

Manual de Curadores de Germoplasma – Animal: Conservação *ex situ/in vitro* de Sêmen, Embriões, DNA e Tecidos

Foto: Alexandre Floriani Ramos



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos

340

*Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia
ISSN 0102-0110*

176

*Embrapa Tabuleiros Costeiros
ISSN 1678-1953*

Manual de Curadores de Germoplasma – Animal: Conservação *ex situ/in vitro* de Sêmen, Embriões, DNA e Tecidos

Alexandre Floriani Ramos
Hymerson Costa Azevedo
Silvia Tereza Ribeiro Castro
Andréa Alves do Egito

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica - PqEB – Av. W5 Norte (final)

Caixa Postal: 02372 - Brasília, DF - Brasil – CEP: 70770-917

Fone: (61) 3448-4700

Fax: (61) 3340-3624

Home Page: <http://www.cenargen.embrapa.br>

E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *João Batista Teixeira*

Secretário-Executivo: *Thales Lima Rocha*

Membros: *Jonny Everson Scherwinski Pereira*

Lucília Helena Marcelino

Lígia Sardinha Fortes

Márcio Martinelli Sanches

Samuel Rezende Paiva

Vânia Cristina Rennó Azevedo

Suplentes: *João Batista Tavares da Silva*

Daniela Aguiar de Souza Kols

Revisão técnica: *Silvia Teresa Ribeiro Castro*

Revisão de texto: *José Cesamildo Cruz Magalhães*

Normalização bibliográfica: *Ana Flávia do Nascimento Dias*

Editoração eletrônica: *José Cesamildo Cruz Magalhães*

Foto da capa: *Alexandre Floriani Ramos*

1ª edição (online)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Manual de Curadores de Germoplasma – Animal: Conservação *ex situ/in vitro* de sêmen, embriões, DNA e tecidos. / Alexandre Floriani Ramos [*et al.*]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2012.

18 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 340; Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, 176).

1. Recursos Genéticos – Animal. 2. Conservação *ex situ/in vitro*. I. Azevedo, Hymerson Costa. II. Castro, Silvia Tereza Ribeiro. III. Egito, Andréa Alves do. IV. Título. V. Série.

636.0981 – CDD 21

Autores

Alexandre Floriani Ramos

Ph.D. em Ciência Animal, Pesquisador da Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia
alexandre.floriani@embrapa.br

Hymerson Costa Azevedo

Ph.D. em Medicina Veterinária, Pesquisador da Embrapa
Tabuleiros Costeiros
hymerson.azevedo@embrapa.br

Silvia Tereza Ribeiro Castro

Ph.D. em Biologia Animal, Pesquisadora da Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia
silvia.castro@embrapa.br

Andréa Alves do Egito

Ph.D. em Biologia Molecular, Pesquisadora da Embrapa
Recursos Genéticos e Biotecnologia
andrea.egito@embrapa.br

Apresentação

Desde o início da década de 1970, há uma crescente conscientização mundial sobre a necessidade de preservação dos recursos genéticos, que são essenciais para o atendimento das demandas por variabilidade genética dos programas de melhoramento, principalmente aqueles voltados para alimentação humana.

O enriquecimento e a manutenção contínua da variabilidade genética das coleções são prioritários e estratégicos, considerando as restrições internacionais ao intercâmbio de germoplasma e a diversidade de recursos genéticos de animais zootécnicos do país.

Na década de 1970, a *Food and Agriculture Organization* (FAO), órgão das Nações Unidas, estimulou o estabelecimento de uma rede mundial de centros para a conservação de recursos genéticos situados em regiões consideradas de alta variabilidade genética. Em 1974, o *Consultative Group for International Agricultural Research* (CGIAR) criou o *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), hoje transformado no *Bioversity International*. No mesmo ano, a Embrapa reconheceu a importância estratégica dos recursos genéticos com a criação do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN), que mais recentemente adotou a assinatura-síntese Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

A criação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a consolidação do SNPA estabeleceram ambiente propício para a formatação da Rede Nacional de Recursos Genéticos. A partir de então, paulatinamente, coleções de germoplasma foram estruturadas em diferentes Unidades Descentralizadas, predominantemente na área vegetal e a partir de 1983 passou a trabalhar na área animal.

