



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE AVES SILVESTRES - CEMAVE

PLANO DE AÇÃO NACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DO PATO-MERGULHÃO

Guia de coleta de amostras biológicas de
Pato-mergulhão (*Mergus octosetaceus*)

Belo Horizonte (MG), 2019

OBJETIVO ESPECÍFICO: Gerar e difundir conhecimento ecológico, biológico e genético acerca da espécie e das ações necessárias para sua conservação.

AÇÃO: 2.10 Elaborar protocolo de coleta e armazenamento de material biológico para análises genéticas.

RESPONSÁVEIS PELA AÇÃO: Davidson Pinheiro Campos (UFMG) e Fabrício R. dos Santos (UFMG)

COMENTÁRIOS: -

VERSÕES E DATAS: -

A divulgação do produto do PAN foi autorizada pelos autores



Esta obra está licenciada com uma Licença [Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Guia de coleta de amostras biológicas de Pato-mergulhão (*Mergus octosetaceus*)



Elaborado por: Davidson Pinheiro Campos e Fabrício Rodrigues dos Santos
PAN Pato-Mergulhão

Devido a extrema dificuldade de se conseguir amostras biológicas do pato-mergulhão, todas as oportunidades de coleta de material biológico devem ser consideradas, e nenhum tipo de material biológico deve ser descartado, como por exemplo, casca de ovos, carcaças de animais, e etc.

Existem diferentes perguntas acerca da genética do pato-mergulhão que precisam ser respondidas e somente será possível respondê-las quando tivermos em nosso banco, amostras de animais de todas as áreas de ocorrência da espécie e de todos os animais (incluindo embriões e filhotes mortos), com uma substancial representação genética dos locais de ocorrência da espécie e do plantel de cativeiro.

Devido a uma particularidade em seu DNA mitocondrial, amostras de tecidos diferentes (sangue e músculo, por exemplo) do mesmo animal são também de extrema importância, assim, quando possível, pedimos que nos encaminhem amostras de sangue de animais que se encontram vivos, e caso eles venham a óbito pedimos que nos encaminhem amostra de tecido muscular, que é um dos últimos tecidos do corpo a se decompor (o fígado é um dos primeiros a entrar em decomposição, quando o DNA também é eliminado).

Coleta de amostras de animais mortos

Animais mortos podem ser encontrados em diversos estágios de decomposição. Após a morte, os tecidos se degradam rapidamente, assim são necessárias algumas medidas para retardar este processo quando o tecido é retirado da carcaça. O ideal é retirar uma foto do material no local onde foi encontrado e anotar as coordenadas geográficas.

Caso um animal seja encontrado morto e não apresente evidências de predação (sem cortes na pele, sem vísceras e musculatura expostas) acondicione-o o mais rápido possível em um saco plástico e coloque-o no freezer, a baixa temperatura irá retardar o processo de decomposição, e assim que possível envie o animal para o LBEM (endereço no final).

Caso um animal esteja com evidências de predação, ou em estado de decomposição avançada e não seja possível enviá-lo inteiro para o laboratório, usando

um bisturi ou uma tesoura retire uma amostra (o máximo de quantidade possível, 0,5 cm³ (ml) é um volume razoável, mas devem ser retiradas duplicatas e armazenadas em tubos separados, caso não seja possível acondicione as amostras em um único tubo de volume maior) de tecido muscular que esteja o mais conservado possível, que não apresente coloração e texturas estranhas, acondicione a amostra em um tubo, garrafa, vidro ou qualquer vasilha bem vedada com álcool (pelo menos álcool 70%, quanto maior a porcentagem de álcool, melhor). Estes podem ser os que são encontrados em farmácia e alguns supermercados. Acondicione no refrigerador e envie para o laboratório (LBEM). Caso o álcool utilizado seja de concentração menor que 70%, tente manter sempre o material refrigerado a 4°C. Se não for possível adicionar álcool, manter o material congelado (-20°C) até a hora de colocar álcool. Além do tecido muscular, amostras de ossos também podem ser coletadas (o máximo de quantidade possível, amostras com 5cm de comprimento são razoáveis, mas devem ser retiradas duplicatas), estas amostras podem ser acondicionadas em álcool 70% ou podem ser armazenadas secas.

Coleta de amostras: ovos abandonados e cascas de ovos

Caso seja encontrado um ninho abandonado onde se encontre ovos com embriões dentro (ou ovo não eclodido no cativeiro), se for possível separe o embrião ou feto em um tubo com álcool. Caso não seja possível, os ovos deverão ser colocados em sacos plásticos individuais (luvas de látex servem) e acondicionados no freezer o mais rápido possível e posteriormente serem enviados ao laboratório, congelados. Caso somente cascas secas sejam encontradas, elas podem ser acondicionadas em uma caixa de papelão sem a necessidade de refrigeração e encaminhadas para o LBEM. Quanto melhor o estado de conservação for o material, será mais fácil utilizá-lo no laboratório de genética.

