



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) NO BRASIL
USANDO MARCADORES SNPs**

NOELITON TEIXEIRA DE ARAÚJO JÚNIOR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO DE 2022**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) NO BRASIL
USANDO MARCADORES SNPs**

NOELITON TEIXEIRA DE ARAÚJO JÚNIOR

ORIENTADOR: Dr. ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO

COORIENTADORA: Dra. PATRÍCIA IANELLA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: Fevereiro/2023

**BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO DE 2022**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

ARAÚJO JÚNIOR, N. T. Estrutura Populacional e Diversidade Genética de Reprodutores de Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) no Brasil usando marcadores SNPs. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 81p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

ARAÚJO JÚNIOR, Noeliton Teixeira de. Estrutura Populacional e Diversidade Genética de Reprodutores de Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) no Brasil usando marcadores SNPs. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2022. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2022.

1. Análise de parentesto.
2. Chip de genotipagem.
3. Endogamia.
4. Marcadores moleculares.
5. Truticultura.

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) NO
BRASIL USANDO MARCADORES SNPs**

NOELITON TEIXEIRA DE ARAÚJO JÚNIOR

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO
DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
ANIMAIS.**

APROVADA POR:

**ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO, Doutor (Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia) (ORIENTADOR)**

**CONCEPTA MARGARET MCMANUS PIMENTEL, Doutora (Universidade de Brasília)
(EXAMINADOR INTERNO)**

**DARIO GRATTAPAGLIA, Doutor (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)
(EXAMINADOR EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 01 DE NOVEMBRO DE 2022

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Dr. Alexandre Rodrigues Caetano e Dra. Patrícia Ianella, pela oportunidade de poder realizar esse trabalho. Muito obrigado pela confiança a mim depositada, pela competência, profissionalismo e sentido prático em que me orientaram. Obrigado pela dedicação, paciência e pelas tantas vezes em que deixaram seus momentos de descanso para me apoiar nesse trabalho. Agradeço por todos os ensinamentos não apenas acadêmicos, mas por tantos outros que vou levar para a vida.

Quero agradecer aos meus amigos e colegas de trabalho Nayelle Meire, Aline Campelo, Daíza Orth e Kaifer Soares, agradeço pelo apoio, amizade e momentos alegres que vivemos. Foi muito bom ter vocês comigo e partilhar esse momento da minha trajetória.

Quero agradecer a minha família e amigos pelo apoio incondicional, por estarem ao meu lado e terem me ajudado a chegar até aqui e por sempre terem acreditado em mim.

Meu agradecimento especial à Ana Flávia pela motivação, apoio e compreensão sempre me ajudando a seguir e a encontrar o melhor de mim.

Aos membros da banca examinadora, Prof^a. Concepta Margaret McManus Pimentel, Prof. Dario Grattapaglia e a Dr^a. Tatiana de Campos, que gentilmente aceitaram colaborar com esta dissertação.

Aos professores(as) e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais, pelo apoio para a realização desse trabalho.

Meus agradecimentos à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo fornecimento da estrutura e apoio profissional para a realização da pesquisa.

Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte técnico e financeiro para a realização desse trabalho.

Agradeço aos produtores de truta e aos técnicos e pesquisadores da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Unidade de Campos do Jordão e da Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, que dedicaram parte do seu tempo para coletar e enviar as amostras usadas nesse trabalho.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização dessa dissertação, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 INTRODUÇÃO	2
1.2. OBJETIVOS	5
1.2.1 Objetivo geral	5
1.2.2 Objetivos específicos.....	5
1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
1.3.1 Truta-arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	6
1.3.2 Taxonomia/Descrição	7
1.3.3 Características Biológicas da espécie	7
1.3.4 Distribuição e Ciclo de vida	8
1.3.5 Reprodução artificial.....	10
1.3.6 Produção de Truta-arco-íris no Brasil.....	11
1.3.7 Pesquisas com Truta-arco-íris no Brasil.....	12
1.3.8 Uso de Marcadores SNPs e Gonotipagem Fluidigm.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 2	24
ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) NO BRASIL USANDO MARCADORES SNPs	24
2.1 RESUMO	25
2.2 ABSTRACT	27
2.3 INTRODUCTION	29
2.4 MATERIAL AND METHODS	31
2.4.1 Selection of SNPs.....	31
2.4.2 Source of samples.....	31
2.4.3 Sample Processing.....	32
2.4.4 SNP Genotyping	32
2.4.5 Data Quality Control	32
2.4.6 Genetic Diversity	33
2.4.7 Genetic Structure and Differentiation of Populations.....	33
2.4.8 Genetic Assignment	33

2.4.9 Kinship Analysis.....	34
2.5 RESULTS.....	35
2.5.1 Quality Control	35
2.5.2 Genetic Diversity	36
2.5.3 Genetic Structure and Differentiation	39
2.5.4 Genetic Assignment	40
2.5.5 Agreement and Reliability between the classifications.....	44
2.5.6 Kinship Analysis.....	45
2.6 DISCUSSION.....	46
CONCLUSION	50
REFERENCES	51
SUPPLEMENTARY MATERIAL	54
CAPÍTULO 3.....	66
3.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67

RESUMO

ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) NO BRASIL USANDO MARCADORES SNPs

Este estudo teve como objetivo avaliar a estrutura e diversidade genética dentro e entre plantéis comerciais de reprodutores de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em truticulturas nacionais com um painel de marcadores SNP de baixa densidade. A truta-arco-íris é nativa da costa do Oceano Pacífico na América do Norte e da Península Kamchatka da Rússia e foi introduzida no Brasil a partir da década de 1950, tendo a produção concentra nas regiões de altitude elevada e clima frio. Apesar da produção ser regionalizada, ela possui abrangência moderada no mercado nacional. Pesquisas com abordagens genômicas e moleculares têm sido utilizadas para auxiliar na resolução de problemas de sanidade e desenvolver ferramentas que possibilitem a redução de perdas e incremento da produção de truta-arco-íris pelo mundo. No Brasil as pesquisas com truta-arco-íris foram voltadas para aspectos ecológicos e históricos da introdução da espécie no país, viabilidade econômica do sistema produtivo, aspectos reprodutivos, sanitários e manejo. Existem poucas informações sobre a composição e estrutura genética dos plantéis comerciais de reprodutores de trutas do Brasil. Estudos de populações selvagens e linhagens comerciais de truta, com ferramentas genômicas contemporâneas, baseadas em marcadores moleculares SNP (do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*), podem ser observados em outros países, mas não no Brasil. Painéis SNP de baixa densidade reduzem o custo de genotipagem por amostra e podem ser aplicados para análise de parentesco, estimativas de diversidade e até seleção genômica. Utilizamos um painel de 95 marcadores SNPs para analisar a estrutura populacional e diversidade genética de sete plantéis comerciais de truta-arco-íris das regiões Sul e Sudeste do Brasil. A média das heterozigosidades observadas e esperadas foram de 0,409 e 0,391, respectivamente. O F_{st} total foi de 0,177 e os valores F_{st} pareados considerando todas as linhagens variaram de 0.036 a 0.338. O painel de SNPs apresentou desempenho satisfatório em estimar coeficiente de parentesco e organizar os reprodutores quanto ao nível de parentesco e origem populacional. Os grupos de reprodutores analisados apresentaram baixa taxa de endogamia acumulada (F_{is} de -0.192 a 0.039), sugerindo que os métodos de manejo genético dos plantéis têm sido satisfatórios, mantendo a variabilidade genética existente nas importações realizadas. Desse modo, a utilização de um Painel de SNPs é uma estratégia promissora para analisar a diversidade e diferenciação dos plantéis comerciais de trutas produzidas no Brasil, bem como para apoiar esforços para o incremento da cadeia

produtiva da espécie nas regiões do país com potencial produtivo.

PALAVRAS-CHAVE: Análise de parentesto, Chip de genotipagem, Endogamia, Marcadores moleculares, Truticultura.

ABSTRACT

POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF REPRODUCERS OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) IN BRAZIL USING SNP MARKERS

This study aimed to evaluate the genetic structure and diversity within and between broodstocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in domestic trout farms from Brazil with a low-density panel of SNP markers. Rainbow trout is native to the Pacific Ocean coast of North America and the Kamchatka Peninsula of Russia and was introduced in Brazil in the 1950s, with production concentrated in regions of high altitude and cold climate. Although trout production is regionalized, production has moderate coverage of the domestic market. Studies using genomic and molecular approaches have been utilized to help solve disease problems and develop tools to reduce losses and increase the production of rainbow trout around the world. In Brazil, research activities with rainbow trout has focused on ecological and historical aspects of the introduction of the species in the country, economic viability of the production system, reproductive and health aspects, and management. There is little information on the composition and genetic structure of rainbow trout broodstocks in Brazil. Studies of wild populations and commercial trout strains, with contemporary genomic tools based on SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*) molecular markers can be observed in other countries but not in Brazil. Low-density SNP panels reduce the cost of genotyping per sample and can be applied for paternity and kinship analysis, genetic diversity estimation and even genomic selection. We used a panel of 95 SNP markers to evaluate the population structure and genetic diversity of seven rainbow trout broodstocks from the South and Southeast regions of Brazil. Mean observed and expected heterozygosities were 0.409 and 0.391, respectively. The total F_{st} was 0.177 and the pairwise F_{st} values considering all strains ranged from 0.036 to 0.338. The panel performed satisfactorily in estimating kinship coefficients and organizing broodstocks according to kinship level and population of origin. The analyzed broodstock groups showed a low rate of accumulated inbreeding (F_{is} from 0.192 to 0.039), suggesting that the methods of genetic management have been satisfactory, maintaining the existing genetic variability in the original imports. Thus, the use of this SNP panel is a promising strategy to analyze the diversity and differentiation of commercial trout stocks produced in Brazil, as well as to support efforts to increase the production chain of the species in regions of the country with productive potential.

KEYWORDS: Parentage analysis, Genotyping chip, Inbreeding, Molecular markers, Trout breeding.

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUÇÃO

Os primeiros registros de atividades aquícolas no Brasil apontam que a aquicultura teve início no estado de Pernambuco por volta de 1636, contudo, grandes incrementos na produção ocorreram apenas a partir da década de 1990, com esforços que contaram com o trabalho conjunto dos setores público e privado para instalar inúmeros projetos de produção em propriedades aquícolas, e desenvolver e aprimorar tecnologias para espécies nativas e exóticas (VALENTI et al., 2021). De acordo com dados levantados pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO, o Brasil está atualmente entre os 10 maiores produtores mundiais de peixes em águas continentais, ocupando a 8ª posição nesse ranking (FAO, 2020).

A Tilápia-do-nilo e o Tambaqui (*Colossoma macropomum*) correspondem às espécies de peixes mais produzidas no Brasil e apresentam melhores taxas de desenvolvimento em temperaturas nas faixas de 28 a 30°C e 26 a 30°C, respectivamente, o que restringe seu cultivo nas regiões mais frias do país (PINHEIRO et al., 1997; MELO; IZEL; RODRIGUES, 2001; IBGE, 2022;). A Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é apontada como uma alternativa para viabilizar a piscicultura nessas regiões por ser adaptada às condições de locais frios e com restrições às altas temperaturas no verão (HATEM et al., 2018).

A Truta-arco-íris é nativa da América do Norte e foi introduzida no Brasil pela primeira vez em 1952 no Rio Bocaina, estado do Rio de Janeiro, com a importação de material proveniente da Dinamarca. Uma segunda introdução ocorreu em 1962, com germoplasma trazido da Califórnia, na forma de “ovos olhados”, que foram alocados em pisciculturas nas cidades de Campos do Jordão (São Paulo), Nova Friburgo (Rio de Janeiro) e no estado de Santa Catarina (MACCRIMMON, 1972). A produção de truta concentra-se nas regiões serranas do Sul e Sudeste do Brasil, já que a espécie demanda condições climáticas presentes em regiões de altitude elevada e baixas temperaturas. Tal característica limita diretamente a expansão da produção para outras regiões do país (BARONE et al., 2017). Embora possua um caráter regionalizado e seja composta majoritariamente por pequenos produtores, a produção de trutas tem abrangência moderada no mercado nacional (AMARAL, 2007).

O uso de abordagens genômicas e moleculares tem auxiliado na resolução de problemas de sanidade e no desenvolvimento de ferramentas que possibilitem a redução de perdas e incremento da produção de truta-arco-íris pelo mundo (PALTI et al., 2011; LIU et al., 2017; CÁCERES et al., 2021; MARANA et al., 2021). Um exemplo desse tipo de abordagem

é o emprego dos marcadores moleculares em estudos para atribuição de paternidade, parentesco e determinação da estrutura genética de populações em programas de melhoramento de trutas-arco-íris (LIU et al., 2016; D'AMBROSIO et al., 2019). Entre os marcadores moleculares empregados nos estudos com truta-arco-íris geralmente estão os microssatélites e os polimorfismos de nucleotídeo único SNP (do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*), no entanto os SNPs têm se tornando cada vez mais populares nas pesquisas de aquicultura por possuírem características que facilitam sua aplicação em estudos genéticos, além de fornecer ensaios para genotipagem de alto rendimento e acurácia, e de custo relativamente baixo (ABADÍA-CARDOSO; CLEMENTO; GARZA, 2011; ABDELRAHMAN et al., 2017).

Uma matriz SNP também chamada de chip SNP ou microarranjo, consiste de um ensaio automatizado de alto rendimento para realizar genotipagem utilizado para uma ampla gama de culturas, tais ensaios tem capacidade para genotipagem de SNPs da ordem de dezenas a centenas de milhares (YOU et al., 2018). Esses microarranjos podem ser de alta densidade, quando possuem quantidades de milhares a milhões de SNPs, ou de baixa densidade quando apresentam geralmente centenas de SNPs, a escolha de cada tipo de microarranjo está relacionado ao tipo de abordagem que pretende ser realizado no estudo, ao custo de genotipagem, bem como a disponibilidade de ensaios para a espécie estudada (MARENNE et al., 2011; THOMSON, 2014).

Para a truta-arco-íris, vários chips de genotipagem com diferentes densidades foram desenvolvidos e estão disponíveis comercialmente (BERNARD et al., 2022; MATALA et al., 2014; PALTÍ et al., 2015). No entanto, o custo de genotipagem com chips de alta densidade costuma ser elevado, impondo restrições à sua ampla utilização em aplicações que podem ser plenamente atendidas com conjuntos menores de SNPs (KRIARIDOU et al., 2020). A utilização de painéis SNP de baixa densidade (média de 100 SNPs), com custos de genotipagem por amostra reduzidos, podem atender plenamente análises de parentesco, diversidade e estrutura populacional e paternidade (LIU et al., 2016), e em casos específicos podem até ser utilizados em processos de avaliação e seleção genômica ampla (VALLEJO et al., 2018; LILLEHAMMER; MEUWISSEN; SONESSON, 2013).

No Brasil as pesquisas com truta-arco-íris têm sido voltadas para aspectos ecológicos e históricos da introdução da espécie no país (LAZZAROTTO; CARAMASCHI, 2009; MAGALHÃES et al., 2002; SOSINSKI; SCHWARZBOLD; SCHULTZ, 2004), análises de viabilidade econômica do sistema produtivo (BARBOSA, 2014; GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2014; SATO; TABATA; TAKAHASHI, 2011), aspectos reprodutivos, sanitários e de manejo (HATTORI et al., 2019; HENRIQUE et al., 2020; OLIVEIRA et al.,

1995; PORTO-FORESTI et al., 2004a). Existem poucas informações sobre a composição e estrutura genética dos plantéis comerciais de reprodutores de trutas do Brasil. As pesquisas realizadas até o presente para avaliar a diferenciação dos estoques empregaram abordagens citogenéticas (PORTO-FORESTI et al., 2002a, 2004b). Estudos de populações selvagens e plantéis comerciais de truta, com ferramentas genômicas contemporâneas, baseadas em marcadores moleculares SNP, foram desenvolvidas em diversos países, mas não no Brasil. Desse modo, a utilização de um Painel de SNPs é uma estratégia promissora para analisar a diversidade e diferenciação dos planteis de trutas produzidas no Brasil, bem como para apoiar esforços para o incremento da cadeia produtiva da espécie nas regiões do país com potencial produtivo.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a estrutura e diversidade genética dentro e entre planteis comerciais de reprodutores de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em truticulturas nacionais com um painel de marcadores SNP de baixa densidade.

1.2.2 Objetivos específicos

- Estimar os coeficientes individuais de endogamia e parentesco entre animais tomados aos pares;
- Estimar os parâmetros de diversidade genética e diferenciação dentro e entre plantéis comerciais de reprodutores de truta provenientes de diferentes pisciculturas no Brasil;
- Avaliar a capacidade do painel de marcadores SNPs para a diferenciação genética dos plantéis comerciais e realização de testes de alocação genética de animais individuais aos seus respectivos plantéis.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)

A truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é a espécie de truta mais conhecida no mundo sendo considerado um dos peixes mais antigos introduzidos na aquicultura, ficando atrás apenas da carpa comum (GALL; CRANDELL, 1992). A adaptabilidade da espécie possibilitou que fosse disseminada para diferentes ambientes de água fria do globo, com exceção da Antártida. Ela é amplamente utilizada para fins comerciais além de ser um importante modelo experimental presente em diversas universidades e centros de pesquisa (GALL; CRANDELL, 1992; HERSHBERGER, 1992).

O nome comum da espécie se deve ao padrão de cores iridescentes que brilham em diferentes iluminações, fazendo com que a coloração do peixe se assemelhe às cores do arco-íris. Essa característica apresenta maior intensidade durante o período reprodutivo quando ocorre a desova (BEHNKE, 2002).

Segundo Behnke (2002), a depender do hábito de vida a truta-arco-íris pode adquirir diferentes colorações, como um padrão de cor prateada metálica ou a presença de cores vermelhas na lateral do corpo, o que faz com que receba diferentes nomes. De acordo com o autor supracitado, apesar das diferenças fenotípicas e variações do histórico de vida, esses animais são classificados como a espécie *Oncorhynchus mykiss*.



Figura 1. Exemplar de truta-arco-íris. Fonte: <https://www.roughfish.com/rainbow-trout>

1.3.2 Taxonomia/Descrição

A primeira descrição científica da espécie foi realizada pelo médico e naturalista alemão Johann Julius Walbaum durante uma expedição ao extremo oriente da Rússia na Península de Kamchatka em 1772 (SPRINGER, 2021). A truta-arco-íris recebeu inúmeros nomes científicos, tais como *Salmo mykiss*, *Salmo gairdneri*, *Parasalmo mykiss*, dentro outros. A atual nomenclatura científica para a espécie, *Oncorhynchus mykiss*, foi adotada em 1989 após concluir-se que as trutas do Oceano Pacífico estão intimamente relacionadas com os salmónídeos do Pacífico e não ao salmão do atlântico que pertence ao gênero *Salmo* (GALL; CRANDELL, 1992; SMITH; STEARLEY, 1989).

A etimologia do nome do gênero da truta-arco-íris deriva da latinização de duas palavras gregas, de modo que *Oncorhynchus* significa focinho em forma de gancho, para se referir ao formato que a mandíbula dos machos adquire no período reprodutivo, já no epíteto específico *mykiss*, faz referência a “*Mykizha*”, modo como os habitantes da Península de Kamchatka se referem à truta (BEHNKE, 2002; KENDALL et al., 2015).

A atual descrição taxinômica da truta-arco-íris de acordo com (COSEWIC, 2020; ITIS, 2022) está listada abaixo.

Reino: Animalia

Filo: Chordata - cordés, cordado, cordados

Classe: Teleostei

Ordem: Salmoniformes - saumons, salmões

Família: Salmonidae

Subfamília: Salmoninae

Gênero: *Oncorhynchus*

Espécie: *Oncorhynchus mykiss*

1.3.3 Características Biológicas da espécie

Os ambientes naturais de ocorrência da truta-arco-íris são principalmente cursos e reservatórios de água doce com temperaturas em torno de 12 ° C no verão, podendo tolerar temperaturas de 0-25°C. O ideal para manter condições adequadas de saúde equivale de 10-12°C, no entanto, melhores taxas de crescimento ocorrem em condições com boa qualidade de água e temperaturas de 15-20°C (GALL; CRANDELL, 1992). Os machos atingem a maturidade

reprodutiva entre 9-12 meses de idade, embora a maioria das populações levem em torno de 2-3 anos, dependendo da temperatura da água e disponibilidade de alimentos. As fêmeas são capazes de produzir até 2.000 ovos/kg de peso corporal, sendo estes relativamente grandes em diâmetro (3-7 mm) (GALL CRANDELL, 1992; FAO, 2009).

Na natureza, as trutas apresentam hábitos alimentares generalistas, a dieta inclui insetos aquáticos e terrestres, moluscos, crustáceos, ovas de peixes, e outros peixes pequenos, mas o alimento mais importante é o camarão de água doce, que contém os pigmentos carotenóides responsáveis pela cor laranja-rosada da carne (BEHNKE, 2002).

1.3.4 Distribuição e Ciclo de vida

A distribuição natural da truta-arco-íris compreende as águas costeiras, lagos e cursos d'água afluentes da bacia do Pacífico na América do Norte, a Península de Kamchatka na Rússia, Ilhas Aleutas, região sudoeste do Alasca, a costa da Colúmbia Britânica no Canadá, seguindo pela costa oeste dos Estados Unidos até o norte do México (MACCRIMMON, 1972; BEHNKE, 2002).