Em 1993, por intermédio de deliberação da Diretoria Executiva, a Embrapa formalizou, como ferramenta de gestão das coleções, o Sistema de Curadorias de Germoplasma e definiu os papéis e as responsabilidades para os diversos atores envolvidos nesse Sistema, tais como: curadores de coleções de germoplasma, chefes de Unidades Descentralizadas que abrigavam as coleções e a Supervisão de Curadorias. Os projetos em rede foram definidos como figuras programática e operacional, possibilitando o custeio de atividades de coleta, intercâmbio, quarentena, caracterização, avaliação, documentação, conservação e utilização de germoplasma, além da manutenção das coleções. De 1993 até a presente data, muitas coleções de germoplasma foram estabelecidas e, atualmente, o Sistema de Curadorias da Embrapa reúne 209 coleções, incluindo Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal (BAGs), Núcleos de Conservação Animal, Coleções Biológicas de Micro-organismos e Coleções de Referência, as quais abrangem espécies nativas e exóticas.

Como consequência desses 30 anos de atividades relacionadas ao manejo dos recursos genéticos, os curadores adquiriram uma bagagem de conhecimentos práticos na área, conhecimentos estes que foram, em parte, sistematizados e disponibilizados para a sociedade por intermédio da presente obra: "Manual de Curadores de Germoplasma".

Esperamos que esta publicação em série torne-se um guia para curadores de germoplasma no Brasil e no exterior, e que contribua efetivamente para o aprimoramento da gestão dos recursos genéticos deste país.

Mauro Carneiro

Chefe Geral

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Sumário

Introdução	08
Seleção de doadores de DNA e tecidos	08
Seleção de doadores de sêmen e embriões	08
Coleta de sêmen e embriões	10
Identificação do doador	10
Coleta de sangue para extração de DNA	12
Coleta de tecidos	12
Coleta de pelos	13
Identificação da amostra	13
Sêmen e embriões	13
Sangue	14
Pelos e tecidos	14
Remessa	15
Sêmen e embriões	15
Sangue para extração de DNA	15
DNA e tecidos	16
Referências	17

Conservação *ex situ* in vitro de Sêmen, Embriões, DNA e Tecidos

Alexandre Floriani Ramos
Hymerson Costa Azevedo
Sílvia Tereza Ribeiro Castro
Andréa Alves do Egito

Introdução

A conservação de germoplasma *ex situ* in vitro de animais visa armazenar material genético de espécies, raças, tipos raciais ou indivíduos, nativos, exóticos e naturalizados. O material armazenado poderá ser utilizado para o restabelecimento de uma população em risco de extinção, a formação de um novo grupamento genético, suporte a programas de conservação *in vivo* e melhoramento genético, além de estudos de identificação de genes de importância social, cultural e econômica.

O objetivo deste manual é, entre outros, orientar os Curadores de Núcleos de Conservação como proceder na seleção dos doadores, coleta e identificação de amostras de sêmen, embriões, DNA e tecidos, bem como, no procedimento de remessa do material para o Banco de Germoplasma Animal da Embrapa.

Seleção de doadores de DNA e tecidos

As coletas de sangue para extração do DNA, bem como, para a coleta de tecidos deve ser realizada em animais dos Núcleos de Conservação e em animais da população em geral que apresentem as características morfológicas das raças contempladas no Programa de Conservação Animal da Embrapa ou de interesse nacional.

Recomenda-se a coleta de animais não aparentados em, pelo menos, três gerações. Dessa forma, são minimizados os efeitos de parentesco que podem vir a prejudicar a análise genética; caso não seja possível, deve-se informar o parentesco na folha de informações que acompanha o material enviado ao laboratório.

Seleção de doadores de sêmen e embriões

Na seleção de doadores de germoplasma devem ser consideradas a variabilidade genética, a tipificação ou caracterização racial e/ou o potencial produtivo, a condição clínica do aparelho reprodutor e a situação sanitária do doador.

A seleção de animais doadores nos Núcleos de Conservação deve ser realizada com base em dados fenotípicos (descritores) que indiquem maior tipificação ou caracterização racial e, se possível, boa capacidade produtiva, adaptação e resistência. Sempre que disponível,

os resultados da caracterização genética poderão ser utilizados a fim de assegurar doadores com maior variabilidade genética. Para isso, uma amostra de sangue ou DNA dos potenciais doadores deverá ser encaminhada para a caracterização molecular e, posteriormente, indicados os indivíduos a serem coletados.

