

## AValiação DA VERSATILIDADE DE UM MÉTODo DE EXTRAÇÃO DE NÚCLEOS EM PEIXES AMAZÔNICOS PARA APLICAÇÃO EM ESTUDOS GENÔMICOS DE CÉLULA ÚNICA (SNRNASEQ)

**Luiz Fagner Ferreira Nogueira** (Embrapa Pesca e Aquicultura)  
**Janaína Sayuri Imafuku Valandro** (Centro de Aquicultura da UNESP)  
**Mykauana Alves Vila Nova** (Universidade Federal de Tocantins)  
**Kércia Sabino de Macêdo Valadares** (Universidade Federal de Tocantins)  
**André Silvério Pereira** (Bionorte - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da  
Amazônia Legal)  
**Lucas Simon Torati** (Embrapa Pesca e Aquicultura)  
**Eduardo Sousa Varela** (Embrapa Pesca e Aquicultura)

A aplicação de técnicas de transcriptômica de núcleo único (snRNA-seq) em espécies aquícolas tropicais depende da obtenção de núcleos íntegros e em quantidades adequadas a partir de diferentes tecidos. Este estudo avaliou a eficiência de um protocolo de extração de núcleos adaptado de modelos de salmão atlântico para três espécies amazônicas de importância zootécnica – *Arapaima gigas*, *Colossoma macropomum* e *Brycon amazonicus* – utilizando fígado (F), trato gastrointestinal (TGI) e rim cranial (RC) como matrizes biológicas. Os objetivos foram comparar o rendimento nuclear entre espécies e tecidos e identificar as combinações mais promissoras para futuras aplicações em snRNA-seq. Amostras (~60 mg) de cada tecido foram processadas em triplicata, por maceração controlada em gelo, filtração seriada (40 µm) e centrifugação suave. A quantificação e avaliação da integridade nuclear foram realizadas no equipamento Countess 3 FL (Thermo Fisher), com uso de marcadores fluorescentes GFP e RFP para discriminação da viabilidade e análises estatísticas por ANOVA de dois fatores (espécie × tecido). Os resultados indicaram diferenças significativas ( $p < 0,0001$ ) na densidade de núcleos/mg entre tecidos e espécies. No *A. gigas*, o RC apresentou o maior rendimento médio (89.500 núcleos/mg  $\pm 18.379$ ), superando F e TGI. Em *C. macropomum*, o TGI destacou-se (43.800 núcleos/mg  $\pm 13.000$ ), enquanto em *B. amazonicus* apresentou maior média de rendimento no F (69.500 núcleos/mg  $\pm 7117$ ). A análise indicou efeito significativo do tecido ( $p = 0,0042$ ) e interação altamente significativa entre espécie e tecido ( $p < 0,0001$ ), evidenciando que o rendimento nuclear não depende apenas do tipo de tecido, mas da sua associação com a espécie analisada. Além disso, todas as extrações apresentaram viabilidade nuclear superior a 95%, com predominância de núcleos RFP+ e baixa predominância de núcleos degradados (GFP+ ou GFP+RFP). Os núcleos extraídos exibiram diâmetro entre 6 e 16 µm e circularidade acima de 65%, parâmetros que se mantiveram consistentes entre espécies e tecidos. Concluímos que a padronização de protocolos de extração de núcleos em peixes amazônicos é viável e revela variações espécie-tecido que devem orientar a escolha da matriz para análises transcriptômicas de alta resolução. Esses resultados, ainda preliminares, representam um passo estratégico na aplicação de tecnologias ômicas em espécies nativas de relevância para a aquicultura continental.