. C. *et al.* Antiparasitic activity of *Mentha piperita* (Lamiaceae) essential oil against *Piscinoodinium pillulare* and its physiological effects on *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Aquaculture*, v. 512, p. 734343, 2019.

GAO, H. *et al.* Interleukin-12 induces IFN- γ secretion and STAT signaling implying its potential regulation of Th1 cell response in Nile tilapia. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 140, p. 108974, 2023.

GAO, Y. *et al.* Transcriptome reveals key genes involved in oxidative stress, lipid metabolism and signal transduction in response to low temperature in hybrid puffer (*Takifugu obscurus*♀ × *Takifugu rubripes*♂). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, p. 101869, 2026.

GERKEN, A. R.; MACKAY, T. F.; MORGAN, T. J. Artificial selection on chill-coma recovery time in *Drosophila melanogaster*: direct and correlated responses to selection. *Journal of Thermal Biology*, v. 59, p. 77–85, 2016.

GHEYAS, A. A. *et al.* Heritability estimation of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) harvest traits using microsatellite based parentage assignment. *Aquaculture*, v. 294, n. 3–4, p. 187–193, 2009.

GJEDREM, T.; ROBINSON, N.; RYE, M. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: a review. *Aquaculture*, v. 350–353, p. 117–129, 2012.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (ed.). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2018. p. 165–204.

GONEN, S.; BENFEY, T. J.; GARBER, A. F. The genomic architecture of high temperature tolerance in a year class of Atlantic salmon. *Aquaculture*, v. 578, p. 740020, 2024.

GONZALEZ-PENA, D. *et al.* Genome-wide association study for identifying loci that affect fillet yield, carcass, and body weight traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Genetics*, v. 7, p. 203, 2016.

GUIMARÃES, R. Q. *et al.* Integrated cultivation of tambaqui (*Colossoma macropomum*) with coriander (*Coriandrum sativum* L.) grown at different plant density. *Journal of Cleaner Production*, v. 470, p. 143346, 2024.

GUTIERREZ, A. P.; MATIKA, O.; BEAN, T. P.; HOUSTON, R. D. Genomic selection for growth traits in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): potential of low-density marker panels for breeding value prediction. *Frontiers in Genetics*, v. 9, p. 391, 2018.

HAN, S.; WANG, J.; ZHANG, J.; WANG, Y.; LUO, Y.; LIU, Q.; CHEN, L. GWAS and selective sweep analysis reveal the genetic basis of cold tolerance in the domesticated pufferfish (*Takifugu obscurus*). *Aquaculture*, v. 598, p. 742018, 2025.

HANCHAPOLA, H. A. C. R. *et al.* Genome-wide association analysis to identify novel candidate genes and genomic model optimization to predict acute low-temperature stress resilience in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, p. 101764, 2026.

HAYDEN, B.; PULCINI, D.; KELLY-QUINN, M.; O'GRADY, M.; CAFFREY, J.; MCGRATH, A.; MARIANI, S. Hybridisation between two cyprinid fishes in a novel habitat: genetics, morphology and life-history traits. *BMC Evolutionary Biology*, v. 10, n. 1, p. 169, 2010.

HIDALGO, J. *et al.* Converting estimated breeding values from the observed to probability scale for health traits. *Journal of Dairy Science*, v. 107, n. 11, p. 9628–9637, 2024.

HILSDORF, A. W. S. *et al.* The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: from Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, v. 14, n. 2, p. 993–1027, 2022.

HOGA, C. A. *et al.* Development and validation of an analytical method for the determination of 17 β -estradiol residues in muscle of tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) by LC-MS/MS and its application in samples from a fish sexual reversion study. *Journal of Chromatography B*, v. 1128, p. 121774, 2019.

HUANG, J.; FU, Z.; BAI, J.; MA, Z. Cold stress disrupts gill homeostasis in juvenile yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by altering oxidative, metabolic, and immune responses. *Marine Environmental Research*, v. 210, p. 107300, 2025.

HUO, Y.; HU, R.; LIU, M.; CAI, X.; ZHOU, Y.; ZHAI, W.; XU, Q. Integrated transcriptomic and metabolomic analysis reveals suppression of the intestinal IgT-like mediated immune network in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) under long-term cold stress. *Aquaculture*, p. 744122, 2026.