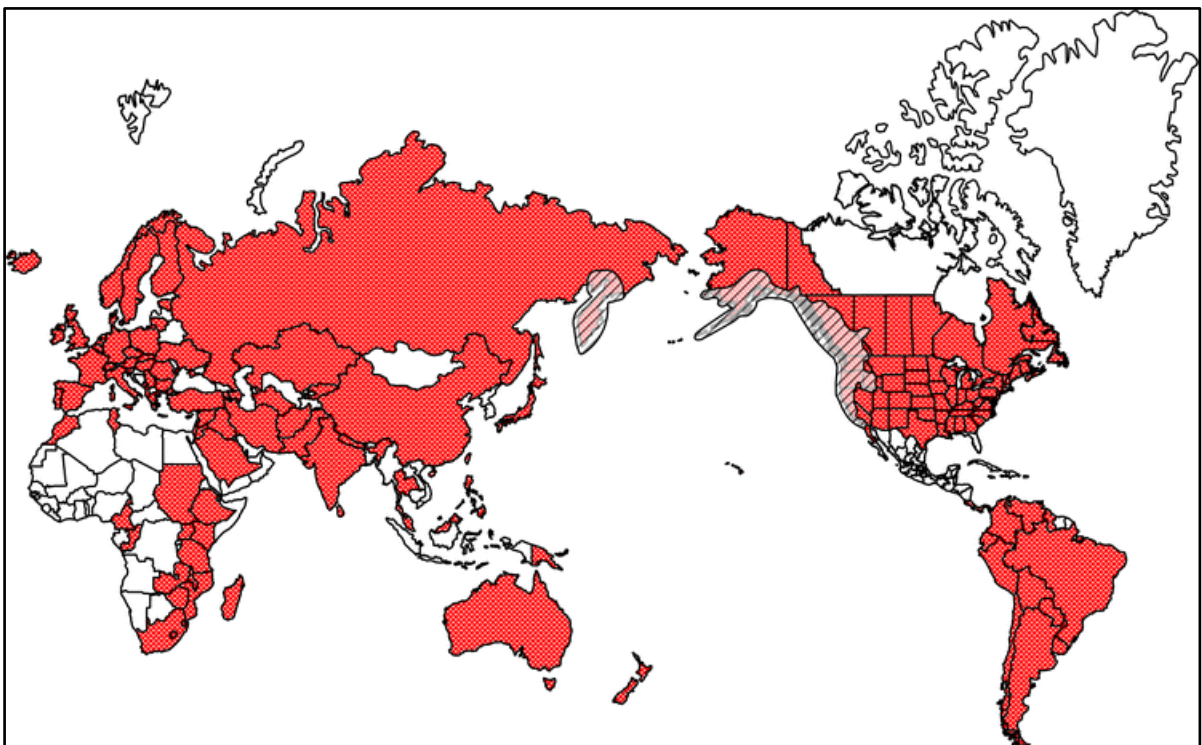


Figura 2. Distribuição natural da truta-arco-íris (hachurado com linhas diagonais), países em que a espécie foi introduzida (preenchimento vermelho com pontilhado branco). Fonte: (CRAWFORD; MUIR, 2008).

A propagação artificial da truta-arco-íris data do início da década de 1870, quando exemplares da espécie foram introduzidos numa comunidade ao sul de San Francisco na Califórnia. Após esse evento muitas outras introduções ocorream para outras regiões dos Estados Unidos e do mundo (BEHNKE, 1979). Atualmente populações de truta-arco-íris podem ser encontradas em todos os continentes, com exceção da Antártida, o que faz dela o salmonídeo mais difundido no mundo (MACCRIMMON, 1972). A capacidade de adaptação continuada a ambientes naturais e artificiais, e de resposta sustentada a programas de seleção para melhoramento, contribuíram para manutenção da variabilidade genética e o sucesso de propagação da espécie para vários países do globo (HERSHBERGER, 1992).

A truta-arco-íris é altamente adaptável a vários ambientes, razão pela qual alcançou uma distribuição tão ampla, os animais dessa espécies podem viver inteiramente em água doce ou passar parte do ciclo de vida no oceano (SPRINGER, 2021). As populações que apresentam ciclo de vida em água doce são chamadas de formas residentes, e as que vivem parte do ciclo no mar são chamadas de formas anádromas (BEHNKE, 2002).

A forma residente de água doce habita e desova em rios pequenos e lagos bem oxigenados, rasos e com fundos de cascalho, podendo também ser encontrada em lagos moderadamente profundos e com vegetação adequada que possibilite a geração de fonte de alimento suficiente. Os locais de desova são geralmente uma cama de cascalho em que a truta fêmea deposita em média 2.000 a 3.000 ovos, à medida que os ovos são liberados pela fêmea, o macho deposita o semên para fertilizá-los. Os ovos geralmente eclodem em cerca de quatro a sete semanas, embora o tempo de eclosão varie muito com a região e o habitat. Em aproximadamente duas semanas, o saco vitelino é completamente consumido e os alevinos começam a se alimentar principalmente de zooplâncton, a taxa de crescimento da truta-arco-íris varia com a área, habitat, história de vida e qualidade e quantidade de alimentos (BEHNKE, 2002; TYLER et al., 1996).

As formas anádromas da truta-arco-íris nascem nos rios e passam em média de dois a três anos vivendo na água doce antes de migrarem para o oceano, após um período de 10 a 30 meses vivendo no mar, as trutas adultas migram para o local de nascimento para reproduzir, podendo realizar mais de uma viagem migratória de desova ao longo da vida. Os juvenis da truta anádroma passam por um processo chamado esmoltificação, quando ocorrem alterações fisiológicas que possibilitam que eles sobrevivam na água do mar (BEHNKE, 2002).

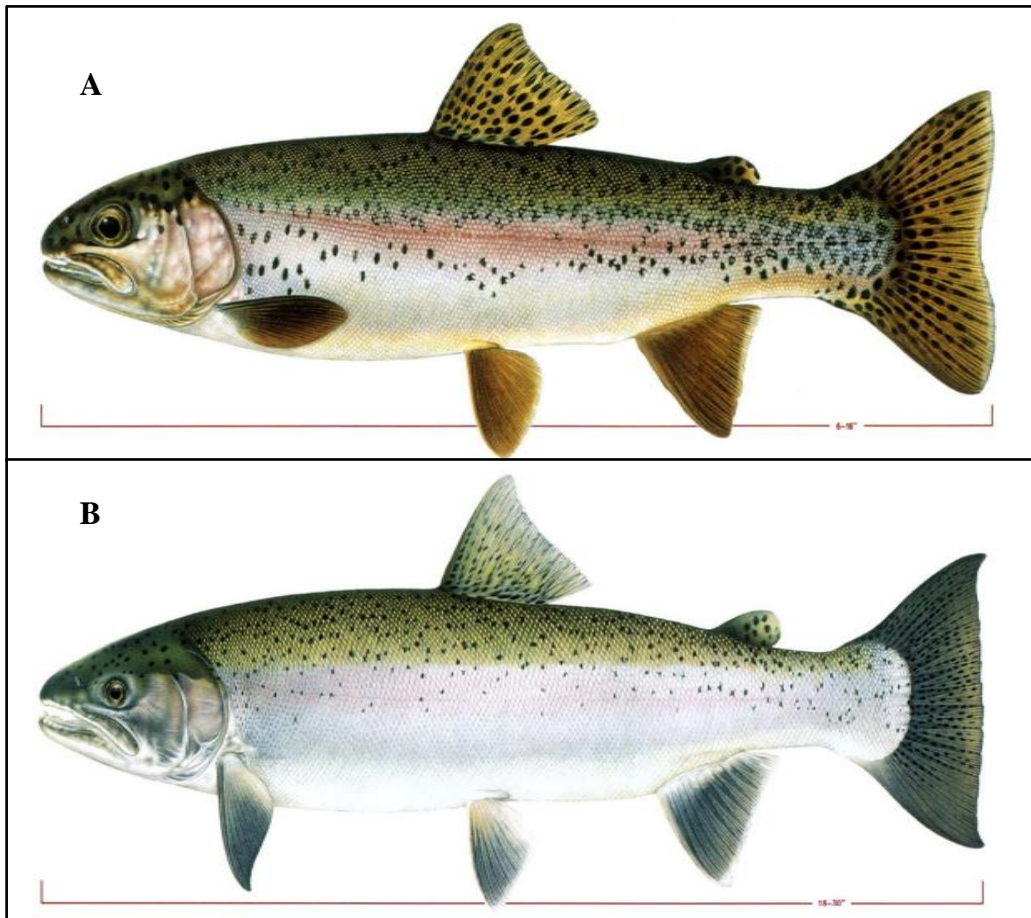


Figura 3. Exemplares adultos de truta-arco-íris. A) Forma residente; B) Forma anádroma.
Fonte: Adaptado de (BEHNKE, 2002).

1.3.5 Reprodução artificial

Em cativeiro, a truta-arco-íris amadurece sexualmente, porém, não é capaz de realizar a desova devido a ausência de estímulos que estão presentes na natureza (subir a correnteza, construir ninho em cascalho, presença de parceiros, etc.) sendo necessária a intervenção humana para coleta do material reprodutivo e realização da reprodução artificial. As trutas fêmeas adquirem maior peso e tamanho corporal aos dois anos de vida, quando atingem a maturidade sexual, ao passo que os machos amadurecem sexualmente no primeiro ano de vida (MACHADO; RIGOLINO; TABATA, 2007).

A coleta do sêmen e dos ovos é feita inicialmente com a aplicação de anestesia a base de benzocaína e posterior massagem na região abdominal dos peixes para extrusão dos ovos e do sêmen, nas fêmeas são coletados até 2.000 ovos/kg de peso corporal e

aproximadamente 10 ml de sêmen por macho. Os ovos são colocados em uma bandeja e a fertilização é feita com a mistura do sêmen de pelo menos quatro machos para cada fêmea, afim de evitar problemas relacionados à endogamia (MACHADO; RIGOLINO; TABATA, 2007; STICKNEY, 2000).



Figura 4. Reprodução artificial da truta-arco-íris. A) Extrusão de ovos; B) Extrusão de sêmen e fertilização de ovos. Fonte: (HINSHAW; FORNSHELL; KINNUNEN, 2004).

A incubação corresponde ao processo decorrido após a fecundação até a eclosão do embrião, essa etapa deve ser realizada ao abrigo da luz solar direta, afim de evitar danos aos ovos que são sensíveis à radiação solar. O período de incubação é calculado em unidades térmicas acumuladas (UTA) em graus centígrados dias, equivalente a 300° C.dia. Esse valor corresponde ao somatório das temperaturas médias diárias (10°C) por um período de 30 dias, e divide-se em duas etapas: ovo olhado, equivalente a 180°C.d de incubação, iniciando com a fecundação até a pigmentação do embrião; e período final que se estende até a eclosão da larva (MACHADO; RIGOLINO; TABATA, 2007; STICKNEY, 2000).

1.3.6 Produção de Truta-arco-íris no Brasil

A truta no Brasil possui um histórico de inúmeras tentativas de introdução que datam desde 1913, quando foi realizada a primeira importação da Inglaterra, mas que não foi bem sucedida, visto que os embriões não sobreviveram após a chegada (PORTO-FORESTI et al., 2002b). O objetivo inicial da introdução foi de realizar o peixamento dos rios das regiões montanhosas do sudeste brasileiro, para que a truta fosse uma alternativa de pesca aos habitantes da região. A partir de 1948 o Ministério da Agricultura esteve encarregado de realizar a introdução da truta nos rios dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Santa Catarina. No ano de 1964, a Secretaria de Agricultura de São Paulo criou um posto de salmonicultura para que

atuasse nos trabalhos de incubação e distribuição de alevinos. Anos mais tarde o posto foi transformado na Estação Experimental de Salmonicultura Ascânio de Faria (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2014; PORTO-FORESTI et al., 2002b).

Atualmente a Estação Experimental chama-se Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Campos do Jordão (UPD), e corresponde a única instituição no Brasil a desenvolver estudos com truta-arco-íris, além de atuar na distribuição de ovos embrionados para produtores que trabalham com sistema de engorda, a produção de ovos da UPD de Campos do Jordão consegue atender 10% da demanda do mercado brasileiro, os 90% restante são atendido pelos próprios produtores do setor (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2014).

A falta de informações públicas atualizadas quanto ao perfil do setor produtivo de trutas no Brasil dificulta o levantamento de dados relacionadas à quantidade de propriedades por unidade federativa e tamanho dos empreendimentos. Os dados mais acessíveis dizem respeito ao volume de produção anual dos estados brasileiros, publicados periodicamente pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), por meio da Pesquisa da Pecuária Municipal.

1.3.7 Pesquisas com Truta-arco-íris no Brasil

Ao longo dos mais de 70 anos em que a truta-arco-íris começou a ser cultivada no Brasil, ainda dispomos de poucos estudos relacionados à espécie, principalmente no que se refere a pesquisas com abordagens genéticas e moleculares. Temas rotineiros nos estudos com truta-arco-íris no Brasil envolvem aspectos relacionados à chegada do germoplasma no país, estudo da cadeia produtiva, viabilidade econômica, manejo reprodutivo e sanitários (HATTORI et al., 2019; HENRIQUE et al., 2020; LAZZAROTTO; CARAMASCHI, 2009; MAGALHÃES et al., 2002).

No trabalho de Lazzarotto & Caramaschi (2002), os autores fazem o levantamento do histórico da chegada da truta no Brasil, discutem os aspectos ecológicos da introdução de uma espécie exótica e ressaltam a necessidade de realização de mais estudos frente à ausência de dados sobre a truta-arco-íris. Henrique e colaboradores (2020), investigaram a ocorrência e os impactos gerados na saúde da truta por parasitas presentes em sistema de cultivo intensivo. O perfil produtivo das truticulturas da Região Sudeste foi levantado por Amaral (2007), ao entrevistar truticultores de 16 propriedades nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina, Rio de Janeiro e Espírito Santo. O resultado revelou

que os produtores apresentavam alto nível de escolaridade, auto-suficiência financeira para iniciar o empreendimento, bom nível de conhecimento técnico e baixo nível de associativismo.

Os estudos com truta-arco-íris para apoiar as práticas de produção e reprodução apresentam abordagens de técnicas de manejo como na publicação de Machado e colaboradores (2007), em que são descritas as etapas para realização da reprodução artificial e os parâmetros físico-químicos da água para o cultivo. O uso de técnicas de citogenética para identificação de híbridos foi utilizado por Porto-Foresti e equipe (2002b), para realizar estudos de cruzamentos controlados. As inversões cromossômicas foram investigadas como marcadores citogenéticos de características de crescimento para realização de melhoramento genético (Porto-Foresti et al., 2007), bem como o estudo das Regiões Organizadoras de Núcleo (NORs), como possíveis marcadores para analisar populações de truta cultivadas e de vida livre (Porto-Foresti, et al., 2002a).

1.3.8 Uso de Marcadores SNPs e Gonotipagem Fluidigm

Os Polimorfismos de Nucleotídeo Único, ou SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) são diferenças de troca de uma única base nitrogenada causadas por mutações em uma sequência de DNA. Por serem abundantes nos genomas e apresentarem características que permitem o desenvolvimento de processos para genotipagem adaptáveis à automação, eles tem se tornado o tipo de marcador molecular mais utilizado em estudos genéticos (LIU; CORDES, 2004; GANAL et al., 2014). Entretanto, antes dos SNPs, os microssatélites foram os marcadores moleculares mais utilizados para estudos genéticos e populacionais, devido ao seu caráter hiperpolimórfico e também de alta incidência nos genomas de espécies de interesse (CAO; BALASUBRAMANIAN; BODÉN, 2015; PUTMAN; CARBONE, 2014).

Os trabalhos utilizando microssatélites para análise de parentesco da truta-arco-íris foram realizados em muitos países produtores, a exemplo do Chile (MONZÓN-ARGÜELLO et al., 2014), dos Estados Unidos (JOHNSON et al., 2007), do norte e leste da Europa (GROSS; LULLA; PAAVER, 2007), Japão (OZAKI et al., 2001) e Itália (FACCENDA et al., 2018). Os microssatélites, contudo, possuem características que dificultam a sua utilização como, inconsistência de resultados entre laboratórios, elevada taxa de erro de genotipagem e maiores custos para padronização e implementação em laboratório (ABADÍA-CARDOSO; CLEMENTO; GARZA, 2011). No entanto, em se tratando de estudos de análise de paternidade, os microssatélites continuam sendo utilizados com mais frequência em relação aos SNPs (FLANAGAN; JONES, 2019).

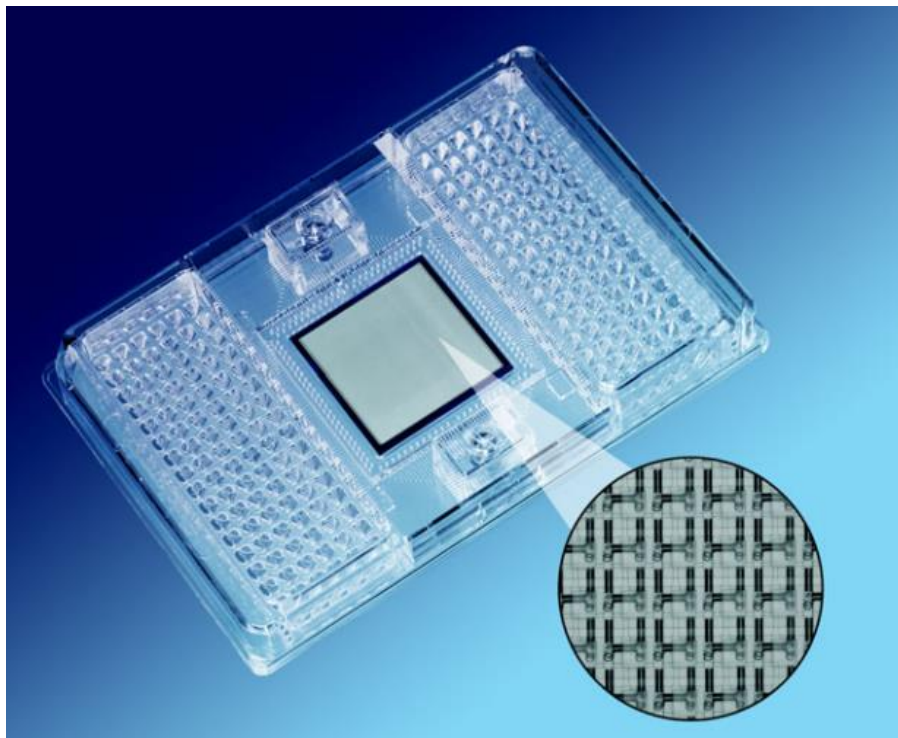
A geração de dados de genotipagem com alta velocidade e baixo custo são as principais vantagens dos SNPs em relação aos marcadores microssatélites. Adicionalmente, tecnologias de genotipagem mais eficientes continuam sendo geradas para análise de SNPs mas não para microssatélites (ABDELRAHMAN et al., 2017; YUE; XIA, 2014). Painéis para análise de parentesco baseados em marcadores SNPs já foram desenvolvidos para várias espécies aquícolas (KONGCHUM et al., 2010; SELLARS et al., 2014; VAN BERS et al., 2012). Na truta-arco-íris, ferramentas genômicas foram geradas com métodos de sequenciamento de próxima geração (*Next Generation Sequencing*, NGS) que possibilitaram a descoberta de uma grande quantidade de SNPs para a espécie (ABADÍA-CARDOSO; CLEMENTO; GARZA, 2011; HOHENLOHE et al., 2011; NARUM et al., 2008).

Nos últimos anos diversas ferramentas para genotipagem de truta-arco-íris foram criadas. Palti e colaboradores (2015) desenvolveram um microarranjo SNP de 57K com taxa de validação próxima a 90% para truta. Mais recentemente, um microarranjo de alta densidade com 665 K SNPs foi publicado por (BERNARD et al., 2022), representando uma ferramenta poderosa para estudos avançados para identificação de mutações genéticas e implementação da seleção genômica ampla. De acordo com (LILLEHAMMER; MEUWISSEN; SONESSON, 2013) o custo de genotipagem com essas ferramentas costuma ser elevado, e para análises de parentesco uma quantidade elevada de SNPs não é necessária. Conjuntos com menor número de SNPs também foram confeccionados para estudo com truta-arco-íris (LIMBORG et al., 2012; NAZARI; POURKAZMI, 2021), e segundo (ANDERSON; GARZA, 2006), um subconjunto de 60 a 100 SNPs possui poder suficiente para inferir com acurácia o nível de parentesco.

Um painel SNP de baixa densidade para análise de parentesco em truta-arco-íris foi desenvolvido por (LIU et al., 2016), com marcadores selecionados do microarranjo SNP de 57 K projetado por (PALTÍ et al., 2015) e SNPs associados à características de produção aquícola, como respostas ao estresse, crescimento e resistência à doença da bactéria de água fria em truta. Os critérios para seleção dos SNPs do microarranjo de 57 K, foram: a) SNPs que não desviaram do equilíbrio de Hardy-Weinberg, menor frequência alélica (MAF) maior que 0,45; b) Possibilidade de mapeamento para o genoma da truta-arco-íris; c) Ausência de outros SNPs flanqueando o SNP alvo em 30 pb (pares de bases); d) Fração de recombinação entre SNPs superior a 0,2 para análise de dois pontos; e) Para os SNPs associados à características de produção, o único critério foi que tivessem sequências com comprimentos adequados para ensaios na plataforma Fluidigm SNP Type. No total foram selecionados 95 SNPs cuja validação

ocorreu com a genotipagem de 499 peixes provenientes de planteis comerciais e de um instituto de pesquisa dos Estados Unidos. Após as análises os autores concluíram que 95 SNPs possibilitam atribuição de paternidade superior a 98% e que o painel desenvolvido também pode ser empregado para estimar parâmetros genéticos populacionais.

A plataforma de genotipagem SNP da Fluidigm consiste de um sistema de Circuito Fluídico Integrado (IFC), que automatiza reações em cadeia da polimerase (PCR), através de redes de canais microfluídicos (SEO et al., 2020). Os IFCs são fabricados em diferentes formatos, podendo ter a capacidade de testar simultaneamente 96 amostras e 96 ensaios SNP (Figura 5). Quando a etapa de genotipagem é concluída, o IFC é escaneado com uma leitora que gera imagens de fluorescência, as quais são utilizadas pelo programa Fluidigm SNP Genotyping Analysis para a obtenção das chamadas de genótipos (WANG et al., 2009). O Fluidigm SNP Type integra o grupo de tecnologias de genotipagem SNP de alto rendimento para conjuntos flexíveis de marcadores SNPs em baixa densidade. As principais vantagens da sua utilização estão na redução dos custos operacionais, possibilidade de combinar diferentes SNPs para conjuntos de amostras e serem ideais para uso em SNPs direcionados como por



exemplo haplótipos específicos de caracterísicas (THOMSON, 2014).

Figura 5. Circuito Fluídico Integrado Fluidigm. Modelo de Circuito Fluídico Integrado com capacidade para 96 amostras e 96 ensaios SNP. Esse modelos possibilita a realização de 9216 reações em paralelo que acontecem nas microcâmaras mostradas no destaque da imagem.