Foto: Alexandre Floriani Ramos



Figura 1. Doador de sêmen da raça Curraleira Pé-Duro.

A realização do exame clínico geral e do sistema genital feminino e masculino, avaliando a saúde reprodutiva dos doadores, é de grande importância para a mensuração do potencial de produção de sêmen ou de embriões dos doadores. Por isso, torna-se necessária a realização dos mesmos previamente à inclusão dos animais em rotina de coleta.

A avaliação sanitária dos doadores é indispensável para garantir a segurança do uso do sêmen e dos embriões estocados no banco de germoplasma. Antes de serem coletados, os doadores devem ser submetidos a exames para diagnóstico de doenças infecciosas, específicas para cada espécie, conforme descrito no Quadro 1. Somente os doadores com sorologia negativa deverão ter seu material genético estocado.

Quadro 1. Doenças infecciosas que necessitam de exame sanitário dos doadores de germoplasma, de acordo com a espécie animal.

Espécie animal	Doença infecciosa
Bovino e bubalino	Brucelose; Tuberculose; Diarreia Viral Bovina (BVD); Campilobacteriose genital bovina; Tricomonose
Caprino e ovino	Brucelose; Tuberculose; Paraplexia enzoótica dos ovinos (scrapie)
Equino e asinino	Anemia Infecciosa Equina (AIE); Mormo; Influenza Equina
Suíno	Brucelose, Tuberculose; Peste suína clássica; Doença de Aujeszky

Coleta de sêmen e embriões

Identificação do doador

Para a introdução de material no Banco de Germoplasma Animal ou no banco de DNA e de tecidos é necessária a correta identificação dos doadores. Os descritores mínimos dos doadores são: nome; sexo; espécie; raça; registro genealógico; data de nascimento; nome do pai; nome da mãe; data da coleta do material (sêmen, embrião, DNA ou tecido); nome e endereço do proprietário. Além disso, a documentação dos descritores mínimos para a espécie do doador é de grande importância para identificação do material estocado e para o seu uso no futuro. A relação dos descritores mínimos para algumas das espécies animais da Rede Animal da Plataforma de Recursos Genéticos da Embrapa pode ser encontrada no endereço eletrônico <http://plataformarg.cenargen.embrapa.br/pnrg/rede-animal> ou por meio do contato direto com os Curadores de Produto, cuja lista encontra-se no referido *site*.

Reprodutores de raças ou grupamentos genéticos que possuem registro genealógico deverão, preferencialmente, ser introduzidos em Centrais de Coleta e Processamento de Sêmen e Embriões devidamente registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Nos casos de impossibilidade de introdução dos animais nas centrais credenciadas poderá ser realizada a coleta e o congelamento de sêmen ou embriões a campo, desde que sejam realizados os exames sanitários para cada espécie, relacionados na tabela acima. Os atestados sanitários deverão ser anexados à documentação do banco de germoplasma, a fim de comprovar a sanidade dos doadores no momento das coletas.

Para o armazenamento de sêmen e embriões de animais de uma mesma raça ou grupamento genético, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) sugere o número mínimo de 25 doadores. O número mínimo necessário de doses de sêmen para cada indivíduo, de acordo com a espécie, está descrito no Quadro 2.

Quadro 2. Número mínimo de indivíduos, doses de sêmen e concentração espermática/dose para armazenamento no banco de germoplasma.

Espécie	Número de indivíduos	Número de doses de sêmen por indivíduo	Concentração da dose de sêmen
Asinino	25	100	1.000 x 10 ⁶
Bovino	25	500	40 x 10 ⁶
Bubalino	25	500	40 x 10 ⁶
Caprino	25	200	100 x 10 ⁶
Equino	25	100	1.000 x 10 ⁶
Ovino	25	200	100 x 10 ⁶
Suíno	25	100	3.000 x 10 ⁶

Foram consideradas apenas as doses mínimas necessárias e consideradas como coleção de base. Deve-se levar em consideração, ainda, as amostras que deverão estar disponíveis para análise, disponibilização e uso, além de “backup” ou cópia do material genético, o que pode representar um acréscimo de 100 a 200%, no mínimo.