IGNATZ, E. H. *et al.* Application of genomic tools to study and potentially improve the upper thermal tolerance of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics*, v. 26, n. 1, p. 294, 2025.

JIANG, Y.; GUO, J.; HAISA, A.; SHEN, Y. Genome-wide association analysis of heat tolerance in the northern pike (*Esox lucius*). *Aquaculture*, v. 559, p. 738459, 2022.

JIAO, H. *et al.* Uncovering the chromatin-mediated transcriptional regulatory network governing cold stress responses in fish immune cells. *Journal of Genetics and Genomics*, 2025.

KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, v. 16, n. 5, p. 1099–1106, 2007.

KIM, M. S. *et al.* Genome-wide association study of upper thermal tolerance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, p. 743381, 2025.

KNYTL, M.; KALOUS, L.; RYLKOVÁ, K.; CHOLEVA, L.; MERILÄ, J.; RÁB, P. Morphologically indistinguishable hybrid *Carassius* female with 156 chromosomes: a threat for the threatened crucian carp, *C. carassius* L. *PLoS ONE*, v. 13, n. 1, p. e0190924, 2018.

LEGARRA, A.; REVERTER, A. Semi-parametric estimates of population accuracy and bias of predictions of breeding values and future phenotypes using the LR method. *Genetics Selection Evolution*, v. 50, n. 1, p. 53, 2018.

LI, H. *et al.* Integration of transcriptome and metabolome reveals molecular mechanisms responsive to cold stress in gynogenetic mrigal carp (*Cirrhinus mrigala*). *Aquaculture*, v. 579, p. 740200, 2024.

LI, W.; LUAN, S.; LUO, K.; SUI, J.; XU, X.; TAN, J.; KONG, J. Genetic parameters and genotype by environment interaction for cold tolerance, body weight and survival of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* at different temperatures. *Aquaculture*, v. 441, p. 8–15, 2015.

LI, X. *et al.* Genome wide association analysis reveals the genetic sites of heat resistance in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, v. 590, p. 741025, 2024.

LIN, W. *et al.* Genomic insights into thermal tolerance in Pacific abalone: implications for food security and sustainable aquaculture. *Water Biology and Security*, p. 100632, 2026.

LIRA, L. V. *et al.* Quantitative genetic variation for resistance to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in the Neotropical fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Reports*, v. 17, p. 100338, 2020.

LIU, C. *et al.* Deciphering the genetic basis and genomic prediction of heat tolerance trait from whole-genome resequencing in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *Aquaculture*, v. 598, p. 741951, 2025.

MA, L.; SAILLANT, E.; GATLIN III, D. M.; NEILL, W. H.; VEGA, R. R.; GOLD, J. R. Heritability of cold tolerance in red drum. *North American Journal of Aquaculture*, v. 69, n. 4, p. 381–387, 2007.

MASTROCHIRICO-FILHO, V. A. *et al.* Development of a multi-species SNP array for serrasalmid fish *Colossoma macropomum* and *Piaractus mesopotamicus*. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 19289, 2021.

MAZINI, B. S. M.; MARTINS, G. P.; DE CASTRO MENEZES, L. L.; GUIMARÃES, I. G. Nutritional feed additives reduce the adverse effects of transport stress in the immune system of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Fish and Shellfish Immunology Reports*, v. 3, p. 100051, 2022.

MEBRATU, A. T.; VANHANDSAEME, L.; ASFAW, Y. T.; MERCKX, W.; JANSSENS, G. P. J. Exploring fibrous ingredients for fish: the case of feeding sugar beet pulp to tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Heliyon*, v. 9, n. 12, 2023.

MELO, N.; DE SOUZA, S. P.; KONIG, I.; DE JESUS PAULA, D. A.; FERREIRA, I. S.; LUZ, R. K.; MURGAS, L. D. S. Sensitivity of different organs and tissues as biomarkers of oxidative stress in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) submitted to fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 291, p. 111595, 2024.

MEUWISSEN, T. H.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, v. 157, n. 4, p. 1819–1829, 2001.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MISZTAL, I.; LEGARRA, A.; AGUILAR, I. Using recursion to compute the inverse of the genomic relationship matrix. *Journal of Dairy Science*, v. 97, p. 3943–3952, 2014.

MISZTAL, I. Inexpensive computation of the inverse of the genomic relationship matrix in populations with small effective population size. *Genetics*, v. 202, p. 401–409, 2016.