Fonte: (FLUIDIGM, 2018).

A genotipagem na plataforma IFC da Fluidigm pode ser feita com diferentes químicas, podendo utilizar inclusive ensaios TagMan (THOMSON, 2014; WANG et al., 2009). Adicionalmente, a Fluidigm fornece também ensaios exclusivos sob o nome comercial de SNPTYPE. Nos ensaios SNPTYPE, os iniciadores de PCR Amplificador de Alvo Específico (*Specific Target Amplification - STA*) e *Primer Locus Específico (Locus-Specific Primer - LSP)*, para cada um dos SNPs alvo são utilizados em reações de pré-amplificação de cada amostra. Posteriormente, reações de amplificação alelo-específicas são realizadas com *Primers Alelo Específico (Allele-Specific Primers - ASP1 e ASP2)* e *Primer Locus Específico (Locus-Specific Primer - LSP)*, sondas com corantes fluorescentes (FAM e HEX), utilizando uma IFC (FLUIDIGM, 2018; SEO et al., 2020).

No processo de genotipagem objetiva-se identificar os dois alelos de um SNP em cada amostra. Desse modo, os primers ASP1 e ASP2 possuem na extremidade 3' a base de DNA complementar ao SNP alvo, e na extremidade 5' apresentam uma sequência complementar para as sondas fluorescentes FAM e HEX. O LSP atua como um primer reverso para o locus de interesse. Essa técnica de identificação de SNPs é composta de três etapas de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) que se repetem durante vários ciclos. Na primeira etapa, o *primer ASP* complementar se liga ao SNP da região alvo produzindo uma fita molde, o LSP começa a depositar nucleotídeos na outra metade da fita de DNA (Figura 6A). Na segunda etapa, o LSP se liga ao molde de DNA iniciado com o ASP na etapa anterior, produzindo uma fita complementar à extremidade 5' (Figura 6B). Na terceira etapa, a sonda com corante (FAM ou HEX) se une à fita molde sintetizada na etapa anterior e essa reação desencadeia a liberação do fluoróforo que emite a sinalização fluorescente (Figura 6C). Após inúmeras repetições de ciclos de PCR a fluorescência se torna mais forte e o sinal pode ser captado pelo módulo EP1 da Fluidigm (Figura 7) (FLUIDIGM, 2018; SCHLEINITZ; DISTEFANO; KOVACS, 2011; SMITH; MAUGHAN, 2015).

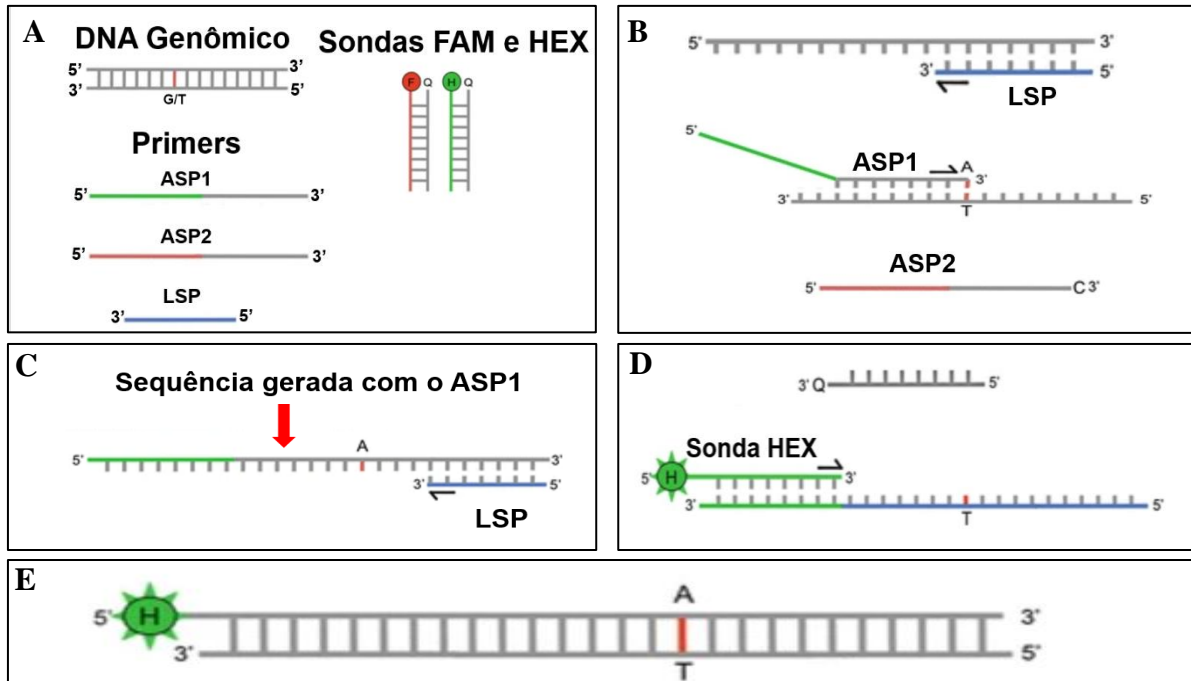


Figura 6. Diagrama ilustrando as etapas para genotipagem SNptype na Plataforma Fluidigm. A) Componentes para reação de PCR; B) Primeira etapa: PCR com desnaturação da fita de DNA e anelamento dos *primers* ASP e LSP; C) Segunda etapa: a fita complementar ao *primer* ASP1 é sintetizada a partir do LSP; D) Terceira etapa: Sondas HEX se alinha com a extremidade 5' do ASP1, a reação de alongamento da cadeia de DNA ativa o fluoróforo; E) Produto final de PCR emitindo fluorescência. Fonte: (SMITH; MAUGHAN, 2015) com adaptação.

Os dados do chip de genotipagem são processados no módulo EP1, equipamento que realiza a captura dos canais de fluorescência, o programa de computador Fluidigm SNP Genotyping Analysis calcula os sinais de fluorescência e gera um gráfico com os genótipos de todas as amostras analisadas (Figura 7). As informações da genotipagem podem ser exportadas do Fluidigm SNP Genotyping Analysis em arquivos de dados compatíveis com programas voltados para análises genéticas e moleculares (FLUIDIGM, 2018; SMITH; MAUGHAN, 2015; WANG et al., 2009).

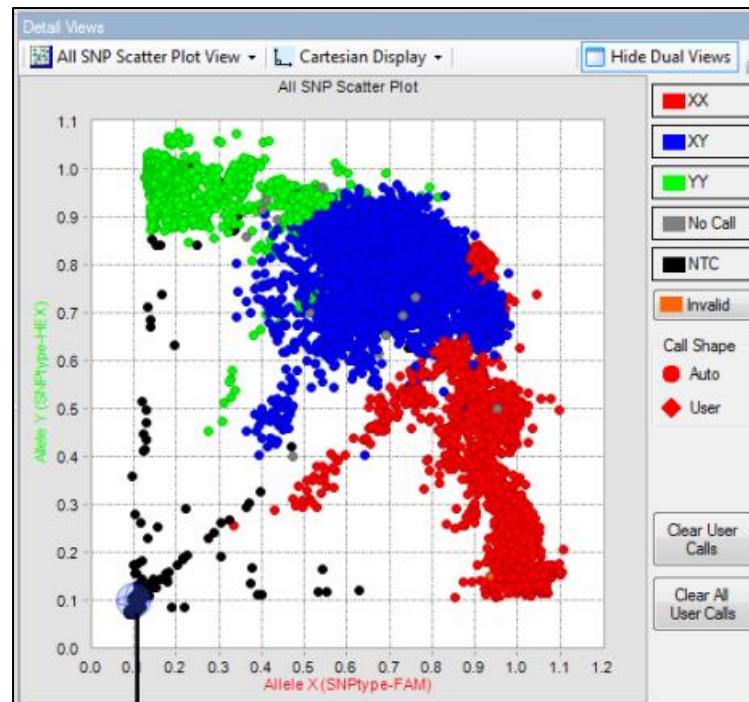


Figura 7. Gráfico de dispersão em plano cartesiano obtido com o programa Fluidigm SNP Genotyping Analysis. Cada ponto representa uma amostra. Fonte: (FLUIDIGM, 2018).

A utilização de chips SNP de baixa densidade proporciona uma estratégia promissora para a redução dos custos de genotipagem tanto em espécies animais quanto vegetais (BERNARD et al., 2022). Em estudo recente a genotipagem utilizando circuitos nanofluídicos com ensaios SNP de baixa densidade contriuiu com precisão para a estimativa de parâmetros genéticos e populacionais em linhagens comerciais de truta-arco-íris (LIU et al., 2017). Sistemas com circuitos nanofluídicos para genotipagem apresentam alta taxa de precisão, economia de recursos e rapidez de execução, o que os tornam vantajosos para pesquisas genômicas em grandes populações comerciais (THOMSON, 2014; WANG et al., 2009).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADÍA-CARDOSO, A.; CLEMENTO, A. J.; GARZA, J. C. Discovery and characterization of single-nucleotide polymorphisms in steelhead/rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. SUPPL. 1, p. 31–49, 2011.
- ABDELRAHMAN, H. et al. Aquaculture genomics, genetics and breeding in the United States: Current status, challenges, and priorities for future research. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–23, 2017.
- AMARAL, G. F. ANÁLISE DO SEGMENTO DE TRUTAS: ABORDAGENS DE CADEIA PRODUTIVA E TURISMO RURAL. **UFRJ**, p. 105, 2007.
- ANDERSON, E. C.; GARZA, J. C. The power of single-nucleotide polymorphisms for large-scale parentage inference. **Genetics**, v. 172, n. 4, p. 2567–2582, 2006.
- BARBOSA, A. S. VIABILIDADE ECONÔMICA DO SISTEMA INTENSIVO DE PRODUÇÃO DE TRUTAS NA SERRA LAGES, SC Elaborado pela Biblioteca Setorial do CAV / UDESC. 2014.
- BARONE, R. S. C. et al. Fish and fishery products trade in Brazil, 2005 to 2015: A review of available data and trends. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 5, p. 417–424, 2017.
- BEHNKE, R. J. Monograph of the native trouts of the genus *Salmo* of western North America. **Monograph of the native trouts of the genus *Salmo* of western North America**, 1979.
- BEHNKE, R. J. **Trout and Salmon of North America**. 1. ed. [s.l.] Free Press, 2002.
- BERNARD, M. et al. Development of a High-Density 665 K SNP Array for Rainbow Trout Genome-Wide Genotyping. **Frontiers in Genetics**, v. 13, n. July, p. 1–16, 2022.
- CÁCERES, P. et al. Genome-scale comparative analysis for host resistance against sea lice between Atlantic salmon and rainbow trout. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.
- CAO, M. D.; BALASUBRAMANIAN, S.; BODÉN, M. Sequencing technologies and tools for short tandem repeat variation detection. **Briefings in Bioinformatics**, v. 16, n. 2, p. 193–204, 2015.
- COSEWIC. **COSEWIC assessment and status report on the Steelhead Trout *Oncorhynchus mykiss* (Thompson River and Chilcotin River populations) in Canada. Assessment**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/species-risk-public-registry.html>>.
- CRAWFORD, S. S.; MUIR, A. M. Global introductions of salmon and trout in the genus *Oncorhynchus*: 1870-2007. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 18, n. 3, p. 313–344, 2008.
- D’AMBROSIO, J. et al. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. **Genetics Selection Evolution**, v. 51, n. 1, p. 1–15, 2019.
- FACCENDA, F. et al. Microsatellite-Based Genetic Diversity and Admixture History of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* – Walbaum, 1792) Stocks in Trentino (Italy). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 18, p. 81–90, 2018.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action**. [s.l.: s.n.].
- FAO, F. AND A. O. OF THE U. N. **Cultured Aquatic Species Information Programme: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792)**. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/oncorhynchus_mykiss/en>. Acesso em: 25 jun. 2022.
- FLANAGAN, S. P.; JONES, A. G. The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 3, p. 544–567, 2019.

FLUIDIGM CORPORATION. **SNP Genotyping User Guide (PN 68000098 Q1)**.

Disponível em:

<<https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdlTv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CIYtyMxHAWFg>>. Acesso em: 31 maio. 2022.

GALL, G. A. E.; CRANDELL, P. A. The rainbow trout. **Aquaculture**, v. 100, n. 1–3, p. 1–10, 1992.

GANAL, M. W. et al. Genomics of plant genetic resources: Volume 1. Managing, sequencing and mining genetic resources. In: **Genomics of Plant Genetic Resources: Volume 1. Managing, Sequencing and Mining Genetic Resources**. [s.l: s.n.]. p. 113–130.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. APTA - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. 2014.

GROSS, R.; LULLA, P.; PAAVER, T. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. **Aquaculture**, v. 272, n. SUPPL. 1, 2007.

HATEM, A. A. et al. NORs inheritance analysis in crossings including individuals from two stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: **Engenharia de Aquicultura - Temas e Pesquisas**. [s.l: s.n.]. p. 171–186.

HATTORI, R. S. et al. Surrogate production of *Salmo salar* oocytes and sperm in triploid *Oncorhynchus mykiss* by germ cell transplantation technology. **Aquaculture**, v. 506, n. March, p. 238–245, 2019.

HENRIQUE, S. M. et al. Parasitos em trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) criadas em sistema intensivo na região serrana de Santa Catarina, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 6, p. 2387–2390, 2020.

HERSHBERGER, W. K. Genetic variability in rainbow trout populations. **Aquaculture**, v. 100, n. 1–3, p. 51–71, 1992.

HINSHAW, J. M.; FORNSHELL, G.; KINNUNEN, R. A profile of the aquaculture of trout in United States. n. 01, p. 1–48, 2004.

HOHENLOHE, P. A. et al. Next-generation RAD sequencing identifies thousands of SNPs for assessing hybridization between rainbow and westslope cutthroat trout. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. SUPPL. 1, p. 117–122, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da aquicultura por tipo de produto - Truta arco-íris**. Disponível em:

<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>>. Acesso em: 8 set. 2022.

ITIS, I. T. I. S.-. ***Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) Taxonomic Serial No.: 161989**.

Disponível em:

<https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=161989#null>. Acesso em: 22 jun. 2022.

JOHNSON, N. A. et al. Development and evaluation of a new microsatellite multiplex system for parental allocation and management of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstocks. **Aquaculture**, v. 266, n. 1–4, p. 53–62, 2007.

KENDALL, N. W. et al. Anadromy and residency in steelhead and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): A review of the Processes and Patterns. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 72, n. 3, p. 319–342, 2015.

KONGCHUM, P. et al. SNP discovery and development of genetic markers for mapping innate immune response genes in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 29, n. 2, p. 356–361, 2010.

KRIARIDOU, C. et al. Genomic Prediction Using Low Density Marker Panels in Aquaculture: Performance Across Species, Traits, and Genotyping Platforms. **Frontiers in Genetics**, v. 11, n. February, p. 1–8, 2020.

LAZZAROTTO, H.; CARAMASCHI, É. P. Introduction of rainbow trout in Brazil: History,

- law, and current trends. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 649–659, 2009.
- LILLEHAMMER, M.; MEUWISSEN, T. H. E.; SONESSON, A. K. A low-marker density implementation of genomic selection in aquaculture using within-family genomic breeding values. **Genetics Selection Evolution**, v. 45, n. 1, p. 1–8, 2013.
- LIMBORG, M. T. et al. Signatures of natural selection among lineages and habitats in *Oncorhynchus mykiss*. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 1, p. 1–18, 2012.
- LIU, S. et al. Development and validation of a SNP panel for parentage assignment in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 452, p. 178–182, 2016.
- LIU, S. et al. Assessment of genetic differentiation and genetic assignment of commercial rainbow trout strains using a SNP panel. **Aquaculture**, v. 468, p. 120–125, 2017.
- LIU, Z. J.; CORDES, J. F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. **Aquaculture**, v. 238, n. 1–4, p. 1–37, 2004.
- MACCRIMMON, H. R. World Distribution of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*): Further Observations. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 29, n. 12, p. 1788–1791, 1972.
- MACHADO, T. M.; RIGOLINO, G.; TABATA, Y. A. **Manejo reprodutivo da truta arco-íris**, 2007.
- MAGALHÃES, A. L. B. DE et al. Ocorrência da truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Pisces : Salmonidae) no alto rio Aiuruóca e tributários, bacia do rio Grande, Minas Gerais, Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 14, n. N. Sér., p. 33–40, 2002.
- MARANA, M. H. et al. Whole-genome association study searching for QTL for *Aeromonas salmonicida* resistance in rainbow trout. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.
- MARENNE, G. et al. Assessment of copy number variation using the Illumina Infinium 1M SNP-array: A comparison of methodological approaches in the Spanish Bladder Cancer/EPICURO study. **Human Mutation**, v. 32, n. 2, p. 240–248, 2011.
- MATALA, A. P. et al. Relative contributions of neutral and non-neutral genetic differentiation to inform conservation of steelhead trout across highly variable landscapes. **Evolutionary Applications**, v. 7, n. 6, p. 682–701, 2014.
- MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; RODRIGUES, F. M. Criação de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em Viveiros de Argila/Barragens no Estado do Amazonas. **Embrapa Amazônia Ocidental - Documentos**, v. 18, 2001.
- MONZÓN-ARGÜELLO, C. et al. Contrasting patterns of genetic and phenotypic differentiation in two invasive salmonids in the southern hemisphere. **Evolutionary Applications**, v. 7, n. 8, p. 921–936, 2014.
- NARUM, S. R. et al. Differentiating salmon populations at broad and fine geographical scales with microsatellites and single nucleotide polymorphisms. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 15, p. 3464–3477, 2008.
- NAZARI, S.; POURKAZMI, M. Isolation and characterization of SNP markers of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) from transcriptomic sequences. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 1, p. 989–995, 2021.
- OLIVEIRA, C. et al. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes and oocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Pisces, Salmonidae): the process of autosome and sex chromosome synapsis. **Chromosome Research**, v. 3, n. 3, p. 182–190, 1995.
- OZAKI, A. et al. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Molecular and General Genetics**, v. 265, n. 1, p. 23–31, 2001.
- PALTI, Y. et al. A first generation integrated map of the rainbow trout genome. **BMC Genomics**, v. 12, 2011.
- PALTI, Y. et al. The development and characterization of a 57K single nucleotide

- polymorphism array for rainbow trout. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 3, p. 662–672, 2015.
- PINHEIRO, M. F. M. et al. Observações sobre a temperatura do ar e da água de estufa tipo túnel plástico para o cultivo de tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 24, n. N. Especial, p. 157–160, 1997.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Analysis of NOR distribution in cultivated and naturalized stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 4, p. 409–412, 2002a.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Truta Arco-Íris: Os brasileiros já a desejavam desde 1913. **Panorama da Aquicultura**, p. 22–24, 2002b.
- PORTO-FORESTI, F. et al. NORs inheritance analysis in crossings including individuals from two stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Hereditas**, v. 136, n. 3, p. 227–230, 2002c.
- PORTO-FORESTI, F. et al. A lethal effect associated with polymorphism of the NOR-bearing chromosomes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 51–54, 2004a.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Chromosome localization of the ribosomal genes 18S and 5S in four stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from cultivated and naturalized stocks in Brazil. **Cytologia**, v. 69, n. 2, p. 175–179, 2004b.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Relationships among growth and different NOR phenotypes in a specific stock of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 2, p. 355–361, 2007.
- PUTMAN, A. I.; CARBONE, I. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. **Ecology and Evolution**, v. 4, n. 22, p. 4399–4428, 2014.
- SATO, G. S.; TABATA, Y. A.; TAKAHASHI, N. S. Truta De Campos Do Jordão, Valorização Do Produto Local Através Da Indicação Geográfica Do Turismo E Da Gastronomia. **Informações Econômicas**, v. 41, n. 3, 2011.
- SCHLEINITZ, D.; DISTEFANO, J. K.; KOVACS, P. Targeted SNP genotyping using the taqman® assay. **Methods in Molecular Biology**, v. 700, n. 3, p. 77–87, 2011.
- SELLARS, M. J. et al. Comparison of microsatellite and SNP DNA markers for pedigree assignment in Black Tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 3, p. 417–426, 2014.
- SEO, J. et al. Development and application of indica-japonica SNP assays using the Fluidigm platform for rice genetic analysis and molecular breeding. **Molecular Breeding**, v. 40, n. 4, 2020.
- SMITH, G. R.; STEARLEY, R. F. The Classification and Scientific Names of Rainbow and Cutthroat Trout. **Fisheries**, v. 14, n. 1, p. 4–10, 1989.
- SMITH, S. M.; MAUGHAN, P. J. SNP genotyping using KASPar assays. **Methods in Molecular Biology**, v. 1245, p. 243–256, 2015.
- SOSINSKI, L. T. W.; SCHWARZBOLD, A.; SCHULTZ, U. INTRODUÇÃO DA TRUTA ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A COMUNIDADE AQUÁTICA DOS RIOS DE ALTITUDE DO SUL DO BRASIL. p. 254, 2004.
- SPRINGER, C. **America's Bountiful Waters 150 Years of Fisheries Conservation and the U.S. Fish & Wildlife Service**. Guilford: Rowman Littlefield, 2021.
- STICKNEY, R. R. **Encyclopedia of aquaculture**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000.
- THOMSON, M. J. High-Throughput SNP Genotyping to Accelerate Crop Improvement. **Plant Breeding and Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 195–212, 2014.
- TYLER, C. R. et al. Mechanisms controlling egg size and number in the rainbow trout,

- Oncorhynchus mykiss. **Biology of Reproduction**, v. 54, n. 1, p. 8–15, 1996.
- VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, n. December 2020, p. 100611, 2021.
- VALLEJO, R. L. et al. Accurate genomic predictions for BCWD resistance in rainbow trout are achieved using low-density SNP panels: Evidence that long-range LD is a major contributing factor. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 135, n. 4, p. 263–274, 2018.
- VAN BERS, N. E. M. et al. SNP marker detection and genotyping in tilapia. **Molecular Ecology Resources**, v. 12, n. 5, p. 932–941, 2012.
- WANG, J. et al. High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping using nanofluidic Dynamic Arrays. **BMC Genomics**, v. 10, p. 1–13, 2009.
- YOU, Q. et al. Development and applications of a high throughput genotyping tool for polyploid crops: Single nucleotide polymorphism (SNP) array. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. February, 2018.
- YUE, G. H.; XIA, J. H. Practical Considerations of Molecular Parentage Analysis in Fish. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 2, p. 89–103, 2014.

