# SEXAGEM MOLECULAR EM AVES DO GÊNERO *Agapornis* ATRAVÉS DE EXTRAÇÃO DE DNA DE PENAS

Lucas Farias Rodrigues1, Rayssa Piton Rijo Costa2, Thaina Arruda de Carvalho3, Lauany Liara Tavares da Silva3, Herbert Patric Kellermann Cleveland4, Thiago Rodrigues Da Silva5, Carlos Alberto do Nascimento Ramos6

1Aluno do Curso de Zootecnia da FAMEZ/UFMS. Bolsista PET. E-mail: [lucasfrs.rodrigues@gmail.com](mailto:lucasfrs.rodrigues@gmail.com)

2Aluna do Curso de Zootecnia da FAMEZ/UFMS. Bolsista PET. E-mail: rayssaprcosta@gmail.com

3Aluna do Curso de Zootecnia da FAMEZ/UFMS. E-mail: thaina.carvalho15@hotmail.com

4Laboratório de Biologia Molecular FAMEZ/UFMS. E-mail: [herbert.cleveland@ufms.br](mailto:herbert.cleveland@ufms.br)

5 Doutorando em Ciência Animal FAMEZ/UFMS. E-mail: [thiagoth\_rodrigues@hotmail.com](mailto:thiagoth_rodrigues@hotmail.com)

6Professor da FAMEZ/UFMS. E-mail: carlos.nascimento@ufms.br

**Resumo:** O mercado de aves exóticas para ornamentação tem crescido e nesse meio o gênero de aves *Agapornis* destaca-se por serem aves coloridas*,* de fácil domesticação e possuírem a capacidade de imitar ruídos humanos.Todavia pelo fato da maioria dos psitacídeos não aparentarem dimorfismo sexual, surgiram algumas técnicas para determinar o sexo destas, entre elas a PCR. No entanto, são poucos os estudos de sexagem molecular nesse gênero de ave. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar uma reação de PCR para determinação do sexo de aves do gênero *Agapornis.*

**Palavras-Chave:** P2/P8, determinação do sexo, CHD

MOLECULAR SEXAGE IN BIRDS OF THE GENUS *Agapornis* THROUGH EXTRACTION OF DNA FROM FEATHERS

**Abstract**: The market of exotic birds for ornamental purposes has grown. The genus of birds *Agapornis* stands out because they are colorful birds, easy domestication and have the ability to mimic human noises. However, since most birds do not appear to have sexual dimorphism, some techniques have emerged to determine their sex, including PCR (Polymerase Chain Reaction). Few molecular sexage studies of the genus *Agapornis* have been performed, thus, the present work aimed to evaluate a PCR reaction to determine the sex of birds of the genus *Agapornis*.

**Keywords:**. P2/P8, sex determination, CHD

# Introdução

O interesse por aves exóticas ornamentais como animais de estimação alavancou o mercado com produtos e serviços, junto a isto o aperfeiçoamento das criações desses animais em cativeiros (Cubas, 2002). Neste meio a família [Psittacidae](https://pt.wikipedia.org/wiki/Psittacidae) qual inclui os Agapornis destaca-se por ser muito procurada como animais de estimação, devido a sua beleza, cores atrativas e inteligência, pois, algumas aves desenvolvem a habilidade de imitar a voz e outros ruídos humanos (Beynonet al ,1996).

De acordo com Pough et al. (2003) e Hickman et al. (2004), cerca de 90% das aves adotam um comportamento monogâmico nos períodos reprodutivos e ainda a maioria das espécies da família [*Psittacidae*](https://pt.wikipedia.org/wiki/Psittacidae) assume comportamento ainda mais estrito, adotando um só parceiro durante a vida inteira. Sendo assim é importante distinguir o sexo entre as aves para fins reprodutivos. Todavia, a maioria das espécies de *Agapornis* não apresentam dimorfismo sexual (Stidham, 2006), sendo necessário então a utilização de técnicas como a PCR (reação em cadeia da polimerase) para realização da sexagem (Vieira et al., 2010). Essa técnica tem se mostrado viável para a sexagem de muitas espécies de aves principalmente devido ao fato de utilizar amostras cujo a coleta é minimamente invasiva quando comparada a técnicas cirúrgicas onde o animal é submetido a uma incisão e anestesia para verificação do aparelho reprodutor (testículo ou ovário). Além disso, tem se mostrado de menor custo quando comparada as técnicas de sexagem cromossômicas.

A reação de PCR utilizada aqui é baseada em uma sequência de nucleotídeos do DNA correspondente ao gene CHD (*Chromo-Helicase*-DNA-*binding*) presente nos cromossomos Z e W (cromossomos sexuais) das aves. O gene CHD-Z é encontrado no cromossomo Z, presente em ambos os sexos, já o CHD-W no cromossomo W está presente exclusivamente nas fêmeas (Griffiths et al., 1998)

O objetivo do presente estudo foi à determinação sexual de aves do gênero *Agapornis* através de PCR.

# Material e Métodos

Foram coletadas amostras de penas de nove aves do Gênero *Agapornis.* Estas foram cortadas na área que corresponde ao câlamo e armazenadas em microtubos de polipropilenos de 2mL com a identificação das aves. Em sequencia foi realizada a extração de DNA utilizando o protocolo adaptado de Araújo et al. (2009) para submeter as amostras a PCR.