NETO, R. V. R.; HASHIMOTO, D. T.; CORRÊA, C. F.; ENKE, D. B. S.; GERVAZ, W. R.; LATTANZI, G. R. Performance of tambacu hybrid (♂ *Piaractus mesopotamicus* × ♀ *Colossoma macropomum*) and its parental pacu (*Piaractus mesopotamicus*) evaluated in cages under different feeding programmes. *Aquaculture Reports*, v. 17, p. 100355, 2020.

PEIXE BR. *Anuário PeixeBR 2026: panorama da aquicultura brasileira*. Associação Brasileira da Piscicultura, 2026.

PEREIRA DE FARIA, C. D. F.; PIEDADE, A. E.; URBINATI, E. C. Effect of low water temperature on the stress, innate immune, and antioxidant responses of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a sub-tropical fish. *Aquaculture International*, v. 31, n. 6, p. 3297–3310, 2023.

QIN, C.; XIE, J.; SHI, X.; TAN, J. Cold stress after swimming fatigue decreases immunity-related gene expression in the spleen of the Chinese sucker. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 122, p. 455–464, 2022.

RANASINGHE, N. *et al.* Salinity-dependent responses differentiate branchial ion regulation during acute hypothermal stress in euryhaline Indian medaka. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 51, n. 5, p. 165, 2025.

SAILLANT, E.; WANG, X.; MA, L.; GATLIN III, D. M.; VEGA, R. R.; GOLD, J. R. Genetic effects on tolerance to acute cold stress in red drum, *Sciaenops ocellatus* L. *Aquaculture Research*, v. 39, n. 13, p. 1393–1398, 2008.

SONG, H. *et al.* Genomic prediction using low-density marker panels, low-coverage sequencing, and imputation in aquaculture species. *Frontiers in Genetics*, v. 13, p. 865161, 2022.

SONG, H.; DONG, T.; YAN, X.; WANG, W.; ZHANG, Q.; HU, H. Advancing aquaculture breeding through genomic selection: models, tools, and challenges. *Water Biology and Security*, p. 100494, 2025.

SORENSEN, D.; GIANOLA, D. *Likelihood, Bayesian and MCMC methods in quantitative genetics*. New York: Springer, 2002.

TANG, H. *et al.* Estimation of genetic parameters for upper thermal tolerance and growth traits in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*, v. 598, p. 742073, 2025.

TAO, Y. F. *et al.* Deciphering salinity tolerance in red tilapia (*Oreochromis* spp.): insights from a genome-wide association study and genomic selection. *Aquaculture*, v. 617, p. 743778, 2026.

TSAI, H. Y. *et al.* Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array. *BMC Genomics*, v. 16, n. 1, p. 969, 2015.

TURNER, S. D. qqman: an R package for visualizing GWAS results using QQ and Manhattan plots. *Journal of Open Source Software*, v. 3, p. 731, 2018.

UDAYANTHA, H. M. V. *et al.* Identification of candidate variants and genes associated with temperature tolerance in olive flounders by genome-wide association study (GWAS). *Aquaculture*, v. 576, p. 739858, 2023.

VAL, A. L.; OLIVEIRA, A. M. *Colossoma macropomum*—a tropical fish model for biology and aquaculture. *Journal of Experimental Zoology Part A*, v. 335, p. 761–770, 2021.

VALENTI, W. C. *et al.* Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, v. 19, p. 100611, 2021.

VALLEJO, R. L. *et al.* Genomic selection models double the accuracy of predicted breeding values for bacterial cold water disease resistance compared to a traditional pedigree-based model in rainbow trout aquaculture. *Genetics Selection Evolution*, v. 49, n. 1, p. 17, 2017.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, v. 91, p. 4414–4423, 2008.

VETEŠNÍK, L.; POJEZDAL, L.; RESCHOVÁ, S.; ŠIMKOVÁ, A. Specific anti-SVCV antibodies in hybrids of common carp (*Cyprinus carpio*) and gibel carp (*Carassius gibelio*) reflect heterosis advantage and genetic breakdown. *Aquaculture*, v. 593, p. 741320, 2024.

VISSCHER, P. M.; WRAY, N. R.; ZHANG, Q.; SKLAR, P.; MCCARTHY, M. I.; BROWN, M. A.; YANG, J. 10 years of GWAS discovery: biology, function, and translation. *The American Journal of Human Genetics*, v. 101, n. 1, p. 5–22, 2017.