CAPÍTULO 2
ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA
DE REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus*
***mykiss*) NO BRASIL USANDO MARCADORES SNPs**

2.1 RESUMO

ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE REPRODUTORES DE TRUTA-ARCO-ÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) NO BRASIL USANDO MARCADORES SNPs

Noeliton Teixeira de Araújo Júnior¹, Patrícia Ianella², Tulio Teruo Yoshinaga³,
Arno Juliano Butzge⁴, Alexandre Rodrigues Caetano⁵

1 Biólogo/ Mestrando em Ciências Animais – PPG/UnB – Brasília/DF

2 Bióloga/ Doutora – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

3 Estação Experimental de Salmonicultura, Instituto de Pesca/APTA/SAA

4 Estação Experimental de Salmonicultura, Instituto de Pesca/APTA/SAA

5 Zootecnista/ Doutor – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é nativa da costa do Oceano Pacífico na América do Norte e da Península Kamchatka da Rússia. As populações brasileiras de trutas-arco-íris derivam de várias importações de países europeus, Estados Unidos E Canadá, a partir dos anos 50. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a estrutura genética e os índices de diversidade e variabilidade dentro e entre plantéis comerciais de trutas arco-íris do Brasil. Coeficientes de consanguinidade de animais individuais, coeficientes de parentesco e de diferenciação genética dos plantéis foram obtidos, além de testes de alocação genética de animais para seus respectivos estoques. Um total de 332 amostras de reprodutores de sete plantéis comerciais amostradas em cinco fazendas no Brasil foram genotipadas com um painel de 95 SNPs. A média das heterozigosidades observadas e esperadas foram de 0,409 e 0,391, respectivamente. O Fst total foi de 0,177 e os valores Fst pareados considerando todas as linhagens variaram de 0,036 a 0,338. A árvore de distância genética UPGMA gerada com os sete plantéis comerciais

estudadas mostra que os plantéis com origem no Norte da Califórnia e Canadá apresentam maiores distâncias genéticas entre si e com os demais. As análises da estrutura genética sugerem um melhor valor de $K=2$, apontando para origem ancestral dos plantéis dos Estados Unidos e Canadá. As análises de Estrutura e PCA indicam que as práticas de manejo de uma das fazendas foram eficientes na manutenção de plantéis de reprodutores devidamente classificados. A reclassificação dos animais analisados usando os resultados da análise de Structure foi corroborada com as análises PCA e GeneClass2, fornecendo evidências de que análises avançadas com dados SNP de baixa densidade podem ser usadas para melhorar as práticas de manejo da fazenda e até mesmo corrigir erros anteriores. O presente estudo representa a primeira análise da diversidade e da estrutura genética dos plantéis comerciais de trutas-arco-íris cultivadas no Brasil utilizando marcadores SNP. Os resultados mostram que um painel de SNPs previamente desenvolvido e validado com amostras dos EUA pode ser usado como uma ferramenta eficiente no estudo e gerenciamento da truta-arco-íris produzida no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Análise de parentesco, Chip de genotipagem, Endogamia, Marcadores moleculares, Truticultura.

2.2 ABSTRACT

POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF REPRODUCERS OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) IN BRAZIL USING SNP MARKERS

Noeliton Teixeira de Araújo Júnior¹, Patrícia Ianella², Tulio Teruo Yoshinaga³,
Arno Juliano Butzge³, Alexandre Rodrigues Caetano²

1 Programa de Pós-Graduação/UnB – Brasília/DF

2 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

3 Estação Experimental de Salmonicultura, Instituto de Pesca/APTA/SAA

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is native to the Pacific Ocean coast of North America and the Kamchatka Peninsula of Russia. Brazilian populations of rainbow trout derive from various imports from European countries, the United States and Canada, from the 1950s onwards. Coefficients of inbreeding of individual animals, coefficients of relatedness and genetic differentiation of broodstock groups were obtained, in addition to tests of genetic allocation of animals to their respective rainbow trout stocks from Brazil. A total of 332 samples from seven commercial broodstock groups sampled from five farms in Brazil were genotyped with a panel of 95 SNPs. The mean observed and expected heterozygosities were 0.409 and 0.391, respectively. The total F_{st} was 0.177 and the pairwise F_{st} estimates considering all strains ranged from 0.036 to 0.338. The UPGMA genetic distance tree generated with the seven commercial broodstock groups studied shows that broodstocks originating in Northern California and Canada have greater genetic distances among themselves and with the others. Genetic structure analyses suggest a best value of $K=2$, pointing to the ancestral origin of the broodstock groups from the United States and Canada. Structure and PCA analyses indicate that the management practices of one of the farms was efficient in properly maintaining broodstock group classification. The reclassification of animals analyzed using Structure analysis results was corroborated with the PCA and GeneClass2 analyses, providing evidence that advanced analyzes with low density SNP data can be used to improve farm management practices and even correct past errors. The present study represents the first analysis of diversity and genetic structure of commercial rainbow trout farmed in Brazil using SNP markers. The results show that a panel of SNPs previously developed and validated with US samples can be

used as an efficient tool in the study and management of rainbow trout produced in Brazil.

Keywords: Parentage analysis, Genotyping chip, Endogamy, Molecular markers, Trout breeding.

2.3 INTRODUCTION

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is native to the Pacific coast of North America and the Kamchatka Peninsula in Russia (SPRINGER, 2021). The species has been introduced to all continents except Antarctica (D'AMBROSIO et al., 2019) for both commercial aquaculture production and recreational fishing, and is among the most relevant fish species for aquaculture, with over 800,000 tons produced worldwide in 2018 (GROSS et al., 2007; FAO, 2020).

The first successful introduction of rainbow trout in Brazil occurred in the 1950s, with the importation of eyed eggs from Denmark to populate rivers in high altitude areas of the Southeast region of Brazil (PORTO-FORESTI et al., 2002b). The Brazilian production of rainbow trout in 2019 totaled ~2,000mt, which represented 0.58% of the national aquaculture production (IBGE, 2019). Even though rainbow trout production in Brazil corresponds to only <1% of total finfish aquaculture production, it is important for regional markets near coastal high-elevation ranges, such as *Serra da Mantiqueira* and *Serra do Mar*, in South-Southeastern Brazil, and is especially associated with tourism and *haute cuisine* restaurants in major metropolitan areas.

The development of worldwide rainbow trout farming over the last 50 years has focused on increasing production and productivity with the use of traditional genetic improvement methods. More recently, contemporary genomic tools have been used to speed up the development of genetically superior animals (D'AMBROSIO et al., 2019) and to improve new traits of interest such as disease resistance (VALLEJO et al., 2020). Studies using molecular markers have been conducted to obtain estimates of genetic diversity, inbreeding and genetic structure within and between wild and commercial rainbow trout populations (Ward et al., 2003; Gross et al., 2007; Colihueque et al., 2019; D'Ambrosio et al., 2019). Following general trends for production animals, tools which make use of single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been preferably adopted for genetically characterizing rainbow trout broodstocks around the world (Liu et al., 2017; D'Ambrosio et al., 2019; Cádiz et al., 2021).

Most of the published research with rainbow trout from Brazil has focused on reproduction, animal health and disease, and general fish rearing and management practices (HENRIQUE et al., 2020; OLIVEIRA et al., 1995; PORTO-FORESTI et al., 2004a). Genetic analysis of local broodstocks has been so far restricted to cytogenetic studies

(Porto-Foresti et al., 2002; Porto-Foresti et al., 2004). Information about the genetic structure and variability of captive rainbow trout stocks is highly important from both commercial and scientific research perspectives (BOHLING; HAFFRAY; BERREBI, 2016). Little is known about the genetic structure of rainbow trout stocks currently raised in Brazil, or how reproductive management practices adopted in Brazilian rainbow trout farms over the last decades have impacted the genetic diversity and structure within and between different broodstocks.

The objective of this work was to evaluate the genetic structure and variability within and between rainbow trout broodstocks currently used in Brazilian farms, with a low-density SNP panel (LIU et al.; 2016).

2.4 MATERIAL AND METHODS

2.4.1 Selection of SNPs

A total of 95 SNPTyTM assays previously validated by LIU et al. (2016) in commercial rainbow trout strains sampled in the U.S. were obtained from FluidigmTM. Highly informative SNP markers (MAF >0.45) were selected to be in Hardy-Weinberg equilibrium and to have a recombination fraction larger than 0.2, based on two-point analysis between any two selected SNPs from the same chromosome. Marker names and oligo sequences for SNPTyTM assays are shown in Supplementary Material 1.

2.4.2 Source of samples

Fin samples were obtained from 332 rainbow trout from three farms in Brazil, located in the states of Minas Gerais, São Paulo and Santa Catarina. Each broodstock group of different lineages/origins according to the information declared by the farm of origin was initially classified as a unique group (Table 2.1). All collected samples were stored in 90% ethanol until processing.

Table 2.1: Numbers of animals sampled according to farm, broodstock, and import origin

Farm	Broodstock Group	No. of animals	Farm Location	Import Origin
A	MG1	42	MG	U.S.A. (1980s)
	MG2	29	MG	U.S.A. (2010)
	MG3	55	MG	MG1 x MG2 crossbred
B	SP4	52	SP	U.S.A. (Mt. Shasta, 1998)
	SP5	50	SP	Multiple, 1070s-80s
	SP6	52	SP	Canada (Kamloops, 1999)
C	SC7	52	SC	Unknown
Total		332		

Legend: MG – Minas Gerais, SP – São Paulo, SC – Santa Catarina

The broodstock from Farm A was initially derived from two germplasm imports from the United States. The MG1 corresponds to an importation made around the 1980s, which

was kept on the property until the current period. The MG2 consists of a more recent import of a different origin, which occurred around 2010 according to the producer. The MG3 is supposed to be composed of crossbred fish, derived from crosses made between MG1 and MG2.

In Farm B, the formation of the broodstock began with SP5 in 1974, in addition to imports of fertilized eggs from several countries, and has remained isolated since 1982. SP4 and 6 were derived from imports from a germplasm supplier in the United States. SP4 corresponds to a native rainbow trout strain from Northern California, and broodstock 6 comes from a strain from Canada. Both stocks were obtained in 1998. Farm C did not have detailed information about the background origin of their respective stock.

2.4.3 Sample Processing

DNA was extracted following an adaptation of the methodology described by (YUE; ORBAN, 2005), using 96-well PCR microplates from 5mm fin punches. Samples were immersed in 100µl of extraction buffer (50mM KCl, 10mM Tris-HCl pH9.0, 0.1% Triton X-100, 0.4mg/ml of proteinase K), incubated for 180 minutes at 60°C, followed by 20 minutes at 94°C and centrifugation to pellet undigested material.

2.4.4 SNP Genotyping

Genotyping data were generate according to standard protocols provided by Fluidigm for use with an EP1 platform. Each sample underwent pre-amplification with a set of Locus-Specific Primer (LSP) and Specific Target Amplification (STA) oligonucleotides for the 95 selected SNPs as described by (LIU et al., 2016). Then, each sample was genotyped on 96.96 Integrated Fluidic Circuit Arrays (96.96 Dynamic Array IFC), where the dilution of the pre-amplified samples and the 95 SNPType assays containing the Allele-Specific Primers (ASP) and LSP oligonucleotides for each SNP were added. After amplification, the 96.96 Dynamic Array IFC Arrays were scanned with Fluidigm's EP1 equipment, and genotype calls were performed with Fluidigm SNP 4.1 genotyping analysis software (FLUIDIGM CORPORATION, 2018).

2.4.5 Data Quality Control

Obtained genotypes were filtered based on confidence values, excluding genotypes with Call Confidence <95%. Additional filters were applied to remove samples and

markers with genotyping call rates lower than 0.90 and MAF (Minor Allele Frequency) lower than 0.05, using GenAEx v6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

2.4.6 Genetic Diversity

Arlequin v3.5.2.2 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010) was used to estimate Observed (H_o) and Expected (H_e) Heterozygosity with 100,000 Markov Chain steps, FIS (Coefficient of Inbreeding) and pairwise F_{ST} values, using 10,000 permutations and 0.05 significance levels. Analysis of molecular variance (AMOVA) was also performed with Arlequin v. 3.5.2.2. An UPGMA tree of genetic distances was constructed with the program MEGA11 (TAMURA; STECHER; KUMAR, 2021) based on the pairwise F_{ST} matrix of all studied populations.

2.4.7 Genetic Structure and Differentiation of Populations

Two approaches were used for genetic grouping analysis: a) Bayesian approach implemented in Structure v2.3.4 (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000); and b) Principal Component Analysis (PCA) using the SNP & Variaton Suite v8.x (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT). Structure was run using EasyParallel (ZHAO et al., 2020) with all of the seven populations. Additional runs were performed with the samples from different origins for Farm A and Farm B, to investigate the original broodstock attributions and better estimate genetic differences between broodstocks within farms, and investigate whether unknown admixture events had occurred. All Structure runs were performed considering the admixture model and correlated allele frequencies (FALUSH; STEPHENS; PRITCHARD, 2003), K values between 1 and 5, with 20 repetitions each, and Burn-in of 100,000, with 100,000 Markov-Monte Carlo Chains (MCMC) for each repetition. The most likely number of clusters was estimated using Evanno's method (EVANNO; REGNAUT; GOUDET, 2005) implemented by CLUMPAK (KOPELMAN et al., 2015). Principal Component Analyses (PCA) were performed with all seven populations examined simultaneously, and separate analyses were also performed for farms A and B.

2.4.8 Genetic Assignment

Genetic assignment of individuals to specific broodstock groups was performed using Structure pertinence values (q), according to choice of q value threshold (VÄHÄ;

PRIMMER, 2006), and with GeneClass2 v2.0 (PIRY et al., 2004). Original broodstock classifications from Farms A and B were evaluated and reassignments were performed, considering obtained results as described below.

Two Structure analyses were run with the samples from Farm A, following the parameters described above, with 20 repetitions for K-values from 1 to 4 and the best number of clusters inferred with CLUMPAK. Results obtained with the original broodstock classification (STRUC1A) were used to reallocate individuals among three populations considering a q threshold of 0.80 (BURGARELLA et al., 2009; VÄHÄ; PRIMMER, 2006). q values equal to or greater than the threshold were used to reallocate individual fish to rMG1 or rMG2 (which were declared by farm management to be purebred animals from two different importations from the U.S.A., Table 2.1). q values lower than 0.80 were used to allocate individuals to rMG3 (declared by the owner as hybrid broodstocks between MG1 and MG2). We termed the result as CLASS2A. To evaluate and visualize the genetic structure of the new classification, a new Structure analysis was performed with CLASS2A assignments, which was termed STRUC2A. An analysis using only the samples from Farm B was performed with the same parameters as above - STRUC1B.

GeneClass2 was also used to test original strain assignments. All self-assignment tests were run with assignment threshold of 0.01, according to Rannala & Mountain (1997). Self-assignment tests were performed for the two original classifications (CLASS1A and CLASS1B) and for the new Farm 2 classifications (CLASS2A).

The reliability and agreement rates between original and new Farm A and B classifications were tested with Cohen's Kappa Test (KOTTNER et al., 2011) implemented in the packages "dplyr" (WICKHAM et al., 2022) and "irr" (GAMER; LEMON; PUSPENDRA, 2019) using the program R v4.1.0 (R CORE TEAM, 2022). Pearson correlations between original and new classifications assignments were also calculated with the "dplyr" package.

2.4.9 Kinship Analysis

Coancestry v1.0.1.10 (Wang, 2011) was used to estimate the genetic relationships (kinship) between pairs of individuals per broodstock group, using the Triadic Likelihood Estimator (Wang, 2011). Kinship estimates were classified into four categories according to the estimators r_{xy} and probability estimators, following the ranges for each category: i - ($r_{xy} \geq 0.50$) Full Sib, ii - ($0.25 \geq r_{xy} \leq 0.49$) Half Sib, iii - ($0.125 \geq r_{xy} \leq 0.249$) First Cousins, iv - ($0 = r_{xy} < 0.125$) Low or Unrelated, (MILLIGAN, 2003; WANG, 2007). We devised three mating categories based on

the percentage of the kinship level in each population: i – ($r_{xy}<0$) Ideal matings, the animals have no level of kinship; ii – ($0>r_{xy}<0.125$) Mating Advisable, unrelated animals; iii – ($r_{xy}>0.125$) Mating Not Recommended, animals that are cousins, half sibs or full sibs, (FONSECA et al., 2017).

2.5 RESULTS

2.5.1 Quality Control

Filtering and quality control of the data resulted in a final dataset with a total of 88 markers and 332 (100%) samples. Distributions of estimated MAF per broodstock group are shown in table 2.1. The average estimated MAF per broodstock group ranged from 0.201 (SP6) to 0.336 (MG1) (Figure 2.2).

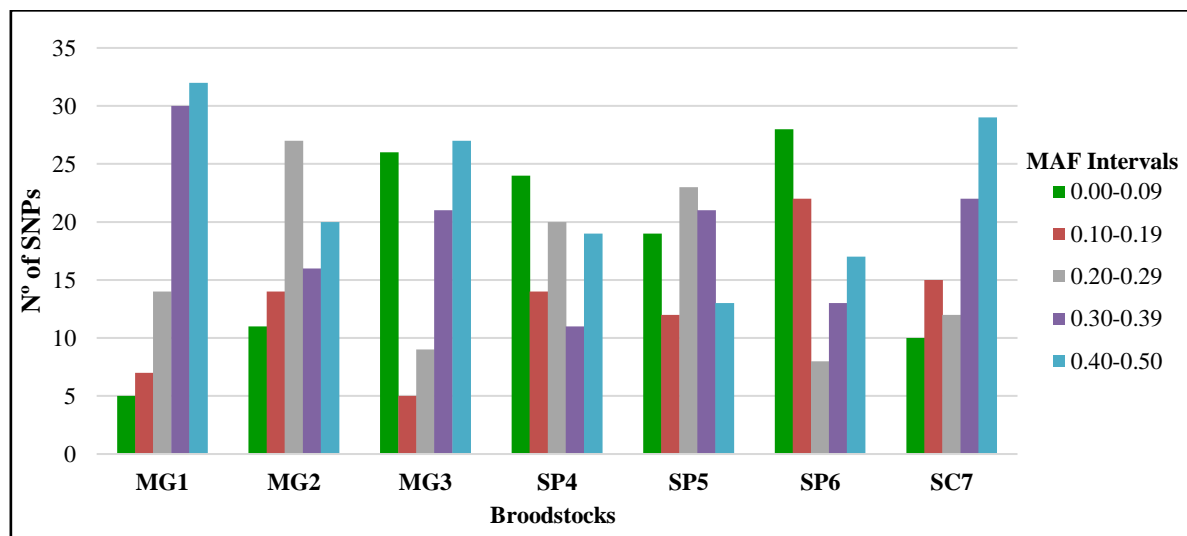


Figure 2.1 MAF distribution for each analyzed broodstock group.

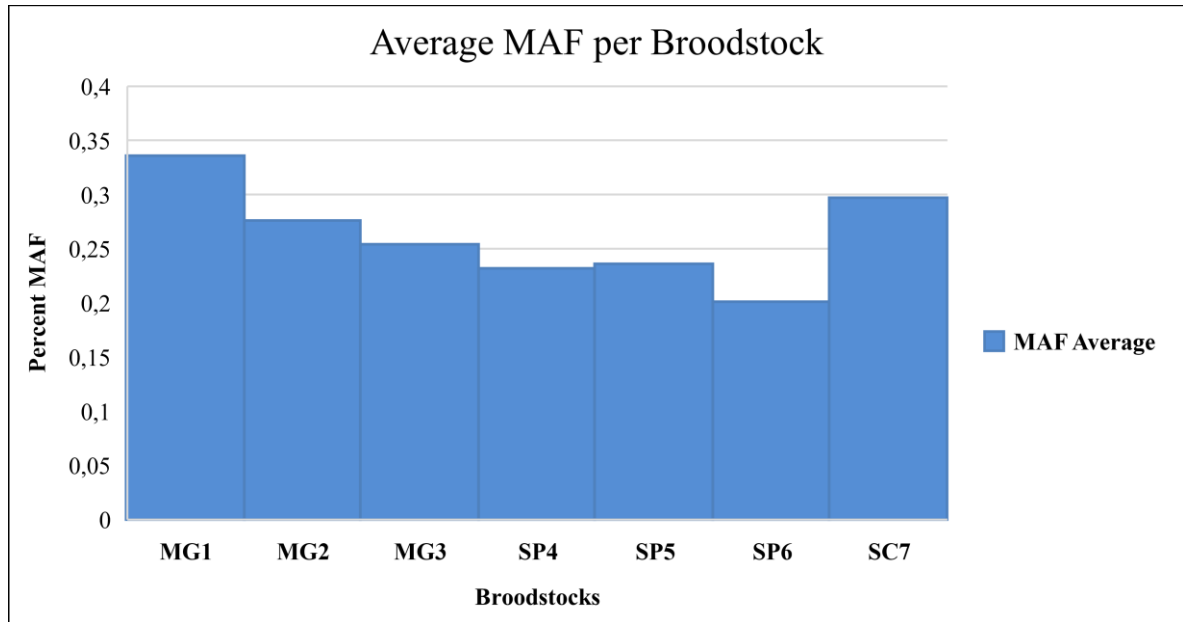


Figure 2.2 Histogram with the average estimated MAF values per broodstock group.

Table 2.2: Number of markers within estimated Minor Allele Frequency intervals and overall MAF averages for each broodstock group.

Broodstock	MAF Interval					MAF Average
	0.00-0.09	0.10-0.19	0.20-0.29	0.30-0.39	0.40-0.50	
MG1	5	7	14	30	32	0.336
MG2	11	14	27	16	20	0.276
MG3	26	5	9	21	27	0.254
SP4	24	14	20	11	19	0.232
SP5	19	12	23	21	13	0.236
SP6	28	22	8	13	17	0.201
SC7	10	15	12	22	29	0.297
Total MAF Average						0.261

2.5.2 Genetic Diversity

Table 2.3 lists the heterozygosity estimates for the 7 studied broodstock groups. The estimated Fisher's inbreeding coefficient (F_{is}) ranged from -0.192 to 0.039. Only broodstocks MG1 and SC7 showed positive F_{is} of 3% and all p-values were above the 0.05 significance level. A table with the individual inbreeding coefficients (F_{is}) for each of all animals is shown in Supplementary Material S3.