O sêmen estocado no banco de germoplasma deverá ser avaliado e ter seus descritores documentados em planilha ou base de banco de dados computadorizada. Dentre os descritores mínimos para sêmen estocado estão a data do processamento e o meio diluidor utilizado no congelamento, o número da partida de sêmen e a quantidade, volume e a concentração espermática das doses congeladas. Os critérios qualitativos mínimos para o armazenamento do sêmen estão demonstrados no Quadro 3, sendo que as amostras que apresentarem, após o descongelamento, avaliações espermáticas fora dos valores de referência listados abaixo não deverão ser introduzidas no banco de germoplasma, salvo em situações especiais, como morte ou incapacidade do reprodutor e raridade ou risco de perda de um determinado indivíduo ou população. Informações mais detalhadas e complementares a respeito de procedimentos de avaliação de machos doadores e de sêmen podem ser obtidas no Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (<http://www.cbra.org.br/>).

Quadro 3. Valores de referência das características espermáticas qualitativas do sêmen a ser introduzido no banco de germoplasma.

Característica espermática	Valor de referência
Motilidade Progressiva	≥ 30%
Defeitos maiores	≤ 10%
Defeitos menores	≤ 20%
Defeitos de acrossomo	≤ 10%
Defeitos de cauda	≤ 20%
Defeitos totais	≤ 30%
Viabilidade (Eosina-Nigrosina)	≥ 70%

Os embriões estocados no banco de germoplasma também deverão ter seus descritores, tais como estágio de desenvolvimento, qualidade, crioprotetor utilizado e método de criopreservação, documentados em base de dados computadorizada. Informações de como identificar o estágio de desenvolvimento, assim como de classificação da qualidade de embriões, podem ser obtidas no manual da International Embryo Transfer Society (IETS) e nos *sites* desta instituição (<http://www.iets.org/>) e da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões – SBTE (<http://www.sbte.org.br/>).

Os descritores mínimos para sêmen e embriões estabelecidos pela Rede Animal da Plataforma de Recursos Genéticos da Embrapa poderão ser encontrados no endereço eletrônico <http://plataformarg.cenargen.embrapa.br/pnrg/rede-animal> ou por meio do contato direto com os Curadores de Produto, cuja lista se encontra no referido *site*.

Coleta de sangue para extração de DNA

O sangue para extração do DNA deverá ser coletado em tubos a vácuo contendo o anticoagulante EDTA, podendo ser de 15, 10 ou 5 mL. Imediatamente após a coleta, movimentar gentilmente o tubo várias vezes, para completa homogeneização do sangue com o anticoagulante. O local para punção é a veia jugular ou a mamária, em mamíferos, em aves na veia braquial (na parte interna da asa); tendo-se sempre o cuidado de limpar o local a ser perfurado com álcool iodado para evitar contaminação.

O sangue deverá ser imediatamente resfriado. Para tanto, deve-se utilizar caixa de isopor com gelo. Após a coleta, o sangue poderá permanecer até sete dias antes de ser processado, caso permaneça em geladeira após a coleta. Se o envio do material não for possível dentro desse prazo, recomenda-se congelar o sangue após a coleta. Para a coleta de sangue em aves, pode-se utilizar seringas de 1 e 2 mL e manter a amostra em geladeira por um dia antes da extração.

Quadro 4. Volume de sangue necessário para ser coletado e submetido ao laboratório para extração de DNA.

Espécie	Volume (mL)
Aves	0,5 a 1,5
Equídeos	5 a 10
Ruminantes	5 a 10

Coleta de tecidos

Antes do início da coleta, identificar os tubos “ependorfs” ou “falcons” com número do animal, sexo e raça. Incluir o número de coleta do animal dentro de cada frasco. Um pedaço de papel vegetal com número escrito a lápis preto comum funciona muito bem. Anotar em folha anexa, se possível, algumas informações sobre a coleta, como: local, posição geográfica (GPS), proprietário da fazenda, endereço e coletor. Bem como algumas informações sobre os animais como: data de nascimento, origem, e se possível, grau de sangue (se é misturado com outras raças) e genealogia dos animais.

