

Método de Seleção de Características de Crescimento Baseados em Marcadores microRNAs

LAÍS DOS SANTOS GONÇALVES¹; AMANDA WEEGE DA SILVEIRA MARTINS²;
EDUARDO BIERHALS BLODORN²; LUANA FERREIRA VIANA DOS REIS²; MA-
RIANA CAVALCANTI NASCIMENTO²; VINICIUS FARIAS CAMPOS³

¹Universidade Federal de Pelotas – laisdsantosg@gmail.com 1

²Universidade Federal de Pelotas – edu.bbiodorn@gmail.com 2

²Universidade Federal de Pelotas – amandaweege98@gmail.com 2

²Universidade Federal de Pelotas – luanafvreis@gmail.com 2

²Universidade Federal de Pelotas – cavalcantimariana74@gmail.com 2

³Univerisdade Federal de Pelotas – fariascampos@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura refere-se ao cultivo de peixes em cativeiro. Apesar de antiga, a atividade está em constante expansão e aprimoramento (CRIAÇÃO DE PEIXES, 2018). É esperado que até 2030 o setor tenha aumento significativo de mais de 33% na América Latina, e grande parte desse aumento é atribuída a países como o Brasil, onde a prática é privilegiada por grandes reservas de água doce e extensa área costeira (FAO, 2018).

Dentre as espécies cultivadas atualmente e que contribuem com o papel de destaque do Brasil na piscicultura mundial está a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), um teleósteo oriundo das bacias dos rios Nilo, Níger, Chade e dos lagos do centro-oeste do continente africano. Desde a sua introdução no país na década de 1970 (BARROSO et al., 2019) a tilapicultura, dominada pela tilápia-do-Nilo, tornou-se uma das atividades mais produtivas e crescentes do Brasil. Isso decorre pelo fato da espécie apresentar adaptação a uma ampla gama de ambientes e a presença de características favoráveis à piscicultura como rusticidade, crescimento rápido em diferentes sistemas de produção, boa conversão alimentar, e resistência a doenças (UOV, 2020). Além disso, possuem boas características organolépticas tais como carne saborosa, baixo teor de gordura, ausência de espinhas intramusculares, e um excelente rendimento de filé (Canal Rural, 2022).

Em razão de apresentar características vantajosas tanto para criadores quanto para o mercado, a tilápia-do-Nilo tornou-se a espécie mais importante de peixes cultivados no Brasil e no mundo. Em 2021, a produção nacional atingiu um valor de 534.005 toneladas, um avanço de 9.8% quando comparado ao ano anterior, representando 63.5% do volume total de peixes produzidos (PEIXE BR, 2022), conferindo ao Brasil o lugar de quarto maior produtor mundial de tilápia.

Apesar de ser um dos maiores produtores mundiais de tilápia, o Brasil possui apenas 2% de participação nas importações de tilápia (PEIXE BR, 2022). Isso indica uma necessidade do Brasil em aumentar significativamente sua produção. A fim de se tornar um forte competidor internacional no setor, diversas metodologias de melhoramento genético vêm sendo aplicadas, dentre elas destaca-se a técnica de seleção assistida por marcadores.

A prática é uma das mais utilizadas para o melhoramento genético de qualquer espécie, indicando quais os melhores indivíduos e ampliando continuamente a frequência de genes favoráveis para as características de interesse, sendo a principal delas a taxa de crescimento. O crescimento tem relação direta com a quantidade e a qualidade da carne, produto final na criação de tilápias, logo, está intimamente ligada a um aumento da taxa de volume de negócios.

Tendo em vista a importância dos fatores genéticos, a sua avaliação e melhoramento para um desempenho superior na taxa de crescimento e produção, o presente trabalho descreve uma metodologia de seleção baseada em microRNAs. Os microRNAs (miRNAs) são uma classe de RNAs não codificantes que possuem um importante papel de regulação na expressão gênica, tanto em plantas quanto em animais (WILCZYNSKA e BUSHELL et al., 2015). Através da sua capacidade de regular negativamente a expressão do gene alvo de uma maneira sequência-específica no nível pós-transcricional através da clivagem ou inibição da tradução do RNA mensageiro, os microRNAs desempenham papéis importantes em funções biológicas como proliferação celular, diferenciação, crescimento, e desenvolvimento (LEUNG, 2010). Diversos estudos demonstram que microRNAs específicos exercem papéis essenciais na regulação da proliferação e diferenciação de células musculares esqueléticas para alcançar o desenvolvimento e crescimento muscular adequado. Ademais, os microRNAs possuem estruturas relativamente estáveis e podem ser encontrados em vários fluidos corporais extracelulares, como o plasma, logo, possuem potencial para serem usados como biomarcadores (DAVE et al., 2019).

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo a busca por um novo método de seleção de tilápias com maior taxa de crescimento baseado em medições dos níveis de microRNAs específicos para seleção de características de interesse, promovendo assim, a ampliação e melhoramento da produção de animais geneticamente superiores na tilapicultura brasileira.

2. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento de um método de seleção baseado na quantificação dos níveis de microRNAs, primeiramente realizou-se uma busca na literatura em bancos de dados tais como, NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Scopus (<https://www.scopus.com/search/form.uri?display=basic#basic>), e Web of Science (<https://www.webofscience.com/wos/woscc/basic-search>) para determinar quais microRNAs estão envolvidos no processo de regulação da proliferação e diferenciação de células musculares esqueléticas. Após, efetuou-se o desenho de primers específicos para as sequências alvo com auxílio de ferramentas de bioinformática (<http://www.srnprimerdb.com/protocolC>).