Table 2.3: Estimates of observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity and Wright's inbreeding coefficient (F_{is}) for all studied rainbow trout broodstock groups

Broodstock	H_o	H_e	F_{is}	p-Value
MG1	0.420	0.438	0.030	0.292
MG 2	0.450	0.395	-0.116	0.987
MG 3	0.469	0.447	-0.049	0.919
SP 4	0.364	0.348	-0.058	0.921
SP 5	0.356	0.353	-0.030	0.797
SP 6	0.417	0.354	-0.192	1.000
SC 7	0.386	0.407	0.039	0.137
Mean	0.409	0.391	-	

The overall estimated values for F_{is} , F_{st} and F_{it} were 0.049, 0.177 and 0.136, respectively. The estimated total inbreeding index (F_{it}) suggests that moderate reduction in heterozygosity of individuals relative to the total population has occurred. The overall estimated F_{is} was not significant ($p > 0.05$). Pairwise F_{st} estimates (Table 2.4) ranged from 0.036 (between MG1 and MG3) to 0.338 (between SP4 and SP6).

Table 2.4: F_{st} estimates of observed among all studied strains

Broodstock	1	2	3	4	5	6
2	0.137					
3	0.036	0.054				
4	0.204	0.216	0.148			
5	0.113	0.224	0.096	0.264		
6	0.220	0.318	0.212	0.338	0.277	
7	0.064	0.153	0.068	0.198	0.155	0.190

* All pairwise estimates were significant ($p < 0.05$)

The UPGMA tree of genetic distances obtained with pairwise F_{st} genetic distances separated the populations into 7 clusters (Figure 2.3). SP6 constitutes a more genetically distant group and the broodstocks MG1 and MG3 form a cluster more similar to each other, while broodstock groups SP4, SP5 and SP6 share greater similarity. SP7 shows a position of intermediate distance between the broodstocks from farms A and B.

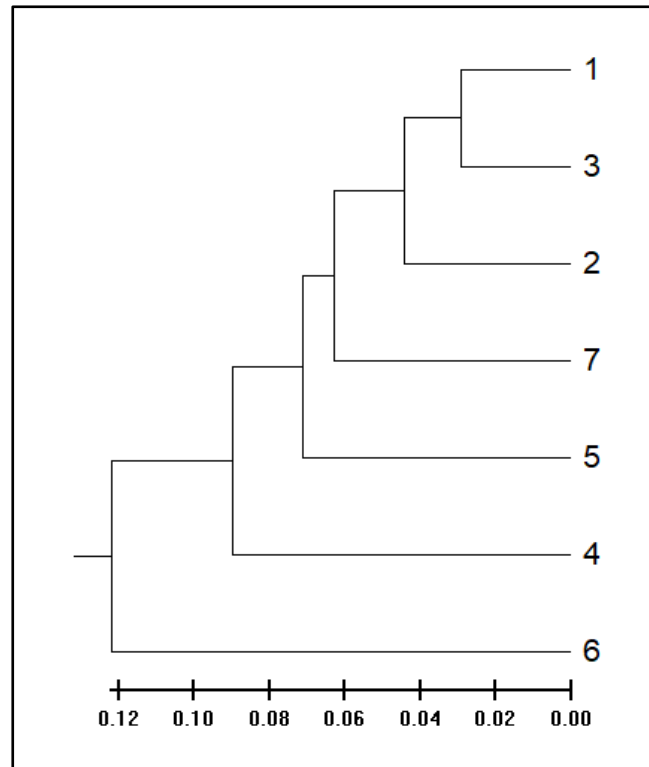


Figure 2.3: UPGMA tree of genetic distances based on pairwise F_{st} estimates between the seven studied rainbow trout broodstock groups.

Table 2.5 lists the AMOVA analysis results showing that within-individual variation (86.37%) is responsible for explaining most of the total observed molecular variance.

Table 2.5: AMOVA result for the seven broodstocks

Source of Variation	Variance Components	Percentage of variation
Among populations	2,755	17.74
Among individuals within population	-0,637	-4.11 NS ¹
Within individuals	13,415	86.37

¹NS = not significant ($p > 0.05$)

2.5.3 Genetic Structure and Differentiation

The genetic structure analysis performed with Structure revealed that the seven broodstocks analyzed can be divided into two groups, with higher probability $K=2$ indicated by the Evanno method. The Structure graph (Figure 2.4) illustrates the division of the seven broodstocks, indicating that they originated from two ancestral groups, with SP6, from Canada, being the divergent group among the other broodstocks. With $K=3$ (Figure 2.4B), it is possible to observe the separation of SP4. Figures showing Structure graphs from $K=2$ to $K=5$ are shown in Supplementary Material S2.

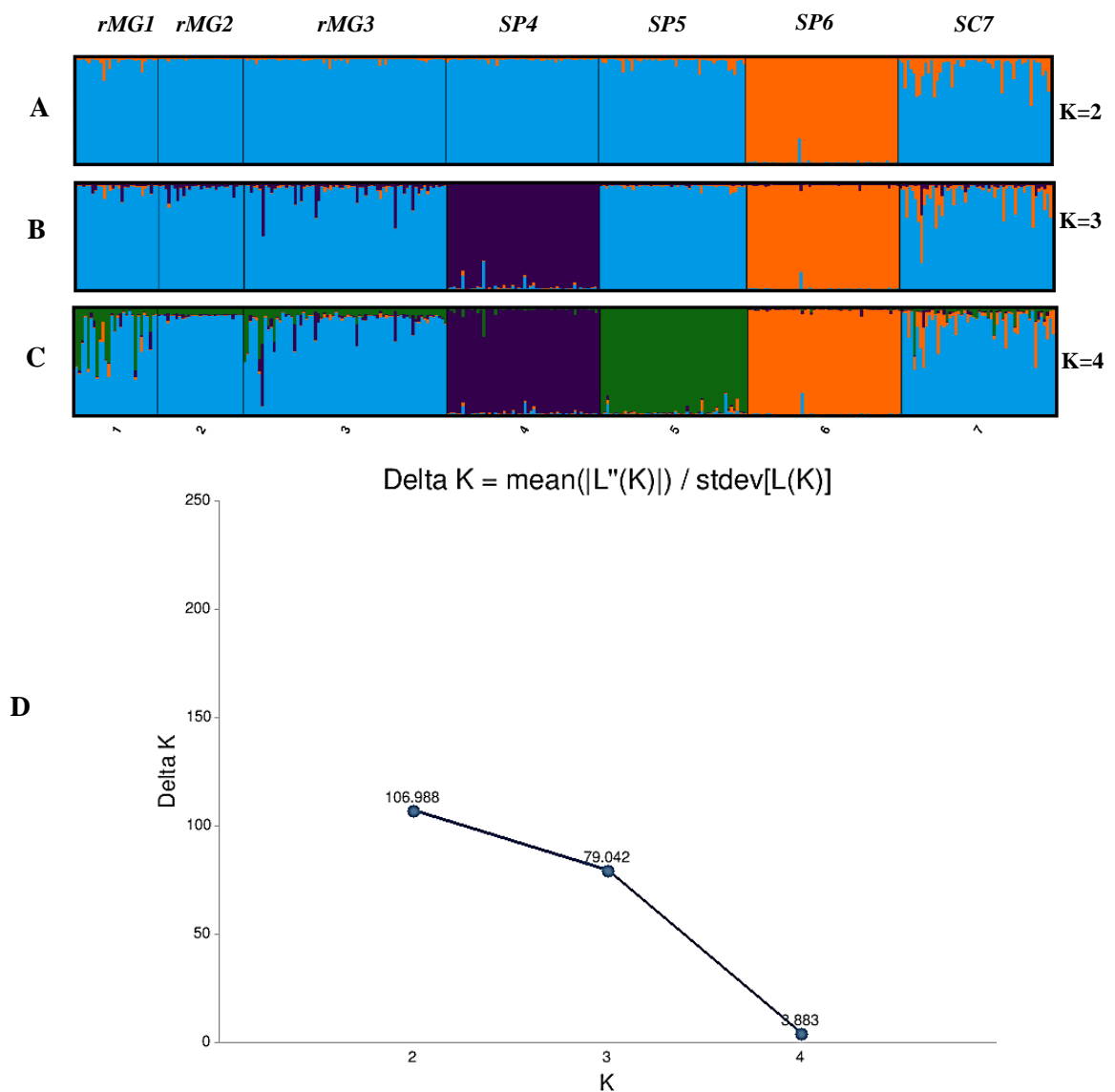


Figure 2.4: Genetic structure graph including all seven rainbow trout studied broodstocks, considering $K=2$ (A), $K=3$ (B) and $K=4$ (C). (D) Graph showing Delta K between $K=2$ and $K=4$.

PCA results show that samples from SP 4 and 6 form two independent clusters, while samples from the other broodstocks show some overlap within the same cluster, thus corroborating the Structure analysis results.

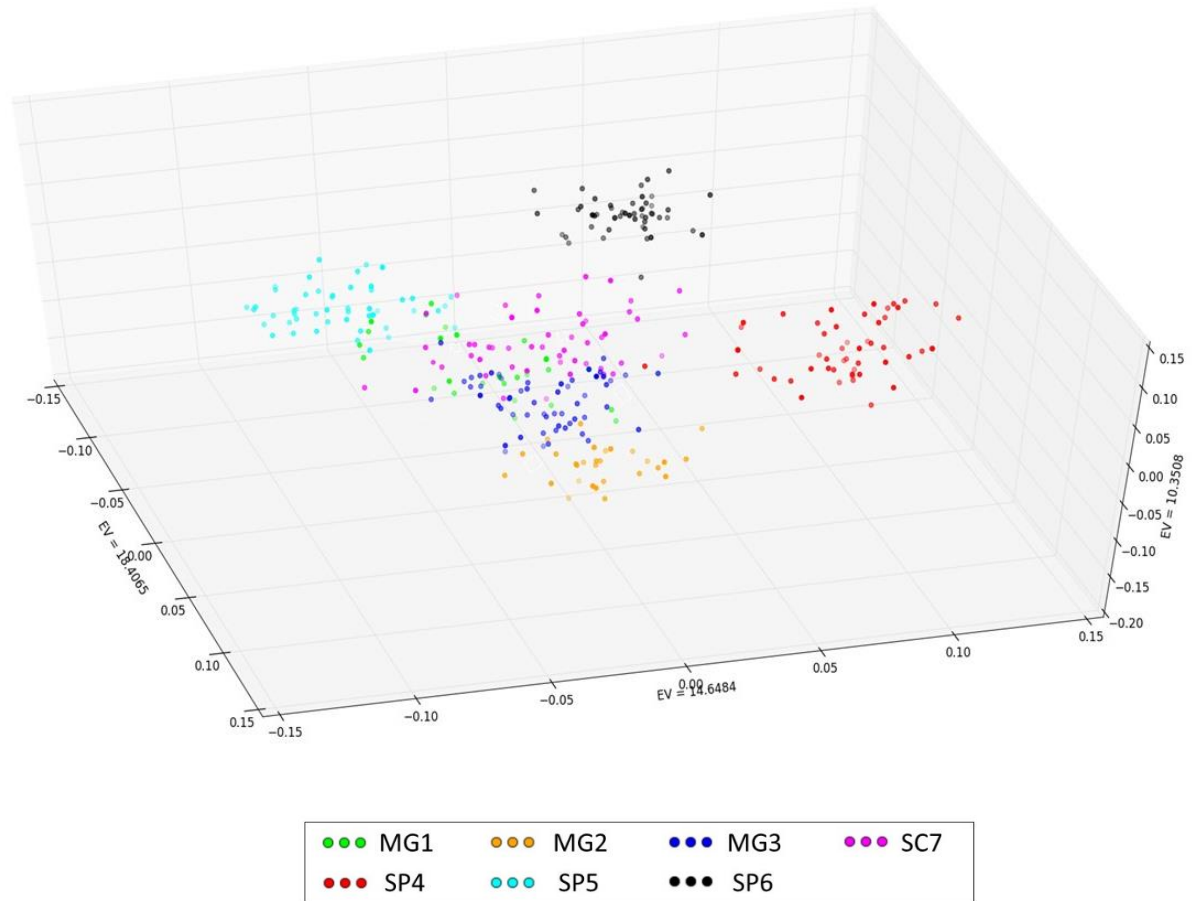


Figure 2.5: Three-dimensional PCA plot showing the three most significant Principal Components estimated with genotyping data from of the 332 rainbow trout samples from seven different broodstock groups collected in Brazil.

2.5.4 Genetic Assignment

Results from the first Structure run with broodstock samples from farm A, considering the original group classification, showed cluster association coefficients (Figure 2.6A) which do not corroborate the original description provided by farm management. Most individuals in all three broodstock groups showed varying levels of admixture from two ancestral populations ($K=2$). Using a threshold of 80% for estimated q values from the initial analysis, it was possible to separate Farm A samples into three distinct groups: rMG1 and

rMG2, with $q \geq 0.8$ for clusters 1 and 2, respectively, a rMG3 with the remaining samples, with varying levels of admixture (Figure 2.6B). Figure 2.6 C displays the coefficient of association of the clusters at the population level. For all three analyses performed with the samples from Farm A, the best value of K estimated with Evanno's method was K=2.

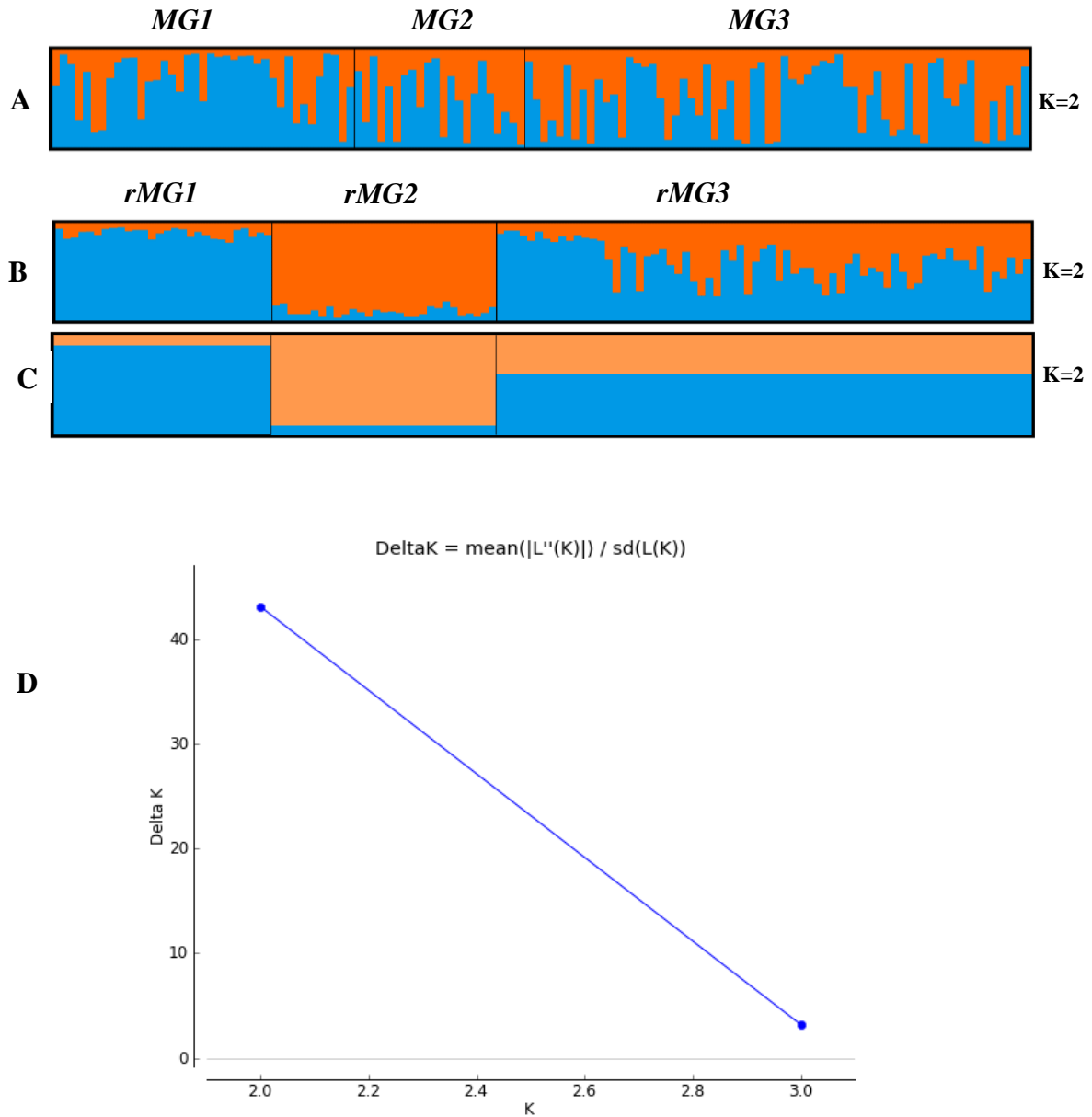


Figure 2.6: Genetic structure of the three broodstock groups from Farm A observed with Structure analysis with K=2. (A) Initial result obtained with the original group classification from farm management (CLASS1A). (B) Result obtained after reclassification of individuals based on a q value threshold of 80% (CLASS2A). (C) Result of the association coefficient at the population level. (D) Optimal number of clusters inferred with Evanno's method.

Figure 2.7 A shows a 3D PCA plot generated with the reclassified samples from Farm A, where animals reclassified into rMG1 and rMG2 form two distinct clusters, while crossbred fish from rMG3 are allocated in an intermediate cluster, with some degree of overlap with MG1 and MG2.

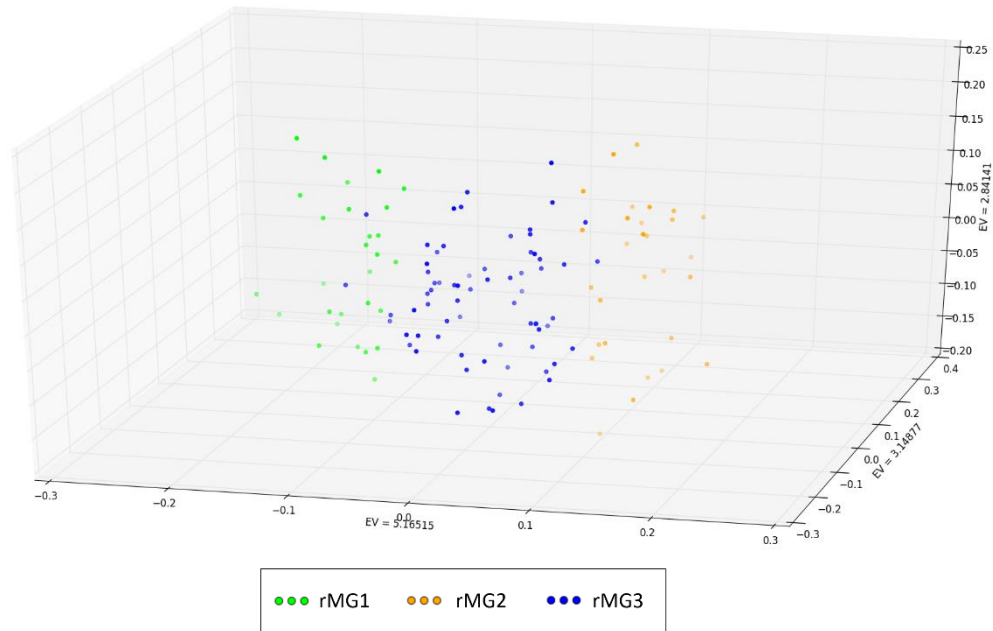


Figure 2.7: Three-dimensional PCA plots with samples from Farm A after reclassification, considering the three main estimated Principal Components. Each point represents one animal.

Figure 2.8 shows the Structure analysis results of the broodstock groups from Farm B. A complete separation of the animals into three distinct groups can be observed, suggesting management practices have properly maintained the three original groups completely separated. For this property, the number of ancestral populations obtained by Evanno's method corresponded to $K=3$. PCA analysis of Farm B samples corroborates these results showing the animals grouped in three distinct clusters (Figure 2.9).

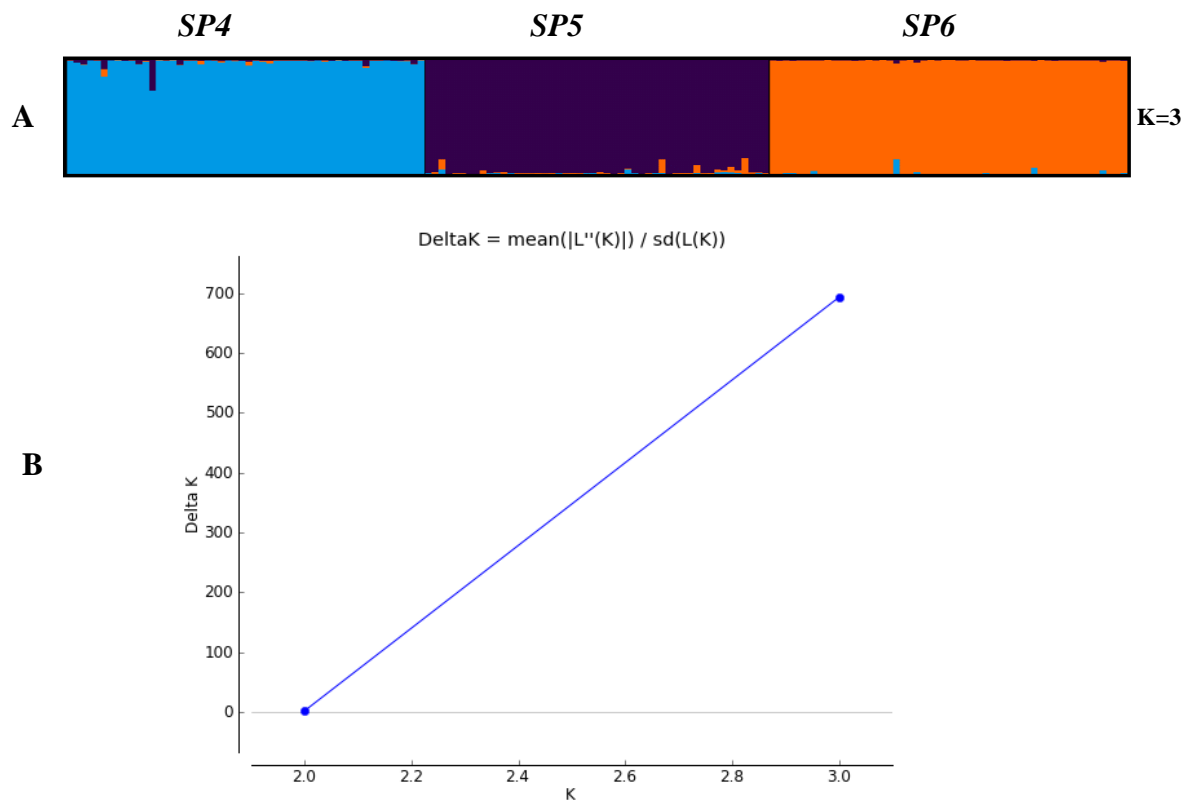


Figure 2.8: Structure plots for Farm B samples with $K=3$. (A) Plotting at individual level with separation of animals into three distinct clusters. (B) Best value of K inferred with Evanno's method.