Coleta de amostras de animais vivos/capturados

Amostras de Sangue

A equipe deve estar segura e previamente treinada para o procedimento, sendo necessário que um veterinário ou biólogo capacitado realize este procedimento, pois o tamanho da agulha, da seringa, e o volume sanguíneo retirado, deverá ser analisado em cada caso. A orientação do ICMBio/CEMAVE é de que a quantidade não deve passar de 1% do peso do animal, assim para aves de até 100 g o indicado é 1 ml de sangue por indivíduo. Caso não haja seringa, é possível também retirar o sangue com um pique com material pontiagudo na veia braquial ou ulnar (debaixo da asa) e coletado diretamente no tubo. Para as análises genéticas, 0,5 ml de sangue é uma quantidade razoável e cabe em um tubo de eppendorf (1,5 ml). No entanto recomendamos pelo menos a retirada de 2 x 0,5 ml de sangue (dois tubos) por indivíduo. Após a retirada do sangue ele deve ser acondicionado em um tubo com álcool (2/3 do volume final deve ser álcool). Estes tubos devem ser mantidos refrigerados, principalmente se for passar de uma semana, e posteriormente enviados para o LBEM.

Armazenamento de médio e longo prazo

Se possível, mantenha todas as amostras com álcool no refrigerador (4º C) até o momento de serem enviadas ao laboratório. Amostras congeladas (sem álcool), devem ser enviadas em caixas de isopor com gelo. Alternativamente, o material de tecido de embriões ou fetos pode ser separado previamente e colocado em tubos com álcool para envio à temperatura ambiente.

Fotos e coordenadas geográficas

Se possível, cada espécime e amostra devem ser fotografadas e ter registrado o local de coleta, sexo, número de anilha (caso estejam anilhados), relações de parentesco (irmão de A, filho de B e C, e etc.), coordenadas geográficas (são de extrema importância para os estudos de genética populacional) e qualquer outra informação que seja possível levantar (identificação do ninho, trecho do rio, etc.).

Transporte e envio das amostras biológicas

As amostras podem ser enviadas por SEDEX. Animais inteiros que forem enviados via SEDEX para a coleção, devem estar acondicionados dentro de sacos plásticos, congelados e dentro de caixa de isopor com gelo.

Amostras de tecidos e ou sangue que estão dentro de tubos com álcool podem ser enviadas em caixas de papelão ou isopor e não necessitam estar acondicionados no gelo, os tubos devem estar bem vedados para que o álcool não vaze e devem possuir identificação individual (caso seja enviado mais de um tubo por remessa) para que possamos relacionar a amostra com as informações que devem acompanhá-la.

Ovos inteiros devem ser acondicionados individualmente em sacos plásticos (podem ser colocados dentro de luvas de látex), congelados e colocados em caixas de isopor com gelo, de modo a evitar que se quebrem no transporte e enviados para o LBEM. O ideal é fazer antes a dissecação dos ovos e retirar o material biológico (embrião ou feto) e coloca-lo em tubo com álcool, conforme explicado anteriormente.

Cascas de ovos secas podem ser enviadas em caixa de papelão, sem a necessidade de refrigeração.

As amostras devem ser identificadas, com as seguintes informações:

Nome científico:

Sexo (Se possível):

Fase desenvolvimento: filhote, imaturo ou adulto

Número de campo / Marcação do animal (quando houver):

Coletor:

Local (rio/córrego, cidade, Estado etc.):

Obs.: para amostras provenientes do cativeiro favor anexar todas as informações que constam no *studbook*.

Coordenadas geográficas:

Data: ___/___/___ hora: __h__m

Amostra (se possível especificar o tipo de tecido, se sangue, músculo, coração, pele etc.):

Demais informações (relações de parentesco e etc.)

E encaminhar para:

Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular – LBEM

A/C Davidson ou Fabrício

Caixa Postal 486 – ICB-UFMG Bloco L3 – Sala 244

Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, ICB, UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG, Brasil

CEP: 31.270-901

Obs.: Normalmente as caixas/envelopes com tubos contendo amostras de tecido não precisam ter uma identificação prévia e não é necessária a licença SISBIO, mas de todo modo o LBEM possui uma licença de transporte de material biológico que pode ser utilizada (a licença está em fase de renovação, assim que for liberada enviamos para todos)

Em caso de dúvidas, contatar:

Davidson Pinheiro Campos – davidsoncampos1@yahoo.com.br

Tel: +55 31 3409-2566

Fabrício Rodrigues dos Santos – fsantos@icb.ufmg.br

Tel: +55 31 3409-2581 / Fax: +55 31 3409-2570