Para PCR foram utilizados o primer P2 (5’-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3’) e P8 (5’-CTCCCAAGGATGAGRAAYTG-3’), e o mix de PCR foi realizado em volume final de 25uL contendo 18μL de H2O, 2,5μL de tampão 10x (10mM Tris-HCl pH8.3, 50μM KCl), 0,75μL de MgCl2, 0,5 μL de dNTPs, 0,5 μL de cada primer, 0,2μL de Taq DNA Polimerase, e 2 μL do DNA extraído das amostras. A termociclagem ocorreu de acordo com os seguintes parâmetros: 94ºC por 2 minutos, seguido de 35 ciclos a 94ºC por 1 minuto, 48ºC por 45 segundos e 72ºC por 45 segundos. Uma etapa final de extensão a 72º C durante 5 minutos foi realizada.

Os resultados das amplificações foram observados após eletroforese em gel de agarose a 3%, corados com GelRed® (Biotium). Para a visualização das bandas foi utilizado fotodocumentador Gel Doc XR (BioRad).

**Resultados e Discussão**

A extração de DNA das amostras resultou na recuperação de DNA íntegro, porém com quantidades variáveis. Após realização das reações de PCR foi possível observar o padrão esperado de amplificação (2 bandas para fêmea e uma para macho) na maioria das amostras testadas (Figura 1). As amostras D e H não apresentaram amplificação provavelmente devido à ausência ou baixa concentração de DNA recuperado na extração.

A reação de PCR segundo Griffiths et al. (1998) mostrou-se eficaz para a diferenciação do sexo das aves do gênero Agapornis. No entanto, será necessário melhorar a eficiência do método de extração de DNA a partir das penas, afim de que esta reação possa ser utilizada de forma extensiva.

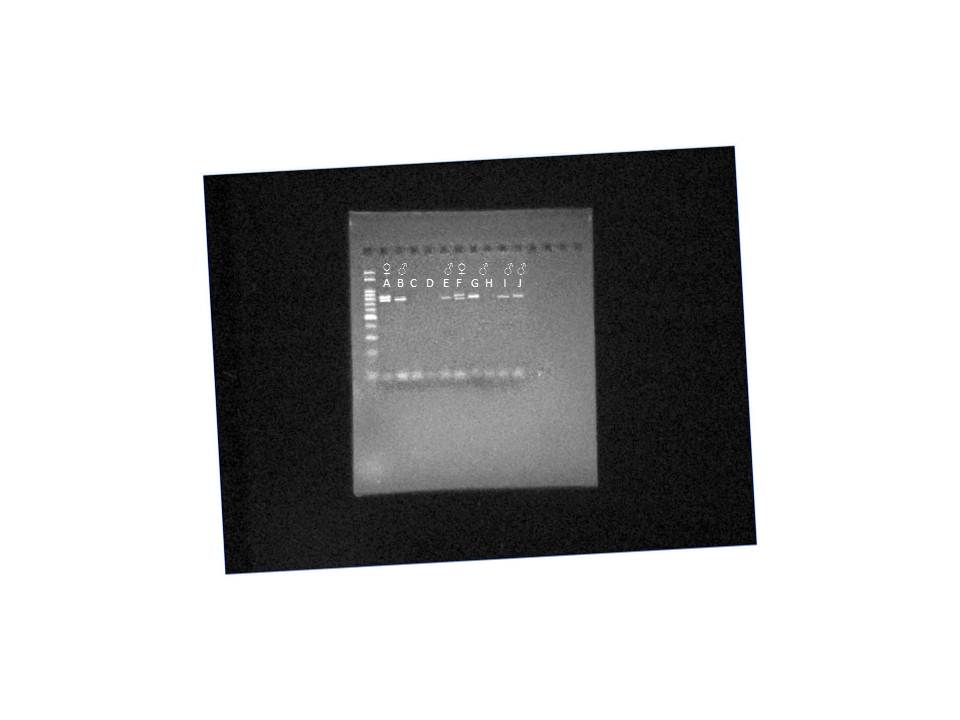


Figura 1 – Amostras submetidas a PCR via primer P2/P8 em gel de agarose a 3%. As amostras que possuem uma banda somente são machos, as que possuem duas bandas são fêmeas.

# Conclusões

A técnica de PCR foi eficiente na determinação de sexo de aves do gênero *Agapornis.*

# Literatura Citada

ARAUJO, F.R..; RAMOS, C.A.N.; LUIZ, H.L.; et al .**Avaliação de um protocolo de extração de DNA genômico a partir de sangue total**, Comunicado Téc-nico 120, Embrapa GNPGC, Campo Grande, 5 pp.

CUBAS, Z. S**. Terapêutica dos animais silvestres**. In: ANDRADE, S. F. Terapêutica veterinária.2. ed. São Paulo:

Roca, 2002. p. 574.

GRIFFITHS, R.; DOUBLE, M.C.; ORR, K.; DAWSON, R.J.G. A DNA test to sex most birds: Short communication. **Mol Ecol**,v.7, p.1071-1075, 1998.

HARCOURT-BROWN, N .; CHITTY, J*.* (1996). **Manual of Psittacine Birds**, BSAVA.

SILVA, C. M. **Avaliação da Arnica Silvestre (Floral de Saint Germain)e da Arnicamontana (homeopatia) em**

**Periquitos Australianos (Melopsittacusundulatus) submetidos a estresse**. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro, 2016. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Bem Estar Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro, 2016.

STIDHAM, T.A. (2006). **Parrots (Aves: Psittaciformes)** from the Miocene Varswater Formation, Langebaanweg, South Africa. Afr. Nat. Hist. 2, 198–199.

VIEIRA, J.N.;. COELHO, E.G.A.; OLIVEIRA, D.A.A. Comparação de três técnicas de extração de dna para sexagem molecular em aves. **Vet. e Zootec**. 2010 set.; 17(3):394-398.