Esta metodologia foi considerada um invento e foi depositada como patente de invenção no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). Para isso, realizou-se uma busca de anterioridade nos bancos de patente tais como, INPI, Google patentes, Portal capes, USPTO, WIPO e Espacenet. A notificação de invenção foi submetida ao Escritório de Propriedade Intelectual, Transferência de Tecnologia e Empreendedorismo (EPITTE) da UFPEL, o qual, posteriormente realizou o depósito junto ao INPI, sob o número de protocolo BR1020220061440.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da metodologia descrita foi possível determinar quatro microRNAs atuantes na regulação da taxa de crescimento em tilápias, sendo eles microRNA - 181b, microRNA-132a, microRNA-206, microRNA-499. A busca de anterioridade em bancos de dados de patentes demonstrou diversos documentos conforme os

termos de busca utilizados, demonstrados na tabela 1, porém, verificou-se que estes não abordavam uma metodologia de quantificação de microRNAs relacionados na regulação na taxa de crescimento de tilápias.

Dessa forma, foi redigida uma patente de invenção descrevendo o processo de obtenção dos microRNAs a partir dos animais amostrados, desenho de oligonucleotídeos iniciadores *primers* para medição dos níveis dos microRNAs de interesse, protocolo de medição dos microRNAs por qPCR, e por fim a determinação do perfil de crescimento do animal de acordo com os dados alcançados. O documento foi submetido e revisado pelo EPITTE da UFPEL, e finalmente depositado no INPI, recebendo o número de protocolo BR1020220061440.

Termos de busca	Resultados da busca					
	INPI	WIPO	USPTO	Google Patents	Espacenet	Portal Capes
Tilápia	13	50	949	27.472	7.776	39.356
microRNA	37	4.791	14.649	242.154	31.901	224.571
Tilápia; crescimento	4	14	822	12.084	0	787
Tilápia; microRNA	0	0	29	372	0	561
Tilápia; crescimento, microRNA	0	0	28	0	0	5
Marcador molecular; microRNA	0	3	10.947	132.816	20.703	76
Marcador molecular; tilápia; microRNA	0	0	0	274	0	0
Tilápia; marcador molecular; microRNA; crescimento	0	0	10.296	273	43	0
Marcador molecular; crescimento	0	301	0	131.735	0	0
Crescimento; microRNA; músculo esquelético	0	7	0	31.656	2.705	0
Marcador molecular; microRNA; músculo esquelético; crescimento	0	0	0	25.005	2.630	0

Tabela 1: Resultado da busca de anterioridade nos bancos de patentes INPI, WIPO, USPTO, Google Patents, Espacenet e Portal CAPES.

4. CONCLUSÕES

A partir do resultado apresentado concluiu-se que foi possível obter um método de seleção de tilápias com uma taxa de crescimento superior baseada na quantificação de microRNAs, permitindo assim posteriormente, o desenvolvimento de uma linhagem geneticamente superior. Buscando a transferência da tecnologia e aplicação comercial do método aqui descrito, está sendo realizada uma busca por parceiros comerciais como laboratórios prestadores de serviços a produtores e empresas de aquicultura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LEUNG, A., SHARP, P. (2010). **MicroRNA functions in stress responses**. *Mol. Cell.* 40, 205–215. doi:10.1016/j.mol cell.2010.09.027

WILCZYNSKA, A., BUSHELL, M. **The Complexity of miRNA-Mediated Repression**. *Cell Death Differ* (2015) 22:22–33. doi: 10.1038/cdd.2014.112

Produção de tilápia: vantagens e aspectos legais. Universidade Online de Viçosa. <https://www.uov.com.br/cursos-online-piscicultura/artigos/www.uov.com.br/cursos-online-piscicultura/artigos/producao-de-tilapia-vantagens-e-aspectos-legais>. Acesso em 01 agosto, 2022.

Associação Brasileira da Piscicultura. PEIXE BR, 2022. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/>. Acesso em 01 agosto, 2022.

O QUE É PISCICULTURA. Criação de Peixes, 2018. Disponível em: <https://www.criacaodepeixes.com.br/o-que-e-piscicultura#:~:text=Es-tima%2Dse%20que%20h%C3%A1%204000,a%20til%C3%A1pia%2Ddo%2Dnilo>. Acesso em 01 agosto, 2022.

Sistema Intensivo de Produção de Tilápia traz Vantagens Ambientais e Competitividade Econômica. Canal Rural, 2022. Disponível em: <<https://www.canalrural.com.br/noticias/pecuaria/sistema-intensivo-de-producao-de-tilapia-traz-vantagens-ambientais-e-competitividade-economica/>>. Acesso em 02, agosto, 2022.

BARROSO, R. M., A. E. P. MUÑOZ, and J. Cai 2019. **Social and economic performance of tilapia farming in Brazil**. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1181. Rome, FAO. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

DAVE, V. P.; NGO, T. A.; PERNESTIG, A.-K.; TILEVIK, D.; KANT, K.; NGUYEN, T.; WOLFF, A.; BANG, D. D. **MicroRNA Amplification and Detection Technologies: Opportunities and Challenges for Point of Care Diagnostics**. *Lab Invest* 2019, 99 (4), 452–469. <https://doi.org/10.1038/s41374-018-0143-3>.

El Estado Mundial de la Pesca y la Agricultura. FAO, 2018. CA019 IES/1/07/18.