

NOUCATE DO GENE SLC45A2 POR CRISPR/CAS9 CONFERE DIFERENTES PADRÕES DE PIGMENTAÇÃO NO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

Thallyson Ferreira Rufino (Centro Universitário – UNITOP)

Ana Babi de Moura Landim (Centro Universitário – UNITOP)

Ana Paula Oeda Rodrigues (Embrapa Pesca e Aquicultura)

Geice Ribeiro Silva (Embrapa Pesca e Aquicultura)

Adria Silva Gomes (Programa de Pós Graduação em Ciência Animal e Recursos
Pesqueiros-PPGCARP/UFAM)

Thaís de Oliveira Costa Fernandes (Embrapa Pesca e Aquicultura)

Pollyana Alves Araujo (Embrapa Pesca e Aquicultura)

Carlos Eduardo Martins Sena (Unicatólica – Centro Universitário Católica do
Tocantins)

Carolinne Siriano Sales (Unicatólica – Centro Universitário Católica do Tocantins)

Enzo Assunção Freitas Carneiro (Unicatólica – Centro Universitário Católica do
Tocantins)

Eduardo Alves de Paula (Unicatólica – Centro Universitário Católica do Tocantins)

Fernanda L. Almeida O’Sullivan (Embrapa Pesca e Aquicultura)

Eduardo Sousa Varela (Embrapa Pesca e Aquicultura)

O tambaqui *Colossoma macropomum* é a espécie nativa de maior importância para a aquicultura brasileira, porém seu potencial produtivo permanece subexplorado, abrindo oportunidade para o desenvolvimento de tecnologias avançadas. A edição genômica (EG) permite modificar genes de forma precisa, definitiva e herdável, e por isso tem sido amplamente empregada nas ciências agrícolas. Para estabelecer a EG no tambaqui, buscamos um fenótipo de fácil e precoce visualização, passível de ser identificado nos primeiros dias pós-eclosão. Entre os genes associados à pigmentação, o *slc45a2* está diretamente relacionado ao albinismo em peixes, caracterizado pela ausência ou redução de melanina. Esse fenótipo é de fácil identificação e pode atuar como marcador (“reporter”) em co-edições gênicas, facilitando a triagem de mutações em outros genes de interesse aquícola. Nosso objetivo foi avaliar os diferentes padrões de pigmentação em tambaquis gerados pelo nocaute (KO) do *slc45a2*. Os indivíduos foram divididos em: peixes editados por CRISPR/Cas9 (*slc45a2*^{-/-}) e peixes não editados (controle, *slc45a2*^{+/+}), e foram fotografados. A amostragem incluiu registros bilaterais (esquerdo e direito) dos peixes, totalizando 254 observações por grupo. As imagens foram processadas em ambiente computacional (R software), aplicando-se o algoritmo k-means (k = 2) aos pixels com base nos canais de saturação (S) e brilho (V), de modo a segmentar cada imagem em áreas claras e escuras. O efeito da EG sobre o percentual de manchas claras foi testado pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, com ajuste de p-value (p < 5%) pelo método de Benjamini-Hochberg. Os animais *slc45a2*^{-/-} exibiram proporções significativamente diferenciadas de manchas claras e escuras (58,6 ± 8,5% e 41,4 ± 8,5 %, respectivamente) em comparação ao grupo controle (53,9 ± 8,4% e 46,2 ± 8,4%, respectivamente; W=2215,5; p-ajustada=0,00134). O algoritmo k-means (aplicado aos canais de saturação e brilho) segmentou os pixels em dois clusters bem definidos. Os centróides calculados evidenciam essa distinção: do Cluster 1 (KO) situou-se em (S = 0,08; V = 0,85) e o do Cluster 2 (controle) em (S = 0,20; V = 0,65). A

densidade de pixels dentro de cada cluster apresentou baixa sobreposição, atestando a consistência interna de cada grupo. Esses resultados confirmam o efeito esperado do *slc45a2* KO em tambaqui, promovendo deslocamento uniforme do fenótipo escuro para claro, ou seja, sua inativação por CRISPR/Cas9 aumenta a área de pigmentação clara e reduz a escura. Além disso, a técnica representa uma ferramenta rápida e reprodutível para triagem fenotípica em estudos de EG aplicadas à aquicultura.