

Varredura do genoma de Pirarucu (*Arapaima gigas*) para prospecção de marcadores moleculares sexo-específicos

Almeida, IG^{1,3}; Ianella, P^{2,3}; Paiva, SR³; Faria, MT⁴; Caetano, AR³

¹Bolsista CNPq – CAPES - Pós Graduação em Ciências Animais, Universidade de Brasília

²Bolsista PNPd-CAPES

³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília/DF

⁴Embrapa Amazônia Oriental.

sussisgarcia@yahoo.com.br

Palavras-chave: Pirarucu, marcador sexo-específico, RAPD-PCR.

O Pirarucu (*Arapaima gigas*), é um dos maiores peixes da Bacia Amazônica (atingindo até três metros de comprimento e 200Kg) e apresenta características muito interessantes para o desenvolvimento da piscicultura da espécie: grande rusticidade, elevada taxa de crescimento, elevado rendimento da carcaça, carne desprovida de espinhos e com ótimas qualidades organolépticas, entre outras. A espécie apresenta um comportamento reprodutivo natural em que macho e fêmea formam casais e portanto para se obter um bom manejo nos tanques de acasalamento, é necessário adicionar uma quantidade equivalente de machos e fêmeas, reduzindo o estresse entre os animais. A espécie não apresenta dimorfismo sexual ou cromossômico que permitam a distinção visual ou por cariotipagem de machos e fêmeas. Atualmente, a sexagem de animais vivos só é possível na fase reprodutiva com o uso da ultrassonografia. A impossibilidade de se determinar visualmente o sexo dos animais pré-púberes é um dos grandes obstáculos para o desenvolvimento da piscicultura do pirarucu, pois não permite o manejo adequado de animais destinados a reprodução. Com base na hipótese de que esta espécie possui um sistema de determinação sexual cromossômico, o objetivo desse trabalho foi realizar uma varredura do genoma desta espécie utilizando a metodologia BSA (*Bulk Segregant Analysis*) com marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). A identificação de seqüências sexo-específicas que permitam o desenvolvimento de um ensaio molecular para sexagem de peixes pré-púberes permitirá o desenvolvimento de métodos inovadores de manejo de reprodutores. Amostras de sangue coletadas de peixes pescados e sexados no município de Santarém-PA foram processadas e tiveram DNA extraído utilizando-se protocolo adaptado do kit de extração de DNA - RBC Bioamérica. A quantificação e avaliação da qualidade do DNA foram realizadas em espectrofotômetro tipo Nanodrop. Quantidades idênticas de DNA de indivíduos machos e fêmeas foram misturadas para se constituir dois *pools* de DNA de ambos os sexos. Um total de 600 primers RAPD (Operon®) foram testados em duplicata nos *pools* de macho e fêmea por meio da reação de RAPD-PCR. O resultado das amplificações foi observado em eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Dos 600 primers testados, apenas três apresentaram banda específica em um dos *pools*, entretanto após repetir-se a RAPD-PCR com o mesmo primer e com DNA de cada indivíduo componente do *pool*, foi possível confirmar que tratava-se de uma seqüência indivíduo-específica, não se mantendo o padrão sexo-específico. Com base nos dados obtidos não foi possível encontrar, até o momento, uma seqüência sexo-específica para a espécie. Um conjunto adicional de 400 primers RAPD ainda será testado para finalização do experimento e outras metodologias alternativas estão sendo avaliadas para prospectar seqüências sexo-específicas no genoma desta espécie de alto potencial para piscicultura. Apoio Financeiro: Embrapa e CNPq