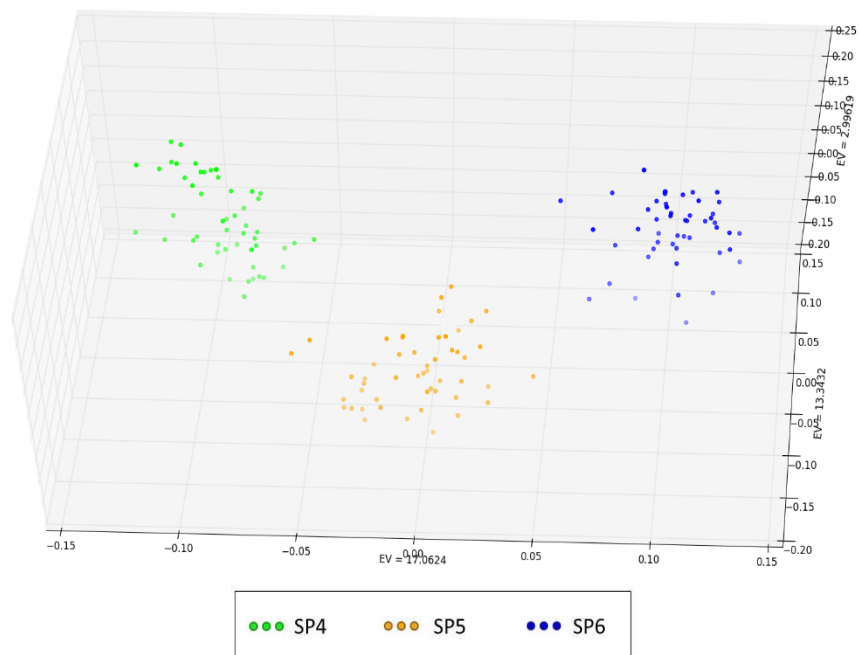


Figure 2.9: Three-dimensional PCA plots with samples from Farm B, considering the three main estimated Principal Components. It was not necessary to reclassify the animals on this property.

The genetic group auto-assignment results for the reclassified samples from Farm A (CLASS2A) and samples from Farm B are shown in Table 2.6. Considering the strains from Farm A, there were 2 reallocations of samples from MG1 to MG3, and 5 samples from MG3 to MG1. No samples from MG2 were reallocated. All samples from Farm B were self-assigned to the original strains.

Table 2.6: Self-assignment results of samples from Farms A and B, after reclassification (CLASS2A).

Sample Allocation after Classification with GeneClass2							Correct Assignment
Strain	1	2	3	4	5	6	
rMG1	26		2				92.85%
rMG2		29					100%
rMG3	5	3	61				88.40%
SP4				52			100%
SP5					50		100%
SP6						52	100%
General							96.41%

2.5.5 Agreement and Reliability between the classifications

The Kappa Test comparing CLASS1A and CLASS2A corroborated that there is low reliability and low agreement between the original farm classification and the q -value threshold reclassification (Table 2.7). The comparison between the CLASS2A reclassification and the GeneClass2 self-assignment showed a strong reliability index (0.87) and agreement of 92%, as well as a high correlation coefficient (0.82). The original Farm B classification had a perfect reliability index and 100% agreement with the GeneClass2 assignment test.

Table 2.7: Results of the agreement tests between different Strain classifications/assignments

Comparison	p-Value	Agreement	Reliability	Pearson Correlation
CLASS1A x CLASS2A	0.0297	47.6	0.139	0.204
CLASS2A x GeneClass2	0	92.1	0.870	0.821
CLASS1B x GeneClass2	0	100	1	1

2.5.6 Kinship Analysis

Table 2.8 Shows the frequency of pairwise kinship relations for each broodstock according to kinship level. SC7 and MG1 had the highest percentage of unrelated individuals ($r_{xy}=0$), 85.4% and 82.7%, respectively. Broodstocks SP6 and SC7 showed highest percentage of Full-Sibs ($r_{xy}=0.50$) respectively 2.9% and 1.3%. One pairwise kinship estimate of 100% ($r_{xy}=1.0$) was observed in SP6 and in SC7, suggesting the two animals were sampled twice, respectively.

Table 2.8: Kinship analysis for the seven rainbow trout broodstocks groups, values are represented in percentages.

Broodstock	Full-Sib	Half-Sib	Cousin	Low or Unrelated
rMG 1	0.1	5.2	12.0	82.7
rMG 2	1.0	7.6	15.8	75.6
rMG 3	0.2	4.8	13.1	82.0
SP 4	1.0	11.5	15.1	72.4
SP 5	0.7	8.5	15.4	75.3
SP 6	2.9	17.3	14.9	64.8
SC 7	1.3	3.1	10.3	85.4

Table 2.9 shows the number of possible matings for each broodstock, according to level of kinship. SC7, showed the low percentage not recommended matings ($r_{xy}>0.125$), with values of 11.9%. rMG2 had the highest percentage of possible matings with high levels of kinship (30.9%).

Table 2.9: Percentage of possible matings according to estimated kinship level.

Broodstock	N°. Interacton	Mating types		
		Ideal	Advisable	Not Recommended
rMG 1	121	47.1	33.9	19.0
rMG 2	55	45.5	23.6	30.9
rMG 3	751	44.2	39.0	16.8
SC 7	675	47.7	40.4	11.9

2.6 DISCUSSION

We analyzed the genetic structure and diversity patterns of fish from seven rainbow trout broodstock groups maintained in three distinct farms in Brazil, using a low-density SNP panel. Results showed high levels of genetic differentiation among the populations analyzed. The set of SNP markers used had been validated with rainbow trout samples exclusively from the U.S.A., and observed results show that the same markers can be used to analyze samples from Brazil, representing an excellent low-cost tool for local broodstock research and management. This work represents the first comprehensive analysis of genetic diversity and structure of rainbow trout broodstocks from Brazil with SNPs markers.

LIU et al. (2016) designed and validated the SNP assays used in the present study from a set of 57K SNPs with MAF values ranging from 0.019 to 0.41, with an overall average of 0.26 (Palti et al., 2015a). SNPs markers with average MAF between 0.10 and 0.30 are described by (DUSSAULT; BOULDING, 2018; STRUCKEN et al., 2016) as sufficient for kinship assignment in Atlantic Salmon and terrestrial animals. We investigated the percentage of kinship between full sib, half sib, and cousins for all broodstocks, as well as obtained a level of over 96% for the reclassification and self-assignment of fish to their organizational groups.

The genetic structure and diversity within and between populations held in captivity is important for optimizing management strategies such as breeding stock for commercial production and genetic conservation (KAJUNGIRO et al., 2019). Reproductive management strategies which maximize effective population sizes (N_e) are pointed out by Gross et al. (2007) as the main reason for the high levels of genetic variability frequently observed in captive rainbow trout stocks. Comparisons of observed (H_o) and expected (H_e) levels of heterozygosity provide ways to assess genetic diversity within populations. Most broodstocks analyzed in the study showed high levels of genetic variability, with average observed heterozygosities (H_o) of 0.409, suggesting that adopted management strategies were able to maintain high levels of genetic diversity. Higher levels of H_o compared to H_e were also reported by D' Ambrosio et al. (2019), when studying the genetic diversity of commercial rainbow trout stocks from France. Similarly, Cádiz et al., (2021) also observed that estimated H_o was higher than H_e in commercial and anadromous rainbow trout populations from Chile. In our study, the highest H_o estimates observed were from broodstock from Farm B, which uses large numbers of single pairings (i.e. one male mated to one female) per generation, maintaining therefore high levels of N_e in every reproduction cycle.

According to Cádiz et al. (2021), the high levels of genetic diversity generally observed in cultured rainbow trout stocks may also be a consequence of mixing strains from different geographic origins to establish commercial base populations, which are subsequently managed and selected for improved productivity. Although there are no accurate records of the history of rainbow trout strains imported into Brazil, Porto-Foresti et al., (2002) reported that the Brazilian government imported fertilized eggs of various origins beginning in the 1950s for research, commercial production and stocking in high altitude streams along the mountainous regions of South-Southeast Brazil. Reports from rainbow trout farms from Brazil corroborate this information and may explain the high levels of genetic diversity observed in MG1, SP5 and SC7 broodstocks, which are reported to be derived from these older import populations.

Wright's F statistics are important descriptors to indicate the composition of genetic variation within and between populations (HOLSINGER; WEIR, 2009). The overall observed estimate of $F_{st} = 0.17$ indicates among the 7 broodstock groups resembles reports by Colihueque et al. (2019) on wild populations of trout in southern Chile ($F_{st} = 0.169$), but is slightly lower than the F_{st} estimates (0.192) obtained by Ward et al. (2003), who used a microsatellite panel to study rainbow trout populations in Australia. Using the same SNP panel used in the present study LIU et al. (2017), analyzed commercial rainbow trout strains from the US and found an overall estimated F_{st} of 0.13. D'Ambrosio et al. (2019) used a high-density SNP panel with 57,000 SNPs to analyze commercial rainbow trout strains from France, and obtained moderate estimates of genetic differentiation among strains, with an overall F_{st} estimate of ~ 0.1 . The high overall F_{st} level observed in our work is probably a consequence of the large genetic distance observed for the SP4 and SP6 strains, relative to the other strains studied, which is a consequence of the original genetic distances from ancestral populations (i.e. Northern California vs British Columbia, respectively), in addition to accumulated drift since importation. High overall F_{st} estimates were also found by (BOHLING; HAFFRAY; BERREBI, 2016), when studying brown trout (*Salmo trutta*) strains from 19 farms in France ($F_{st} = 0.194$), and by Ward et al. (2003), when analyzing rainbow trout strains from two sites in Australia ($F_{st} = 0.192$). According to our survey, the studies by (LIU et al., 2017) and (D'AMBROSIO et al., 2019), were the only ones to use SNPs to calculate F_{st} in farmed rainbow trout, however, both studies only sampled animals from a single farm. The negative values observed for the Coefficient of Endogamy (F_{is}) estimated for most broodstock groups suggest high heterozygosity, corroborating the observed excess of H_o versus H_e . Conversely, the overall estimated inbreeding index ($F_{it} = 0.136$) indicates a moderate reduction in the heterozygosity of individuals relative to the total population has occurred. However, this result

is expected because of the large genetic distances observed between broodstock groups, as observed in estimated pairwise F_{st} estimates, which therefore inadvertently inflated the F_{it} estimate.

The UPGMA tree generated with the 7 studied broodstock groups (Figure 2.3), shows lower genetic distances among the rMG1, rMG2 and rMG3 groups, followed by SC7 and SP5, while the broodstocks with origin in Northern California (SP4) and Canada (SP6) show greater genetic distances among themselves and with the others. A similar pattern was found by Gross et al. (2007) when comparing rainbow trout strains from Canada with those from the United States. Farm B stated that SP4 is derived from rainbow trout from Mount Shasta in northern California, while SP6 is derived from Kamloops rainbow trout from British Columbia in Canada. Abadía-Cardoso et al. (2015) reported large genetic distances between rainbow trout samples from Mount Shasta and the Kamloops region, relative to other populations in North America. The UPGMA tree and F_{st} matrix suggest a substantial degree of differentiation among the Broodstocks and the AMOVA results also points out that 86.37% of the genetic variation occurs within individuals compared in total observed variation across all farms.

The probable number of subpopulations observed with the Structure analysis, considering the method proposed by Evanno et al., (2005) was $K=2$, in view of the separation of an ancestral cluster from Canada and another from the U.S.A. However, the Structure result for $K=4$, provides a better support for the UPGMA tree obtained. Figure 2.4B shows that broodstocks SP4 and SP6 remain isolated, and broodstocks MG1, MG2, MG3 and SC7 form a group with common ancestry. This same pattern of organization is corroborated with the PCA plot of the seven broodstocks (Figure 2.5), highlighting the most obvious separation of broodstocks SP4, SP5 and SP6. With $K=3$ (Figure 2.4B), SP4 is separated from the other broodstocks that make up the group of animals declared as derived from imports from the United States.

At Farm B, both PCA and Structure indicate that management practices have been very effective in keeping each breeding animal properly isolated (Figures 2.8 and 2.9). Conversely, the initial Structure analysis of the Farm A data (Figure 2.6A), provided evidence that the initial strain classification was not properly done. Although farm management declared to maintain stocks from two different origins, and a third group of F1 crossbred fish, observed results significantly deviated from the original strain classification. The reclassification of Farm A animals using Structure results was corroborated with PCA (Figure 2.7) and GeneClass2 (Table 2.6) analyses, with a level greater than 96% for reclassification and self-assignment,

providing evidence that advanced analyses with low-density SNP data can be used to improve farm management practices and even correct previous errors.

High levels of inbreeding can be detrimental to fry survival and growth of rainbow trout (GJERDE; GUNNES; GJEDREM, 1983). Broodstock kinship analysis based on molecular marker data to reconstruct unknown pedigree information has been an important resource in rainbow trout breeding and improvement programs, helping to reduce inbreeding rates by supporting the formulation of mating plans to maximize pairings of unrelated individuals (D'AMBROSIO et al., 2019; GJERDE; GUNNES; GJEDREM, 1983). We investigated the percentage of relatedness among full siblings, half siblings, and cousins, however, all broodstocks had higher percentage of animals with little or no relatedness. For the interactions of possible matings, the sum of the percentages of Ideal and Advisable matings was greater than 80% for all broodstocks tested, with the exception of rMG2, which was close to 70%. Even if pedigree information was not used in the past in the genetic management of the rainbow trout stocks analyzed, it can be noted that the mating strategies adopted in the three farms were relatively similar in order to avoid increasing inbreeding rates.

CONCLUSION

A low density SNP panel developed and validated with rainbow trout samples from the USA was useful to analyze the genetic structure, inbreeding levels, and relatedness of seven different rainbow trout broodstock groups sampled from five different farms in Brazil. The fish studied were identified as descended from two ancestral lineages, with one broodstock originating from Canada and the others originating from the United States. We found high genetic differentiation within and between farms, and high rates of heterozygosity. The marker set was also effective in estimating the kinship relationships within groups for pedigree reconstruction and optimization of breeding plans. The performed analyses were useful in identifying misclassifications of unknown strains and efficient in reallocating individuals in purebred and crossbred groups. Although the initial introductions of rainbow trout in Brazil dates back more than 70 years, the results show that current broodstock have high levels of genetic variability. Future studies involving other commercial stocks and free-living specimens may contribute to expanding the knowledge about rainbow trout in Brazil.

REFERENCES

- ABADÍA-CARDOSO, A. et al. Genetic structure of pacific trout at the extreme southern end of their native range. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–20, 2015.
- BOHLING, J.; HAFFRAY, P.; BERREBI, P. Genetic diversity and population structure of domestic brown trout (*Salmo trutta*) in France. **Aquaculture**, v. 462, p. 1–9, 2016.
- BURGARELLA, C. et al. Detection of hybrids in nature: Application to oaks (*Quercus suber* and *Q. ilex*). **Heredity**, v. 102, n. 5, p. 442–452, 2009.
- CÁDIZ, M. I. et al. Detection of selection signatures in the genome of a farmed population of anadromous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genomics**, v. 113, n. 5, p. 3395–3404, 2021.
- COLIHUEQUE, N. et al. Genetic Differentiation and Origin of Naturalized Rainbow Trout Populations From Southern Chile, Revealed by the mtDNA Control Region Marker. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. December, p. 1–14, 2019.
- D'AMBROSIO, J. et al. Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. **Genetics Selection Evolution**, v. 51, n. 1, p. 1–15, 2019.
- DUSSAULT, F. M.; BOULDING, E. G. Effect of minor allele frequency on the number of single nucleotide polymorphisms needed for accurate parentage assignment: A methodology illustrated using Atlantic salmon. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 3, p. 1368–1372, 2018.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611–2620, 2005.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564–567, 2010.
- FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. **Genetics Society of America**, v. 164, n. 4, p. 1567–1587, 2003.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE - SUSTAINABILITY IN ACTION. **FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations**, p. 224, 2020.
- FLUIDIGM CORPORATION. **SNP Genotyping User Guide (PN 68000098 Q1)**. Disponível em: <<https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdlTv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CiYtyMxHAWFg>>. Acesso em: 31 maio. 2022.
- FONSECA, F. S. et al. Genetic diversity of an imperiled neotropical catfish and recommendations for its restoration. **Frontiers in Genetics**, v. 8, n. DEC, p. 1–12, 2017.
- GAMER, M.; LEMON, J.; PUSPENDRA, I. F. S. **irr: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement. R package version 0.84.1**, 2019. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=irr>>
- GJERDE, B.; GUNNES, K.; GJEDREM, T. Effect of inbreeding on survival and growth in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 34, n. 3–4, p. 327–332, 1983.
- GOLDEN HELIX, INC., BOZEMAN, M. **SNP & Variation Suite v8.x**, [s.d.]. Disponível em: <www.goldenhelix.com>
- GROSS, R.; LULLA, P.; PAAVER, T. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. **Aquaculture**, v. 272, n. SUPPL. 1, 2007.
- HENRIQUE, S. M. et al. Parasitos em trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) criadas em sistema intensivo na região serrana de Santa Catarina, Brasil. **Arquivo Brasileiro de**

- Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 6, p. 2387–2390, 2020.
- HOLSINGER, K. E.; WEIR, B. S. Genetics in geographically structured populations: Defining, estimating and interpreting FST. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 9, p. 639–650, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da aquicultura por tipo de produto - Truta arco-íris**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>>. Acesso em: 8 set. 2022.
- KAJUNGIRO, R. A. et al. Population Structure and Genetic Diversity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Strains Cultured in Tanzania. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. December, p. 1–12, 2019.
- KOPELMAN, N. M. et al. Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 5, p. 1179–1191, 2015.
- KOTTNER, J. et al. Guidelines for reporting reliability and agreement studies (GRRAS) were proposed. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 64, n. 1, p. 96–106, 2011.
- LIU, S. et al. Development and validation of a SNP panel for parentage assignment in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 452, p. 178–182, 2016.
- LIU, S. et al. Assessment of genetic differentiation and genetic assignment of commercial rainbow trout strains using a SNP panel. **Aquaculture**, v. 468, p. 120–125, 2017.
- MILLIGAN, B. G. Maximum-likelihood estimation of relatedness. **Genetics**, v. 163, n. 3, p. 1153–1167, 2003.
- OLIVEIRA, C. et al. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes and oocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Pisces, Salmonidae): the process of autosome and sex chromosome synapsis. **Chromosome Research**, v. 3, n. 3, p. 182–190, 1995.
- Palti, Y., Gao, G., Liu, S., Kent, M.P., Lien, S., Miller, M.R., Rexroad III, C.E., Moen, T., 2015a. The development and characterization of a 57 K single nucleotide polymorphism array for rainbow trout. *Mol. Ecol. Resour.* 15, 662–672.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537–2539, out. 2012.
- PIRY, S. et al. GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. **Journal of Heredity**, v. 95, n. 6, p. 536–539, 2004.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Truta Arco-Íris: Os brasileiros já a desajavam desde 1913. **Panorama da Aquicultura**, p. 22–24, 2002a.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Analysis of NOR distribution in cultivated and naturalized stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 4, p. 409–412, 2002b.
- PORTO-FORESTI, F. et al. A lethal effect associated with polymorphism of the NOR-bearing chromosomes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 51–54, 2004a.
- PORTO-FORESTI, F. et al. Chromosome localization of the ribosomal genes 18S and 5S in four stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from cultivated and naturalized stocks in Brazil. **Cytologia**, v. 69, n. 2, p. 175–179, 2004b.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945–959, 2000.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria** Vienna, Austria, 2022. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>
- RANNALA, B.; MOUNTAIN, J. L. Detecting immigration by using multilocus genotypes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94,

n. 17, p. 9197–9201, 1997.

SPRINGER, C. **America's Bountiful Waters 150 Years of Fisheries Conservation and the U.S. Fish & Wildlife Service**. Guilford: Rowman Littlefield, 2021.

STRUCKEN, E. M. et al. How many markers are enough? Factors influencing parentage testing in different livestock populations. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 133, n. 1, p. 13–23, 2016.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 2021.

VÄHÄ, J. P.; PRIMMER, C. R. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. **Molecular Ecology**, v. 15, n. 1, p. 63–72, 2006.

VALLEJO, R. L. et al. Assessing Accuracy of Genomic Predictions for Resistance to Infectious Hematopoietic Necrosis Virus With Progeny Testing of Selection Candidates in a Commercial Rainbow Trout Breeding Population. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. November, p. 1–15, 2020.

WANG, J. Triadic IBD coefficients and applications to estimating pairwise relatedness. **Genetical Research**, v. 89, n. 3, p. 135–153, 2007.

WARD, R. D.; JORSTAD, K. E.; MAGUIRE, G. B. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia. **Aquaculture**, v. 219, n. 1–4, p. 169–179, 2003.

