

## IDENTIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MARCADORES HOUSEKEEPING TECIDO-ESPECÍFICOS PARA O CAMARÃO-DA-AMAZÔNIA *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862)

**Gabriel Monteiro de Lima** (Universidade Federal do Pará)  
**Mônica Andressa Leite Rodrigues** (Universidade Federal do Pará)  
**Rômulo Veiga Paixão** (EMBRAPA Pesca e Aquicultura-Palmas (TO))  
**Janieli do Socorro Amorim da Luz Sousa** (Universidade Federal do Pará) **Carlos  
Murilo Tenório Maciel** (Universidade Federal do Pará)  
**Mykauana Alves Vila Nova** (EMBRAPA Pesca e Aquicultura-Palmas (TO);  
Universidade Federal do Tocantins)  
**Eduardo Sousa Varela** (EMBRAPA Pesca e Aquicultura-Palmas (TO))  
**Cristiana Ramalho Maciel** (Universidade Federal do Pará)

O camarão-da-amazônia *Macrobrachium amazonicum* é uma espécie amplamente distribuída nas principais bacias hidrográficas da América do Sul, com grande importância socioeconômica e potencial para a carcinicultura de água doce. Por essa razão, tem sido alvo de diversos estudos, sendo atualmente a terceira espécie mais investigada do gênero. A genômica funcional tem se destacado como uma área em expansão, envolvendo o uso de dados transcriptômicos para compreender vias gênicas e a atividade de genes sob diferentes condições. Nesse contexto, a PCR em tempo real ou PCR qualitativa (qPCR ou RT-qPCR) representa uma ferramenta essencial para avaliar a expressão gênica relativa, exigindo, para isso, o uso de genes de referência ou housekeeping devidamente validados. Para *M. amazonicum*, no entanto, ainda não existem genes de referência validados disponíveis. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo identificar e validar genes housekeeping específicos para essa espécie, além de avaliar seu desempenho em diferentes tecidos. A identificação foi realizada com base em dados de transcriptomas do hepatopâncreas de *M. amazonicum*, gerados na plataforma Illumina HiSeq 2500. As sequências obtidas foram confirmadas por meio da análise de regiões conservadas e alinhamentos com espécies filogeneticamente próximas. Em seguida, foram desenhados iniciadores específicos para cada gene, os quais foram testados em tecidos distintos: músculo, hepatopâncreas, brânquias, testículos, glândula androgênica e ovário. Após a realização dos ensaios de RT-qPCR, a estabilidade dos genes foi avaliada com a ferramenta RefFinder, e as análises estatísticas foram conduzidas no RStudio v.4.3.2. Foram identificados sete genes candidatos a housekeeping: Eukaryotic Translation Initiation Factor (EIF), 18S ribossomal RNA (18S), Ribossomal Protein L18 (RPL18),  $\beta$ -actin,  $\alpha$ -tubulin, Elongation Factor 1- $\alpha$  (EF-1 $\alpha$ ) e Gliceraldehide-3-phosphate Dehydrogenase (GAPDH). As sequências apresentaram elevada similaridade com genes de outros decápodes. Os ensaios de RT-qPCR com pool de amostras evidenciaram eficiências de amplificação entre 92,1% e 100,7%, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) entre 0,98 e 0,99. Os resultados demonstraram que diferentes genes

se comportam de maneira mais estável em tecidos específicos, além de determinar genes que respondem melhor em estudos avaliação de múltiplos tecidos. Notavelmente, genes tradicionalmente usados, como  $\beta$ -actin e GAPDH, não foram os mais estáveis, reforçando a necessidade de validação prévia de genes de referência para cada espécie e tipo de tecido analisado.