WANG, D. *et al.* Molecular mechanisms of cold stress-induced energy stress, cholesterol metabolic disorders, and apoptosis in *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture*, v. 610, p. 742886, 2026.

WANG, D. *et al.* Cold stress-induced autophagy and apoptosis disorders are mainly mediated by AMPK/PPAR/PI3K/AKT/mTOR pathways. *Aquaculture*, v. 583, p. 740574, 2024.

WANG, H. *et al.* Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6-week body weight in broiler chickens. *Frontiers in Genetics*, v. 5, p. 134, 2014.

WANG, M. *et al.* Evaluation of genetic parameters for growth and cold tolerance traits in *Fenneropenaeus chinensis* juveniles. *PLoS ONE*, v. 12, n. 8, p. e0183801, 2017.

WOYNÁROVICH, A.; VAN ANROOY, R. *Field guide to the culture of tambaqui (Colossoma macropomum, Cuvier, 1816)*. Rome: FAO, 2019. (FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, n. 624).

WU, Y. *et al.* GWAS identified candidate variants and genes associated with acute heat tolerance of large yellow croaker. *Aquaculture*, v. 540, p. 736696, 2021.

YANAR, M.; ERDOĞAN, E.; KUMLU, M. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish species. *Aquaculture*, v. 501, p. 382–386, 2019.

YOSHIDA, G. M.; YÁÑEZ, J. M. Multi-trait GWAS using imputed high-density genotypes from whole-genome sequencing identifies genes associated with body traits in Nile tilapia. *BMC Genomics*, v. 22, n. 1, p. 57, 2021.

YOSHIDA, G. M.; YÁÑEZ, J. M. Increased accuracy of genomic predictions for growth under chronic thermal stress in rainbow trout by prioritizing variants from GWAS using imputed sequence data. *Evolutionary Applications*, v. 15, n. 4, p. 537–552, 2022.

YOSHIDA, G. M.; BANGERA, R.; CARVALHEIRO, R.; CORREA, K.; FIGUEROA, R.; LHORENTE, J. P.; YÁÑEZ, J. M. Genomic prediction accuracy for resistance against *Piscirickettsia salmonis* in farmed rainbow trout. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 8, n. 2, p. 719–726, 2018.

YU, H. *et al.* Deciphering the genetic basis and prediction of genomic estimated breeding values for heat tolerance in Zhikong scallop (*Chlamys farreri*). *Aquaculture*, v. 565, p. 739090, 2023.

ZANG, X.; LIU, Y.; WANG, Z.; WU, Y.; QIN, B.; YIN, S.; WANG, T. Astral-based DIA proteomics explored the cold response mechanism in the liver of juvenile greenfin horse-faced filefish (*Thamnaconus septentrionalis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, p. 101710, 2025.

ZHANG, J. *et al.* Liver transcriptome analysis reveal the metabolic and apoptotic responses of *Trachinotus ovatus* under acute cold stress. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 148, p. 109476, 2024.

ZHU, C.; YANG, H.; ZHU, W.; JIANG, Q.; DONG, Z.; WANG, L. Integrated analysis of transcriptome and metabolome in the brain after cold stress of red tilapia during overwintering. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 24, p. 13372, 2024.

APÊNDICE - RELAÇÃO COMPLETA DOS GENES IDENTIFICADOS

Tabela 8 – Relação completa dos genes identificados nas regiões genômicas sugestivas detectadas pelo GWAS para as características tempo até a morte (HTD) e sobrevivência binária (BIN) em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

TRAIT	SNP	CHR	LOGP	VARIANCIA_EXPLICADA	GENE	SELECIONADO_TABELA7
BIN	AX-508786288	20	7,35350315	0,3503957	SEM_GENE_ANOTADO	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	Phospholipid phosphatase 3-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	Reverse transcriptase domain-containing protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	dynammin GTPase	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	egapxtmp_000537	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	hypothetical protein	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	potassium channel subfamily T member 2	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	queuine tRNA-ribosyltransferase catalytic subunit 1	NAO
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	ribonuclease H	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	transmembrane emp24 domain-containing protein 1-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 14-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 14-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 14-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 14-like	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 18	SIM
BIN	AX-508808703	4	5,72545423	0,3240397	tumor necrosis factor ligand superfamily member 6-like	SIM
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	SIM
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	adenosine receptor A2b	SIM

BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	copine VII	SIM
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	cytochrome b5 type B	SIM
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	egapxtmp_014037	NAO
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	glycine cleavage system protein H	NAO
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	polyamine modulated factor 1 binding protein 1	SIM
BIN	AX-509149388	16	5,27290384	0,08704334	ribosomal protein L13	SIM
HTD	AX-508786288	20	7,9538093	0,06938869	SEM_GENE_ANOTADO	NAO
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	SIM
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	adenosine receptor A2b	SIM
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	copine VII	SIM
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	cytochrome b5 type B	SIM
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	egapxtmp_014037	NAO
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	glycine cleavage system protein H	NAO
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	polyamine modulated factor 1 binding protein 1	SIM
HTD	AX-509149388	16	5,11897788	0,2401258	ribosomal protein L13	SIM
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	H2A.X variant histone	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	POU class 2 homeobox associating-factor 2	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	activating transcription factor 5a	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	archain 1a	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	c2cd2 like	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	grass carp reovirus (GCRV)-induced gene 2o	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	hydroxymethylbilane synthase a	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	pleckstrin homology-like	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	serine/threonine kinase 36	NAO
HTD	AX-508800817	26	5,010149	0,0971142	sorting nexin 19a	NAO
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	actinin%2C alpha 2b	NAO
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	cholinergic receptor%2C muscarinic 3a	NAO
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	egapxtmp_015686	NAO
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	prolyl 4-hydroxylase%2C alpha polypeptide I b	NAO
HTD	AX-509107674	17	4,9172936	0,1132651	ryanodine receptor 2b (cardiac)	SIM

HTD	AX-509100149	21	4,44811105	0,08152302	SEM_GENE_ANOTADO	NAO
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 38	SIM
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	adenosine receptor A2b	SIM
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	copine VII	SIM
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	cytochrome b5 type B	SIM
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	egapxtmp_014037	NAO
HTD	AX-509147686	16	4,40744576	0,09581407	polyamine modulated factor 1 binding protein 1	SIM
HTD	AX-508822536	21	4,39130178	0,1540262	SEM_GENE_ANOTADO	NAO
HTD	AX-509115692	26	4,3776927	0,3578329	SEM_GENE_ANOTADO	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	ADP-ribosylation factor 4	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	ADP-ribosylation factor 4-like	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	Bardet-Biedl syndrome 10	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	CD9 molecule a	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM35-like	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	GLI pathogenesis-related 1b	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	RAB%2C member of RAS oncogene family-like 2	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3a	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	UTP15 small subunit processome component	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	anillin%2C actin binding protein 2	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	anoctamin 2a	SIM
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	cAMP-regulated D2 protein	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	calcyphosine 2	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	ceramide synthase 3b	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	cilia and flagella associated protein 161	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	ciliary microtubule associated protein 1B	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	egapxtmp_012527	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	egapxtmp_012981	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	egapxtmp_013385	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	hypothetical protein	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	hypothetical protein	NAO

HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	hypothetical protein	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	interleukin 12B 2	SIM
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	membrane integral NOTCH2 associated receptor 1-like	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 2b	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	protein tyrosine phosphatase domain-containing protein 1	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	putative pyruvate dehydrogenase phosphatase isoenzyme	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	semaphorin-3D isoform X3	SIM
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	semaphorin-3E isoform X1	SIM
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	semaphorin-3ab	SIM
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	synaptotagmin Ib	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	telomere repeat binding bouquet formation protein 1	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	tripartite motif containing 35-30	NAO
HTD	AX-509137901	15	4,30849415	0,3125084	von Willebrand factor	NAO

Relação completa dos genes identificados nas regiões genômicas sugestivas detectadas pelo GWAS, incluindo a característica avaliada (TRAIT), marcador associado (SNP), cromossomo (CHR), intensidade da associação genômica expressa como $-\log_{10}(p)$ (LOGP), proporção da variância genética explicada pelo marcador, nome do gene e indicação de seleção para a Tabela 7 (SIM/NÃO). Os genes apresentados correspondem a todos os genes localizados em janelas de ± 200 kb ao redor dos SNPs sugestivos, independentemente de terem sido priorizados para discussão biológica.