Recomenda-se a coleta de animais não aparentados ou com pelo menos três gerações de distância. Dessa forma, minimizam-se os efeitos de parentesco que podem mascarar a análise genética. Caso isso não seja possível, deve-se coletar animais aparentados e informar o parentesco na folha anexa de informações.

Para a coleta de pelos, recomenda-se retirar e estocar dos animais apenas os pelos contendo os folículos pilosos (bulbos). Uma vez coletado e estocado em tubo “ependorf” ou “falcon”, o material deve ser mantido sob temperatura ambiente e longe de muita umidade para evitar a proliferação de fungos. Recomenda-se coletar bastante material

(aproximadamente 100 folículos pilosos) em razão dos eventos de coletas serem únicos e, talvez, a impossibilidade de acesso aos animais em outra oportunidade.

Para a coleta de tecidos (pedaços de músculos, pele, órgãos, etc.) recomenda-se retirar aproximadamente 1 a 5 centímetros cúbicos de material, apenas animais vivos ou imediatamente após a morte. Não é necessário cortar em cubos: uma fatia fina de tecido equivalente é preferível, já que facilita a fixação. O material coletado deve ser fixado imediatamente em etanol absoluto ou etanol 95%. Para evitar contaminações, sugere-se que toda a instrumentação utilizada (tesouras, canivetes, facas, bisturis, pinças) seja esterilizada entre uma extração e outra (exemplo: molhar cada peça de instrumento cirúrgico em etanol comercial e flambar em uma chama de lamparina, isqueiro, etc.).

Coleta de pelos

Recomenda-se retirar e estocar dos animais apenas os pelos contendo os folículos pilosos (bulbos). Uma vez coletado e estocado em tubos ou minitubos plásticos, o material deve ser mantido sob temperatura ambiente, evitando-se excesso de umidade para prevenir a proliferação de fungos. Recomenda-se a coleta de bastante material (aproximadamente 100 folículos pilosos ou mais) em razão da oportunidade, muitas vezes única, de se acessar aqueles animais.

Todas as amostras coletadas terão seu DNA extraído e farão parte do banco de DNA e tecidos do Laboratório de Genética Animal, localizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília- DF. Cópia das amostras poderão ser requeridas pelos colaboradores.

Identificação da amostra

Sêmen e embriões

As palhetas contendo as doses de sêmen deverão apresentar as seguintes informações: identificação do doador, raça ou tipo racial, data e local da coleta. Essas anotações devem ser feitas com caneta de tinta permanente, própria para escrever em superfície plástica. Os embriões deverão conter, além das informações acima, o estágio de desenvolvimento, a qualidade do embrião e o crioprotetor utilizado. Informações individuais dos doadores, tais como data de nascimento e dados genealógicos, deverão acompanhar o material genético para o procedimento de documentação.