WICKHAM, H. et al. **dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 1.0.8**, 2022. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=dplyr>>

YUE, G. H.; ORBAN, L. A simple and affordable method for high-throughput DNA extraction from animal tissues for polymerase chain reaction. **Electrophoresis**, v. 26, n. 16, p. 3081–3083, 2005.

ZHAO, H. et al. EasyParallel: A GUI platform for parallelization of STRUCTURE and NEWHYBRIDS analyses. **PLoS ONE**, v. 15, n. 4, p. 1–7, 2020.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material S1. Spreadsheet with the primer sequences of 95 SNP assays used for kinship assignment in this study.

Primer sequences from 95 SNP assays used for kinship assignment developed by (Liu et al., 2016).								
SNP_NAME	ALLELES	ASP1_NAME	ASP2_NAME	SNP_SEQ	ASP1_SEQ	ASP2_SEQ	LSP_SEQ	STA_SEQ
GTA0076928	G/A	G	A	GTGTTCAAGCTATT GCACGTGTACC[G/A]TGCAGTGTCAACA TTAGGGCAG	GTGTTCAAGCTA TTGCACTGTTAC C	GTGTTCAAGCTA TTGCACTGTTAC T	CTGCCCTAATGTTG ACACTGCA	AGCAGTGAATCA ACAGAGTTGATG
GTA0076929	A/C	A	C	AGTCTTAGCATGCT GCTGGATAATT[A/C]TCAGCCCCGTGTT TAGGCA	AGTCTTAGCATG CTGCTGGATAAT T	GTCCTTAGCATGC TGCTGGATAATG	TGCCTAAACACGG GGTGA	GCCAACAGITAGA TAGCCATCAA
GTA0076931	T/C	T	C	AACCTGCAGGCCA AGACA[T/C]AGCAA GAGGAGTGTGTGG GTT	AACCTGCAGGC CAAGACA	ACCTGCAGGCCA AGACG	AACCCACACACTC CTCTTGCT	TTCCAAGACAAGA TTCAAGACAAACA
GTA0076932	C/T	C	T	CAGACCTCTGATTG AGCTCCG[C/T]ACC AGCTACCATGACA GGCC	CAGACCTCTGAT TGAGCTCCG	CAGACCTCTGAT TGAGTCCA	GGCCTGTGATGGT AGCTGGT	GCCATTCTAAACA TCACTGAGACA
GTA0076933	T/C	T	C	ACCTGCAGAACAA TGCCAT[T/C]GTC CCATCCACCACATT TGGG	ACCTGCAGAAC AATGCCCAT	CCTGCAGAACA ATGCCCAC	CCCAAATGTGGTG GATGGGAC	GTGCTCTGTAGAA AACATGCAGAA
GTA0076934	C/T	C	T	CCAGTCACTAAAA TAGTCCCTCAGTAG [C/T]TCCCCTTCCC ACTCCITCC	CCAGTCACTAA AATAGTCCCTCA GTAG	CCAGTCACTAAA ATAGTCCCTCAG TAA	GGAAGGAGTGGGA AAGGGGA	GCAGCACACTGAC AGTCC
GTA0076936	A/G	A	G	CCAGAGGATGAGT GAAGATCACAA[A/ G]TGTGTACCCCC ACTGTGTGA	CCAGAGGATGA GTGAAGATCAC AA	CCAGAGGATGA GTGAAGATCAC AG	TCACACAGTGGGG GTAACACA	GCTGGGGAATAGC ATAATGCC
GTA0076937	A/G	A	G	CAGCAATGTCAAC TCTGCCAT[A/G]TG TTGTTGTGGATCAG CGCAAC	CAGCAATGTCA ACTTGCCAT	CAGCAATGTCAA CTTGCCAC	GTTGCGGTGATCCA CAACAACA	TGCCGGTTCAGCTA GCA
GTA0076938	A/G	A	G	ACTACATGTGTAA AACAGGTACATGT AGTTT[A/G]TCAAAA AAGCAAATACATC ACACACAAAAAGA GA	ACTACATGTGTA AAACAGGTACA TGATGTTT	CTACATGTGTAA AACAGGTACAT GTAGTTC	TCTCTTTTGTGTG TGATGTATTTGCTT TTTGA	GGTGGTACAATAC TACCTCTGAATG
GTA0076940	C/A	C	A	ACATCAGGCCTTTT ACACAATGAATG[C /A]ACAGTACCTGAT GGTGGGGTTC	ACATCAGGCCTT TTACACAATGA ATG	GACATCAGGCCT TTACACAATGA ATT	GACCCACCATCA GGTACTGT	TCATTTAGAAACTC AGGATTTTGGCT
GTA0076942	A/G	A	G	GGTCTATTTCATAA GCTTCACTCTCAT [A/G]ACAAACCTGA TGGTGTGGCC	GGTCTATTTCATA AAGCTTCACTC TCAT	GGTCTATTTCATA AAGCTTCACTC TCAC	GGCCAACACCATC AGTTTGT	AGTGCCTTTGTCAG TTGATATGG

GTA0076943	C/A	C	A	GACTTATTTGCCCG GTAAGAGAAAAGI C/AJAAGATAATCAA TGTTAATAATGCTA AACTTTTCACACAC A	GACTTATTTGCC CGGTAAGAGAA AAG	GACTTATTTGCC CGGTAAGAGAA AAT	TGTGTGTGAAAAG TTTAGCATTATTTAA CATTGATATCTT	CCTTAGTGTTTGTG CTCCGTTG
GTA0076944	T/C	T	C	CTAAAAGTGTGAA GAATGTTCTTAATA TGCAI/T/CJCCCGGA ATTCTTGCTCAGG	CTAAAAGTGTG AAGAATGTTCTT AATATGCA	AAAAGTGTGAA GAATGTTCTTAA TATGCG	CCTGAGGCAAGAA TTCCGGG	ATGCAGCAATAGG GTGTCAATAC
GTA0076947	T/C	T	C	AATTCAAACACTTC CAACAATCCCA[T/C JAACCTGCAGCCAGA CAACGG	AATTCAAACACT TCCAACAATCCC A	ATTCAAACACTT CCAACAATCCCG	CCGTTGTCTGGCTG CAGTT	ATCGGACCATACA TTTTTCATGAATCT
GTA0076948	T/G	T	G	CCAATCCCTCCCA TACACTT[T/G]ACT GAACTCTGTGGC ATCGA	CCAATCCCTCCC CATACTT	CCAATCCCTCCC CATACTG	TCGATGCCAGCAG AGTTCAGT	CTCTCACTCCCCA CTCTC
GTA0076949	T/C	T	C	TGATTTTGATGAAC ATTTTGAGTTTAAA GTCCT[T/C]AAACA GAGGTATTCATA ACATAGATAACAT AGATATAAT	TGATTTTGATGA ACATTTTGAGTT TAAAGTCTT	GATTTTGATGAA CATTTTGAGTTT AAAGTCCC	ATTATATCTATGTT ATCTATGTTATTGA ATACCTCTGTTT	TGTTGCTACCATGG AATAACCTTG
GTA0076950	G/T	G	T	GCACATGGGTCAG ACTCCATG[G/T]AG GAGGGATCAAAGT CTGTGCA	GCACATGGGTC AGACTCCATG	GCACATGGGTC GACTCCATT	TGCACAGACTTTG ATCCCTCCT	CAGTGCAGTGGC ACA
GTA0076952	T/C	T	C	ATTTACCCTATAGA AAGATAAATAAAT AGGAGAGTA[T/C]T GTAGTTTACCTGCT GGCAGCA	ATTTACCCTATA GAAAGATAAAT AATTAGGAGAG TA	ATTTACCCTATA GAAAGATAAAT AATTAGGAGAG TG	TGCTGCCAGCAGG TAAACTACA	ACCAACAAATGTG AGGAGAAACA
GTA0076955	C/A	C	A	TCCAGACAAGACA TGCTTGCT[C/C/A] AGCTGACCCTAAA GTCTGCAG	TCCAGACAAGA CATGTCTTGCTC	TTCCAGACAAG ACATGTCTTGCT A	CTGCAGGACTTTA GGGTCAGCT	ACGGTTACCTTTTG GAACAACCTTATT
GTA0076956	T/C	T	C	TCCAAAGATCAAG TGACCACAAC[T/ C]T/CACAAGGACTA CATTAAAGATCATT TAACAGTAGG	TCCAAAGATCA AGTACCACAA CTA	CCAAAGATCAA GTGACCACAAC T	CCTACTGTTAAATG ATCTTTAATGTAGT CCTTGTA	ACATGCTGTATGTT TTAGGATCGTT
GTA0076960	A/G	A	G	TGCTGCAGCATGGT AGTGTAT[A/G]TGG ATCTTCTCAGAGTG CCTCTG	TGCTGCAGCATG GTAGTGTAT	TGCTGCAGCATG GTAGTGTAC	CAGAGGCACTCTG AGAAGATCCA	GTTATTCTGATTTT TCAAAGGGTGCT
GTA0076962	A/G	A	G	GCCCTTTTCTTCT TACCGTTTCTACTI A/G]ACAGGGGAAA CACTGCAGACA	GCCCTTTTCTT CTTACCCTTCT	CCCTTTTCTTCT TACCCTTCTAC C	TGCTGCAGTGT CCCCTGT	TTCGAGATTTCTGT CAATTAAGCCC
GTA0076963	A/C	A	C	GCCTTGCTAACAG GTTTCTGCA[A/C]A GTGTGACCTTCGCT GCAGT	GCCTTGCTAAC AGGTTTCTGCA	CCTTGCTAAC GGTTTCTGCA	ACTGCAGCGAAGG TCACACT	ACACAGCTGACAC ACAACAAAA
GTA0076964	G/T	G	T	CTTGTAAGTGTGAG TGAATATTTCCCC [G/T]ACTGTTAACT GAACCTTGTCCCT	CTTGTAAGTGT AGTGAATATTT CCCC	TCTTGTAAGTGT CAGTGAATATTT TCCCA	AGGGACAAGGGT CAGTTAACAGT	CACGGCAGAGAAC TGAAAAGG
GTA0076965	G/A	G	A	TTTGTACGCATTG TATTTGGTACCG[G/ A]TTGTGTTGGCAT CCAATCCATCTC	TTTGTACGCAT TGTATTTGGTAC CG	TTTGTACGCA TTGTATTTGGTA CCA	GAGATGGATTGGA TGCCAACACAA	GCTACGGTAGCAT TGTATTTGTCTA

GTA0076966	T/G	T	G	CCCCTACACTGTA AAGCTATAACATA[T/G]AGAGTGGTCTA AGTGGCCAGG	CCCCTACACTGC TAAAGCTATAAC CATA	CCCCTACACTGC TAAAGCTATAAC ATC	CCTGGCCACTTAG ACCCTCT	CCCAGCTGATTGAT ACCATTCC
GTA0076967	C/T	C	T	GCAACAATAATAT GTATTGACACTAGT GGG[C/T]TTGCCAG AGGTTTTTTCTTG CAGA	GCAACAATAAT ATGTATTGACAC TAGTGGG	GCAACAATAAT ATGTATTGACAC TAGTGGGA	TCTGCAAGAAAA AACCTCTGGCAA	TTGAATCTGCAGC AAACATTTGG
GTA0076968	A/C	A	C	GGAGACCACCTGC TGTCTTTA[A/C]GT AGCCTGTAACGTCT GGCC	GGAGACCACCT GCTGTCTTTA	GGAGACCACCT GCTGTCTTTC	CGCCAGCAGTTAC AGGCTAC	GAGTCTGGACAGG TACTGGA
GTA0076970	G/A	G	A	GCACGATGCTTCTT AATCGTCTC[G/A]A TCCCCTGTGAATG TTTCCC	GCACGATGCTTC TTAATCGTCTC	AGCACGATGCTT CTTAATCGTCTT	GGGAAACATTAC ACGGGGAT	AATTTTCACGGAG GAGGGAGA
GTA0076971	T/C	T	C	AGTCCCCTGCAG CCAAAA[T/C]CACA CTCTCAGTACCCAT GTAGGG	AGTCCCCTGCAG GCCAAAA	GTCCCCTGCAG CCAAAG	CCCTACATGGGTA CTGAGAGTGTG	CAACCCCTCTGGTC TCTGA
GTA0076972	G/A	G	A	ACTGTTGTGAAAA ATACAGATTCAGA AACG[G/A]TCTGCT GAAGCACCAGCGA	ACTGTTGTGAAA AATACAGATTC AGAAACG	ACTGTTGTGAAA AATACAGATTC GAAACA	TCGCGGTGCTTCAG CAGA	TGTGAGAGGTATTT GTAAAAATGAACTG T
GTA0076975	C/T	C	T	GACCAATAACAGA TGCAGTCCAATG[C/ T]TTGGCACCTTGG CACAAITCA	GACCAATAACA GATGCAGTCCA ATG	AGACCAATAAAC AGATGCAGTCCA ATA	TGAATTGTGCAAG GGTGCCAA	CTGCAGTAGAGGT ACCAGGAAA
GTA0076977	G/T	G	T	CAATCCTCAACCC ATAGAAATAGAAT GG[G/T]TCCCCTAG AGATTAGTGTCCCA G	CAATCCTCAACC CATAGAAATAG AATGC	ACAATCCTCAAC CCATAGAAATA GAATGA	CTGGGACACTAAT CTCATGGGGA	GGAGAGAAATCAG GTGTGCA
GTA0076978	A/C	A	C	TGCACGTCCGATA GGGTTTTTTA[A/C]T GGAATTTTTAAGCA TAGAGAAAACTCT CCC	TGCACGTCCGAT AGGGTTTTTTA	GCACGTCCGATA GGGTTTTTTC	GGGAGAGTTTTCTC TATGCTTAAAAATT CCA	CGAGTGTGGCCAG GAATAATT
GTA0076979	A/G	A	G	TGGCAAATCCGTA GGCCT[A/G]ACATG AAGCCTGCAGGAG TACT	TGGCAAATCCG TAGGCCT	GGCAAATCCGT AGGCC	AGTACTCTGCAG GCTTCATGT	CTGGTAGCCTACA CCATCAGT
GTA0076980	A/G	A	G	GAGTAGCGCAGGT TGACCT[A/G]CGGG TCACCACACGTTGT TG	GAGTAGCGCAG GTTGACCT	AGTAGCGCAGG TTGACCC	CAACAACGTGTGG TGACCCG	GACTGCAGACCAT TGGA
GTA0076985	G/A	G	A	CCCCGTTTATCCAC CTCG[G/A]GACAGG CACCTGGTGAAG T	CCCCGTTTATCC ACCTCG	CCCCGTTTATCC ACCTCA	ACTTCCACAGGT GCCTGTC	TCCCTATCTGGTCC ATTGCC
GTA0076986	A/G	A	G	TCTGCCATCAAGCT GCTCA[A/G]TTTAT GCAGAGGTGCGTG CTG	TCTGCCATCAAG CTGCTCA	TCTGCCATCAAG CTGCTCG	CAGCACCGACCTC TGCATAAA	ATGCTGCAGACTTT GCGTT
GTA0076988	T/G	T	G	GCGACGGAGGTAA TTGAGGAAA[T/G]T TTGACGTTTCGTGG AGGGC	GCGACGGAGGT AATTGAGGAAA	GCGACGGAGGT AATTGAGGAAAC	GCCCTCCACGAAA CGTCAAA	CCGAATTACATTTG TTTCCAGGC
GTA0076991	A/G	A	G	GAAGTGTCTGGTA AGTGCCAGAT[A/G] TGCCAGAGTCAG AAGATGGG	GAAGTGTCTGGT AAGTGCCAGAT	AGTGTCTGGTAA GTGCCAGAC	CCCATCTTCTGACT CTGGGCA	GCTTGACACTCATC AAGTGTTTAGG

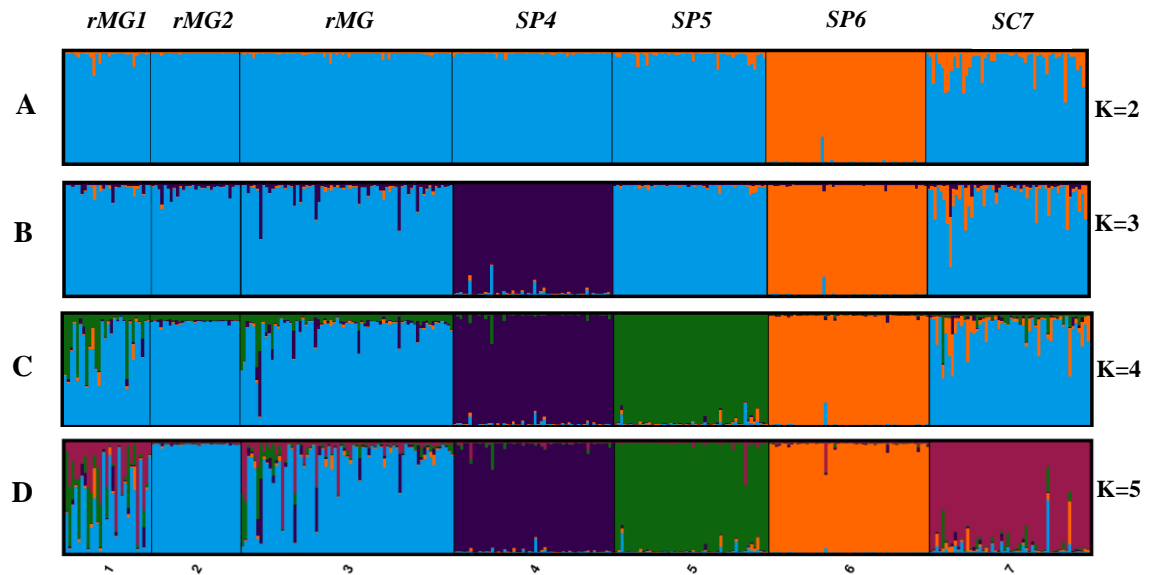
GTA0076992	A/G	A	G	CTGCTGTGTCAGC CTGTCAA[A/G]AGG GAGAGGCTGTGAG TTTCTC	CTGCTGTGTGCA GCCTGTCAA	TGTCTGTGTGTCAG CCTGTGTCAG	GAGAAACTCACAG CCTCTCCCT	TCATCTACAGCTGT GAGTACCTG
GTA0076993	C/T	C	T	TGTTCTCCGACATC CTCGC[C/T]AGCCC GGAGATTGATGG CT	TGTTCTCCGACA TCCTCGC	CTGTTCTCCGAC ATCCTCGT	AGCCATCAAATCT CCGGGCT	GAAAGCACTTCTC CCAATAAATCA
GTA0076995	C/T	C	T	CTGCTGCTGTTCCC CAAATC[C/T]GCCAA GCCCGGGATGTG	CTGCTGCTGTTTC CCCAAATC	CTGCTGCTGTTTC CCCAAATT	CACATCCCGGGCC TTGC	TGCTTGTGATTGAC GCCAAG
GTA0076998	A/T	A	T	AAAACTTCATTCA AACTGCCACATAA[A/T]GTTGGCCAATT GCACGCTGT	AAAACTTCATT CAAACCTGCCAC ATAA	AAAACTTCATT CAAACCTGCCACA TAT	ACAGCGTGCAATT GGCCAAC	CCTGCAGGTTTTAT CAGATCTGTTCT
GTA0076999	G/T	G	T	TTGAGCTGCAGAT ATAGACTGGT[G/T]ACAGCAAGTCAAAA GCCACG	TTGAGCTGCAG ATATAGACTGGT G	CTTGAGCTGCAG ATATAGACTGGT T	CGTGGGCTTTGACT TGCTGT	GCGCAGATATGGT TTCAAGAACATT
GTA0077000	A/T	A	T	CACACATGTTCATG AGAAATTACAAC GAA[A/T]CGGCGTG CTTCGAGTCC	CACACATGTTCA TGAGAAATTAC AACTGAA	CACACATGTTCA TGAGAAATTACA ACTGAT	GGACTCGAAGCAC GCCG	TGGATGTTTCACTC TGCACA
GTA0077007	C/T	C	T	TCCTCTATGTGGCC TGTGAAATG[C/T]A GGTTAGGTGGGCA TTTTCGC	TCCTCTATGTGG CCTGTGAAATG	TCCTCTATGTG GCTGTGAAATA	GCGAAAATGCCCA CCTAACT	GCTGCAGAGGTCC CCT
GTA0077009	A/G	A	G	AGTGACCTTGCCA GCTTGAA[A/G]TGC AGGTTGGTCAACG AGC	AGTGACCTTGCC AGCTTGAA	AGTGACCTTGCC AGCTTGAG	GCTCGTTGACCAA CCTGCA	CCACAGTGAGTCT AGTGTGA
GTA0077010	G/A	G	A	TGTATGTAGCCTGC AGCAGAG[G/A]ATG GCTTTGAGCCAGG AGAGG	TGTATGTAGCCT GCAGCAGAG	TTGTATGTAGCC TGCAGCAGAA	CCTCTCTGGCTCA AAGCCAT	AGCATCTGCCAGT CTGTCT
GTA0077015	G/T	G	T	CATCAGGACACCT GAACAATTC[C/G] TGTAAGGGCAGGG CCATGA	CATCAGGACAC CTGAACAATTC	CATCAGGACACC TGACAATTC	TCATGGCCCTGCC TTACA	CTGTAGGAGTCT ACAGGAGC
GTA0077016	C/T	C	T	TTCATCCTGCAGGG CCC[C/T]GGGAGCA GATGGTGCTGC	TTCATCCTGCAG GGCCC	ATTCATCCTGC AGGGCCT	GCAGCACCATCTG CTCCC	TGAGTTAATGCAG GAGCTGACA
GTA0077017	G/A	G	A	AGTTTAAACACGGTC TCTCATAACG[C/G] TCTTCTGTACAG CAGCCAGA	AGTTTAAACAG GTCTCTACACG C	CAGTTTAAACAG GTCTCTACACG T	TCTGGCTGTGTGA CAAGAAGA	GACGAGCACACAG CAACA
GTA0077019	A/G	A	G	ACATTGATGAGTCT ATGGCCGTTT[A/G] TGGCAAGGCTGCT GCTAC	ACATTGATGAGT CTATGGCCGTTT	ACATTGATGAGT CTATGGCCGTTT	GTAGCAGCAGCCT TGCCA	CACAGTTGATGCA GAGGAGATC
GTA0077020	C/G	C	G	GGAGGATGCAATC ACATTTTCTCC[C/G] CCCTGCAGGATGT CIGTGGT	GGAGGATGCAA TCACATTTTCTC C	GGAGGATGCAA TCACATTTTCTC G	ACCACAGACATCC TGCAGGG	TGAACTCGATCAT GAGTTTAGGAGA
GTA0077021	T/G	T	G	GGCCGTAGTTTCTG CCTTCTT[T/G]CGG GACGCACTGCAGC	GGCCGTAGTTTC TGCCTTCTT	GCCGTAGTTTCT GCCTTCTG	GCTGCAGTGCCT CCG	CTGTGTGTTTGCTT TGATCGAG
GTA0077082	A/G	A	G	CTTTAAAGTTGAAA CCATGATTGCATT CA[A/G]TGGGTGAA CATGTCTGGGCA	CTTTAAAGTTGA AACCATGTATTG CATTCA	CTTTAAAGTTGA AACCATGTATTG CATTCTG	TGCCAGACATGTT CACCCA	CTGTCTACTCTTG AGCGTGG
GTA0077842	C/T	C	T	ACACCTTCACGCA GGAAAGT[C/T]ACA	ACACCTTCACGC AGGAAGTC	ACACCTTCACGC AGGAAGTT	AGCAGCTGGCTGT GGATGT	CCGCCAGGACAC AGTAC