Foto: Alexandre Floriani Ramos

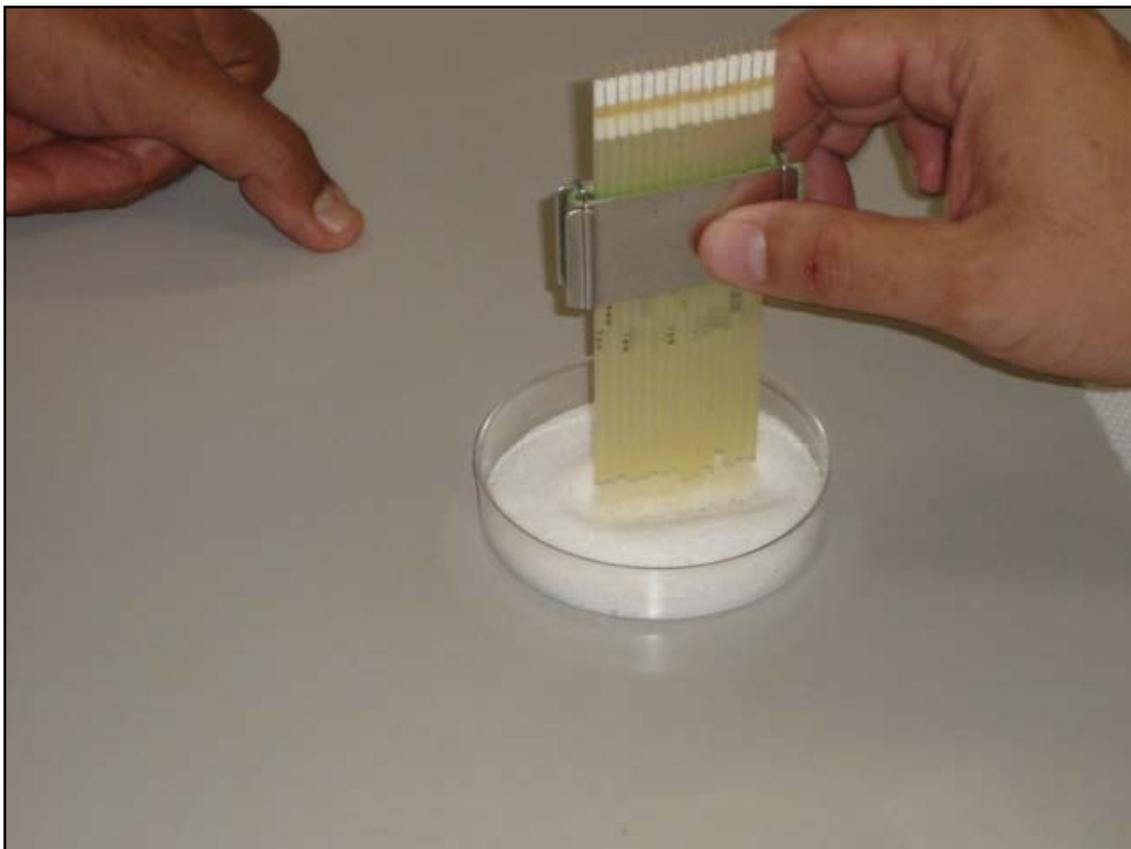


Figura 2. Palhetas de sêmen devidamente identificadas e em processo de lacre com álcool polivinílico.

Sangue

Os tubos com sangue para extração de DNA deverão ser identificados com o número do animal, sexo e raça ou tipo racial. Utilizar caneta para vidro que seja à prova d'água. Anotar em folha anexa algumas informações sobre a coleta, como local e endereço onde foi realizada, nome do proprietário e nome da pessoa que a realizou, além de informações sobre os animais, como data de nascimento, origem, e se possível, grau de sangue (se mestiço de outras raças) e genealogia (especialmente pai/mãe).

Pelos e tecidos

Antes do início da coleta, identificar os tubos ou microtubos com o número do animal, sexo, raça ou tipo racial. No caso de animais com mais de uma coleta, incluir o número de coleta do animal dentro de cada frasco. Um pedaço de papel vegetal com número escrito a lápis preto comum funciona muito bem. Anotar em folha anexa, se possível, algumas informações sobre a coleta, como local, endereço e posição geográfica (GPS) em que foi realizada, nome do proprietário e da pessoa que coletou, bem como algumas informações sobre os animais, como data de nascimento, origem e, se possível, grau de sangue (se mestiço de outras raças) e genealogia dos animais.

Remessa

Sêmen e embriões

A remessa de sêmen e embriões para o banco de germoplasma animal deverá ser realizada em botijão criogênico contendo nitrogênio líquido, por via terrestre ou aérea. É necessária a emissão de nota fiscal simples, de remessa, informando o conteúdo enviado. Os laudos laboratoriais atestando a sanidade dos doadores e as fichas informando os descritores mínimos dos doadores e do sêmen ou dos embriões, também, deverão acompanhar o material enviado.

Nos casos em que o material enviado é de propriedade privada ou de instituições parceiras, é necessário o preenchimento e a assinatura de um termo de doação ou do termo de transferência de material – TTM, documentos providenciados pela Embrapa com o aval da Assessoria Jurídica.

Sangue para extração de DNA

Quando o processamento e a extração do DNA forem realizados no local da coleta, deve-se seguir as instruções conforme os procedimentos operacionais padrão (POP) do laboratório: Procedimento de extração de DNA animal e Procedimento de quantificação de DNA em gel de agarose e espectrofotômetro.