				TCCACAGCCAGCT GCT					
GTA0077843	T/G	T	G	GCAGACGTTGCCA AGTCTTCTAAAT/GJ TCTCTGTCTCCGGC TACTGCT	GCAGACGTTGC CAAGTCTTCTAA	CAGACGTTGCCA AGTCTTCTAC	GCAGTAGCCGGAG ACAGAGA	CTGCAGTATTATGA ATGTGTCTCCA	
GTA0077844	G/T	G	T	CAGACGCGTCTTC AACCAATG/G/TJTC ATGTGGGGCTTTTG TGCA	CAGACGCGTCTT CAACCAATG	CAGACGCGTCTT CAACCAATT	TGCACAAAACGCC CACATGA	GGCGTGCGTAAAC CAGC	
GTA0077845	T/C	T	C	GCTAAGAGTTGCA ATGTTCTGGTT[T/C] TCTCTTAGAGTTAA CGTTGGGTTTCATGT T	GCTAAGAGTTG CAATGTTCTGGT T	GCTAAGAGTTGC AATGTTCTGGTC	AACATGAACCCAA CGTTAACTCTAAG AGA	GGCGGCACACGGC TA	
GTA0077846	C/T	C	T	CCCTAGTGAGACC CATTCTACAG[C/T] JAGATCCCAGGGCC TGTTTCG	CCCTAGTGAGA CCCATTCTACAA G	CCCTAGTGAGAC CCATTCTACAA	CGAACAGGCCCTG GGATCT	GGCACGTTGAATG ATTGGC	
GTA0077847	A/C	A	C	GGTCAGTTGGAG ATTTCCGTTCT[A/C] ATCGCAGGAGCAG CCTGT	GGTCAGTTGGGA GATTTCCGTTCT	GTCAGTTGGAG ATTTCCGGTCG	ACAGGCTGCTCCT GCGAT	CAGCCAGGCCATG GG	
GTA0077848	C/T	C	T	TCTATTGGCCCTG TCTCAGT[C/T]AG TGGATGACAGCAT GCTGC	TCTATTGGCCC TGTTCTCAGTG	GTATCTATTGG CCCTGTCTCAGT A	GCAGCATGCTGTC ATCCACT	GCCCAATATCCTTA GAAACATGTA	
GTA0077850	A/C	A	C	GTGAGTCCCATGGT GTCGAT[A/C]TTGG GCGCGTCCCTTC	GTGAGTCCCATG GTGTCGAT	GTGAGTCCCATG GTGTCGAG	GAAAGGACCCGCG CCAA	GTACCATTTCTCCA GTTTCTGGAAG	
GTA0077851	G/A	G	A	TGGTTTCAGTGGTGA TGGCTAC[G/A]AAA GACTAACATGCAG CAAAATAACTGCA	TGGTTTCAGTGGT GATGGCTAC	ATGGTTTCAGTGG TGATGGCTAT	TGCAGTTATTTTG TGATGTTAGTCTT T	GGAGCATCATTAA TCAACATTAACCA C	
GTA0077852	A/G	A	G	CCAGCCCAGTCTA AGCCAT[A/G]GCTG CAGGCAGAAGGTC TG	CCAGCCCAGTCT AAGCCAT	CCAGCCCAGTCT AAGCCAC	CAGACCTTTCGCT GCAGC	CCTCAGAGTCTCTT TGAGAAGCA	
GTA0077853	C/A	C	A	GCAGAGACACACT TGGGTCC[C/A]JGGT GCTGCAGGGTTTGT GTT	GCAGAGACACA CTTGGGTCC	GCAGAGACACA CTTGGGTCA	AACACAAACCTG CAGCACC	TGTCTCCATCTTTG TTGACCGA	
GTA0077854	A/G	A	G	GAATGCTAAACGG GACACTTCAT[A/G] TGTTTGACAGAAAT GGAGGGCC	GAATGCTAAAC GGGACACTTCAT	GAATGCTAAAC GGGACACTTCAC	GGCCCTCATTTCT GTCAAACA	TCACACTGACCTGC AGGA	
GTA0077855	A/C	A	C	AGGAGTTGCGTAA GCCACAT[A/C]CTC GGCACCATCATCG ACAGA	AGGAGTTGCGT AAGCCACAT	AGGAGTTGCGTA AGCCACAG	TCTGTGATGATGG TGCCGAG	GCATAGCGATACT CTAAAATTCCTGC	
GTA0077857	C/T	C	T	CACACCCACTTTGA GCCG[C/T]AAGGGC TTGAACGACCCAG T	CACACCCACTTT GAGCCG	ACACACCCACTT TGAGCCA	ACTGGGTGCTTCA AGCCCTT	GTGCACGAATAGA GAGTTTACACA	
GTA0077859	A/G	A	G	CAATTTAATGAGA GACATTGTGCCTTG TA[A/G]ACAAACAG TGAGCTGCAGCTG	CAATTTAATGAG AGACATTGTGCC TTGTA	ATTTAATGAGAG ACATTGTGCCTT GTG	CAGTGCAGCTCA CTGTTTGT	CCTGCATATGGA AAAACGTATCT	
GTA0077860	G/C	G	C	GTAAAACCGTCCG CAGAAAGTAAAC[G /C]TGGTCTTGGAG CCAGA	GTAAAACCGTC CGCAGAAAGTA AAC	GTAAAACCGTCC GCAGAAAGTAA AG	TCTGGGTCTCCAAG CAGCA	TGATGTATTACAGC TCTAAGAAGGGT	

GTA0077862	G/C	G	C	AGAACATCTCTGA ACCAACACAGG[G/ C]CAGATAGAGGCA CCAGCAAAGG	AGAACATCTCTG AACCAACACAG G	GAACATCTCTGA ACCAACACACAGC	CCTTTGCTGGTGCC TCTATCTG	ACAGAACCGGCTG AGACC
GTA0077863	A/G	A	G	ACCTGACCCAATT ATTGGTCCTTT[A/G]TCTGTGGTTACCG GCGGC	ACCTGACCCAAT TATTGGTCCTTT	ACCTGACCCAAT TATTGGTCCTTC	GCCGCCGGTAACC ACAGA	GAAACATTTCAC CCTGTTTTCA
GTA0077864	A/G	A	G	TGTTGCCAGCCACC ACAATA[A/G]AAAC CATGTTGCCGGTGG TG	TGTTGCCAGCCA CCACAATA	GTTGCCAGCCAC CACAATG	CACCACCGGCAAC ATGGTTT	AGATCTCCACGTCC AGGC
GTA0077866	A/G	A	G	CTCCAGCCTGTGGC AGA[A/G]GGTCCGG ATGTGGCCC	CTCCAGCCTGTG GCAGA	TCCAGCCTGTGG CAGG	GGGCCACATCCGG ACC	GTCATGAAAAGTG GTGACCCTT
GTA0106754	A/C	A	C	TGCGTTAAGACGTT AACTTTGACAGA[A /C]TATCCACACAGC GGCCA	TGCGTTAAGAC GTTAACTTTGAC AGA	GCGTTAAGACGT TAACTTTGACAG C	TGGGCCGCTGTGT GGATA	AGAAATGGAGATG TGATTAATGCGT
GTA0106755	C/T	C	T	CCAAACAGGGAAG TGAACAAAAGC[C/ T]TCCCATGAAGAG CTAAATACACATA CTTAGTC	CCAAACAGGGA AGTGAACAAAA GC	CCAAACAGGGA AGTGAACAAAA GT	GACTAAGTATGTG TATTTAGCTCTCA TGGGA	GGAGAAAGTGATG CATCAGTAACC
GTA0106762	T/C	T	C	CGTGCAAAAACACT TTTACGTATCCA[T/ C]TGGTTTTCTTGT TCCAGATAAAAGC AGATATC	CGTGCAAAAACA CTTTTACGTATC CA	CGTGCAAAAACA CTTTTACGTATC CG	GATATCTGCTTTTA TCTGGAACAAGAA AAACCA	TGTGTTAGACCACC CTGCA
GTA0106764	A/C	A	C	CCCCAAAGTCTCTG CAGAATTA AAA[A/ C]TGTGAAGATGC AGCCACAG	CCCCAAAGTCTC GCAGAATTA AAA A	CCCCAAAGTCTC GCAGAATTA AAA C	CTGTGGCTGCATCT TCAGCA	AGCCACACATGGT ATATTTGGC
GTA0106765	G/T	G	T	GTTTCAGGTAACAC GCACATACATTTAC [G/T]ATTTCATTAAC AATATATGCTAACT TATAAATGCCTCAT GT	GTTTCAGGTAAC ACGCACATACA TTTAC	GTTTCAGGTAACA CGCACATACATT TAA	ACATGAGGCATTT ATAAGTTAGCATA TATTGTTAATGAAT	CCTACACCAAGGT AGAACAACCTGT
GTA0106768	G/T	G	T	TGACCTGTAGGAG ATATTATCACAAG AAATG[G/T]TTAGT TACTCTGTAGACTC TATAGCTTTTTCTT CCT	TGACCTGTAGG AGATATTATCAC AAGAAATG	TGACCTGTAGGA GATATTATCACA AGAAATT	AGGAAGAAAAAGC TATAGAGTCTACA GAGTAACTAA	AGGACAGGATCTC TGTAATGT
GTA0106769	C/A	C	A	TGATGTTTGGATC CAAGACCAATTTTC [C/A]TCCCAAAAA TACATTTACATGAG ATACCTGA	TGATGTTTGGAG TCCAAGACCAA TTTTC	GTTGATGTTTGA GATCCAAGACC AATTTTA	TCAGGTATCTCATG TAAATGTATTTGT GGGA	GTGAGATTGGTATT GATCCTGTGTT
GTA0106770	T/G	T	G	CAAGCAGTCCATTT CAATGGCT[T/G]GC AAAACGCATCGGT GAGGT	CAAGCAGTCCA TTTCAATGGCT	AAGCAGTCCATT TCAATGGCG	ACCTCACCAGTGC GTTTTGC	CTGCACTGTCAATA TGCCAGTA
GTA0106776	C/T	C	T	CCTCACACGATAG GAACGTATTTC[C/ T]TGAATCTCGGTC CCAAAACCCA	CCTCACACGATA GGAACGTATTTC C	CCTCACACGATA GGAACGTATTTC T	TGGGTTTTGGGACC GAGATTCA	GAGGCCAGACATC ACGTTT
GTA0106778	A/C	A	C	TGTTTTCATCCCTT TTTATTGGGAATGA TTA[A/C]AGGCATG CATCAATGTCAGTG G	TGTTTTCATCCC TTTTTATTGGGA ATGATTA	GTTTTTATCCCT TTTTTATTGGGAA TGATT	CCACTGACATTGAT GCATGCCT	TCCATCATGACCTG AAGACCTT

GTA0106779	C/A	C	A	GATGTTGAGTACC AGACCTGTAAATG[C/A]TTGAAGTTGG ACCTCCCCTGT	GATGTTGAGTAC CAGACCTGTAA ATG	CGATGTTGAGTA CCAGACCTGTAA ATT	ACAGGGGAGGTCC AAACTCAA	CCTTCAAGTGAAC ACATGGACG
GTA0106780	A/C	A	C	CTGCAGTGACGCT GAAATTGTTT[A/C] AGGCTCTCGCGCTC ACT	CTGCAGTGACGT CTGAAATTGTTT	TGCAGTGACGTC TGAAATTGTTG	AGTGAGCGCGAGA GCCT	GCATATGGCGGGT GTTCT
GTA0106783	G/T	G	T	AGTGTGGGAGGTT TTTCATATCTGATC[G/T]CAGGCCAGTGT GGGCTGTC	AGTGTGGGAGG TTTTTCATATCT GATC	AGTGTGGGAGG TTTTTCATATCT GATA	GACAGCCCACACT GCCTG	CAACTTTACCATGG GTGACAGA
GTA0107047	C/G	C	G	ACAGGATCGGTAC ATGTGGTC[C/G]TC CTGTCTCCGCTTA GGCG	ACAGGATCGGT ACATGTGGTC	ACAGGATCGGT ACATGTGGTG	CGCCTAAGACGGA GACAGGA	GTTCAGATGTAAC ACACCTGCA
GTA0107048	G/T	G	T	CCTCTGGGGTAAA CAAAACAGATG[G/ T]TACTGCACAGCC CATTTGTACAG	CCTCTGGGGTAA ACAAAACAGAT G	ACCTCTGGGGTA AACAAAACAGA TT	CTGTACAAAATGG GCTGTGCAGTA	CAGTTGCAGGTCT GATTTAGTCA
GTA0107050	C/T	C	T	CGGAGGCCATCTT GTCAT[C/T]TGG GTTCAGGTCAGTTA GAGGG	CGGAGGCCATC TTGTCCATC	CGGAGGCCATCT TGTCATT	CCCTCTAACTGACC TGAACCCA	CTGGGACGCCGTG GA
GTA0107052	A/G	A	G	GTTTGAACCCACAT GTGTGATG[A/G]T TCAATCTTCCAGGG TCCTGCA	GTTTGAACCCAC ATGTGTGATGT	TTTGAACCCACA TGTTGTGATGC	TGCAGGACCCTGG AAGATTGAA	CTGGCAGACTCAA TCAAACAAATC
GTA0107053	A/C	A	C	GATAATACCCACA TACGAACAGAAATG AAAA[A/C]ATGTGG TTGCTCAGCCTCGT	GATAATACCCA CATACGAACAG AATGAAAA	GATAATACCCAC ATACGAACAGA ATGAAAC	ACGAGGCTGAGCA ACCACAT	CCAACATATCCAC CATACCAATTCT
GTA0107058	C/T	C	T	CTTTATAAAGTATT TCAGAGAACACTG GACG[C/T]GGGCTA TCATGCCATGCTGC	CTTTATAAAGTA TTTCAGAGAAC ACTGGACG	TCTTTATAAAGT ATTTTCAGAGAAC ACTGGACA	GCAGCATGGCATG ATAGCCC	ACAGGTTGGATCA CAAGAAGC

Supplementary material S2 - Structure plots for K 2 to 5 for all analyzed rainbow trout strains (rMG1, rMG2, rMG3, SP4, SP5, SP6, and SC7). Each animal is represented by a vertical line divided into K clusters, where the color length represents the estimated proportion of membership in a given cluster. Black lines separate the populations.



Supplementary material S3 - The table with the individual inbreeding coefficients for all animals. Data obtained with the program Coancestry v1.0.1.10 (Wang, 2011).

Supplementary Material S3													
The table with the Individual Heterozygosity (IH) coefficients of all animals													
Farm A_rMG1		Farm A_rMG2		Farm A_rMG3		Farm B_SP4		Farm B_SP5		Farm B_SP6		Farm C_SC7	
Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH
1	0.417	29	0.588	58	0.529	127	0.354	179	0.238	229	0.372	281	0.390
2	0.381	30	0.529	59	0.459	128	0.415	180	0.268	230	0.416	282	0.366
3	0.412	31	0.392	60	0.353	129	0.284	181	0.390	231	0.321	283	0.390
4	0.459	32	0.400	61	0.494	130	0.317	182	0.390	232	0.372	284	0.354
5	0.429	33	0.376	62	0.548	131	0.317	183	0.256	233	0.346	285	0.500
6	0.506	34	0.447	63	0.429	132	0.329	184	0.366	234	0.397	286	0.370
7	0.424	35	0.400	64	0.388	133	0.268	185	0.280	235	0.351	287	0.402
8	0.365	36	0.468	65	0.494	134	0.333	186	0.293	236	0.397	288	0.329
9	0.381	37	0.430	66	0.329	135	0.321	187	0.427	237	0.218	289	0.531
10	0.459	38	0.440	67	0.353	136	0.293	188	0.296	238	0.372	290	0.488
11	0.447	39	0.518	68	0.447	137	0.341	189	0.415	239	0.423	291	0.402
12	0.412	40	0.482	69	0.512	138	0.420	190	0.329	240	0.321	292	0.390
13	0.418	41	0.400	70	0.476	139	0.329	191	0.366	241	0.329	293	0.341
14	0.304	42	0.435	71	0.423	140	0.220	192	0.366	242	0.282	294	0.476
15	0.410	43	0.386	72	0.388	141	0.378	193	0.293	243	0.282	295	0.427
16	0.392	44	0.400	73	0.447	142	0.296	194	0.415	244	0.436	296	0.378
17	0.291	45	0.482	74	0.458	143	0.402	195	0.296	245	0.351	297	0.415

Farm A_rMG1		Farm A_rMG2		Farm A_rMG3		Farm B_SP4		Farm B_SP5		Farm B_SP6		Farm C_SC7	
Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH	Animal	IH
18	0.410	46	0.341	75	0.471	144	0.325	196	0.346	246	0.333	298	0.354
19	0.321	47	0.376	76	0.482	145	0.354	197	0.354	247	0.493	299	0.329
20	0.595	48	0.447	77	0.571	146	0.366	198	0.309	248	0.437	300	0.415
21	0.435	49	0.529	78	0.518	147	0.390	199	0.346	249	0.366	301	0.415
22	0.518	50	0.447	79	0.412	148	0.341	200	0.309	250	0.352	302	0.317
23	0.518	51	0.553	80	0.541	149	0.317	201	0.288	251	0.451	303	0.354
24	0.341	52	0.482	81	0.459	150	0.354	202	0.268	252	0.296	304	0.390
25	0.424	53	0.367	82	0.481	151	0.354	203	0.293	253	0.380	305	0.488
26	0.462	54	0.468	83	0.462	152	0.370	204	0.358	254	0.443	306	0.378
27	0.405	55	0.405	84	0.329	153	0.451	205	0.346	255	0.366	307	0.366
28	0.405	56	0.329	85	0.494	154	0.366	206	0.378	256	0.529	308	0.354
		57	0.397	86	0.418	155	0.407	207	0.341	257	0.451	309	0.346
				87	0.506	156	0.439	208	0.395	258	0.352	310	0.346
				88	0.447	157	0.321	209	0.220	259	0.324	311	0.439
				89	0.459	158	0.321	210	0.268	260	0.437	312	0.280
				90	0.624	159	0.305	211	0.280	261	0.371	313	0.378
				91	0.518	160	0.317	212	0.280	262	0.333	314	0.451
				92	0.482	161	0.439	213	0.309	263	0.394	315	0.329
				93	0.588	162	0.329	214	0.305	264	0.429	316	0.378
				94	0.435	163	0.341	215	0.366	265	0.329	317	0.280
				95	0.435	164	0.341	216	0.415	266	0.380	318	0.354
				96	0.482	165	0.341	217	0.378	267	0.338	319	0.463
				97	0.541	166	0.309	218	0.313	268	0.408	320	0.354
				98	0.342	167	0.427	219	0.338	269	0.377	321	0.402
				99	0.354	168	0.354	220	0.364	270	0.457	322	0.366

CAPÍTULO 3
CONSIDERAÇÕES FINAIS

3.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A truta-arco-íris no Brasil corresponde a uma espécie cujo cultivo é regionalizado, devido às características de que necessita para crescimento e reprodução, como localidades de altitude, com água limpa e oxigenada e temperaturas mais baixas. Embora a produção se restrinja às áreas frias de montanha, o consumo da truta-arco-íris é apreciado em todo o país, sendo comercializada na forma de filés refrigerados e defumados.

Decorridos mais de 70 anos desde a primeira introdução no país, com inúmeras outras reintroduções realizadas ao longo dos anos, pouco se sabia a respeito da estruturação populacional das trutas cultivadas no Brasil. Este trabalho correspondeu à primeira investigação que fez uso de marcadores SNPs para avaliar a estrutura e diversidade genética de linhagens de truta arco-íris cultivadas no Brasil.

Identificamos que a maioria das populações de truta analisadas nesse estudo apresentaram valores altos de heterozigosidade observada e que 17% da variação genética se deve à diferenciação genética entre as populações. Esse nível de diferença entre as populações, pode ser explicado pelo histórico de diferentes importações de germoplasma provenientes de vários países.

As técnicas de manejo empregadas pelos produtores têm apresentado relativa eficiência, visto que para a maioria das populações as estimativas de parentesco aparecem baixas, contudo, o uso de uma ferramenta de genotipagem pode ajudar a diminuir as perdas relacionadas à consaguinidade e auxiliar no manejo reprodutivo do plantel ao direcionar os acasalamentos entre os animais menos aparentados.

A estrutura genética das populações analisadas apontam para a existência de duas linhagens ancestrais, dentre elas, uma tem origem no Monte Shasta na Califórnia, um outro conjunto é derivado de trutas-arco-íris nativas da cidade de Kamloops no Canadá. O conjunto de marcadores SNPs utilizados nesse trabalho foi eficiente em determinar o nível de parentesco com acurácia.

Por fim, concluímos que o conjunto de 95 marcadores SNPs utilizados nesse estudo corresponde a uma ferramenta de genotipagem acurada e que pode ser aplicada com resultados satisfatórios para o estudo e gestão das trutas-arco-íris cultivadas no Brasil.