Quando o sangue for processado em local distante do local da coleta, enviá-lo por via aérea. Os tubos com o sangue deverão ser embalados para a remessa em caixa de isopor com gelo. Os tubos deverão ser colocados em sacos plásticos arrumados em camadas intercaladas com gelo. O gelo embalado em recipiente plástico ou reciclável na forma de gel é o mais indicado. Para manter por mais tempo a temperatura interna da caixa e evitar vazamento do gelo derretido, forrar a caixa com jornal, lacrá-la e identificá-la com nome e endereço do destinatário. No aeroporto, envolvê-la em plástico, quando este serviço estiver disponível. Enviar o material pelos Correios, por meio do serviço SEDEX 10 ou, ainda, por meio do transporte aéreo, aos cuidados do pesquisador do seu contato, com nota fiscal para a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Parque Estação Biológica, final da Avenida W5 Norte, CEP 70770-900; CGC-00348003003802).

Em todas as opções de remessa, o tempo máximo estimado para que o sangue não perca a temperatura de resfriamento, no isopor, são 12 horas. Deverá acompanhar, em anexo à caixa de isopor, uma listagem do material enviado constando a relação dos animais coletados, data e local da coleta e nome de quem coletou. Se possível, enviar também via correio eletrônico.

Os tubos devem estar fixados um ao outro com fita durex e embrulhados em plástico para evitar que molhe a etiqueta e que os mesmos quebrem durante a viagem. É possível pagar o Sedex na origem e enviar o número da conta do banco para ser ressarcida a taxa dos correios ou da transportadora. Caso opte por essa segunda forma, não se deve esquecer de tirar uma nota fiscal no nome da Embrapa e enviá-la juntamente com o material.

Observações importantes:

Informar-se, antecipadamente, nos terminais de carga dos aeroportos como é a forma de pagamento, se à vista, em espécie, cheque ou cartão, para que não haja surpresas.

Deverá ser informado ao despachante que se trata de amostras de sangue animal não contaminado, destinado à obtenção de DNA com fins de pesquisa da Embrapa. Apresentar identidade funcional e documento de identidade. A pessoa que for receber o material deverá igualmente apresentar-se com os documentos citados acima.

DNA e tecidos

Quando for extraído no local da coleta, o DNA deverá ser envasado em microtubos de plástico identificados de acordo com o modelo de etiqueta utilizado no laboratório e enviado por via aérea em caixa de isopor com gelo. Deverá ser enviada, via correio eletrônico, ao responsável pelo laboratório e ao pesquisador responsável pela atividade uma relação do material encaminhado, em que constem todos os dados das etiquetas, as quais devem ser fixadas aos tubos com fita adesiva transparente (fita mágica), conforme o modelo abaixo:

LGA/CENARGEN

Sigla da raça, número da identificação do animal na fazenda de origem – brinco ou tatuagem (entre parênteses, número de entrada no banco de DNA)

Concentração da amostra

Endereço no banco de DNA

Data da extração

Fonte: Arial Narrow, tamanho 5

Exemplo:

LGA/CENARGEN

BPAN 347 (021)

297,96 ng/ μ L

Cx15-H7

07/09/1994

Referências

ANDRABI, S. M. H.; MAXWELL, W. M. C. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 223-243, 2007.

CARDELLINO, R. A. Status of the world's livestock genetic resources. Preparation of the first report on the state of the world's animal genetic resources. In: The role of biotechnology for the characterization and conservation of crop, forestry animal and fishery genetic resources: International Workshop, 2005, Torino. **Proceedings...** Rome, IT: FAO, 2005. p. 1-6.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **World watch list for domestic animal diversity**. 2. ed. Rome, IT: FAO, 1995. 769 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: management of small populations at risk**. Roma, IT: FAO, 1998. 210 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Domestic animal diversity information system**. DAD-IS 2. Rome, IT: FAO, 2001. Disponível em: <<http://dad.fao.org>>. Acesso em: nov. 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture**. Rome: FAO, 2007. 511 p.

HIEMSTRA, S. J.; VAN DER LENDE, T.; WOELDERS, H. The potential of cryopreservation and reproductive technologies for animal genetic resources conservation strategies. In: RUANE, J.; SONNINO, A. **The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources**. Rome, IT: FAO, 2005. p. 25-35.

MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; RAMOS, A. F. Criopreservação de recursos genéticos animais brasileiros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 64-68, 2011. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br>>. Acesso em: nov. 2012.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*



Tabuleiros Costeiros