**Uso de marcador molecular para Sexagem de *Caracara plancus***

Francisco Fredson de Sousa (IFPB, Campus Sousa), Patricy de Andrade Salles (IFPB, Campus Sousa), Amélia Lizziane Leite Duarte (IFPB, Campus Sousa)

**E-mails:** patricy.salles@ifpb.edu.br, ffredson3000@gmail.com, amelia.duarte@ifpb.edu.br

**Área de conhecimento:** Medicina Veterinária

**Palavras-Chave**: Ave; sexo; identificação

1. **Introdução**

Regiões brasileiras do Norte, Nordeste e Centro-oeste participam negativamente como áreas de captura e tráfico de aves para regiões sul e sudeste, que são promotoras de vendas nacionais e internacionais de animais silvestres. Em virtude disto, estima-se que em todo o perímetro brasileiro mais de 82% das aves nativas são exploradas comercialmente, e apenas 10% destas aves chegam vivas no destino final do cativeiro, com morte de 90% dos animais destinados ao tráfico, e apenas 0,45% destes animais apreendidos por órgãos de fiscalização (CAVALCANTI & NUNES, 2019; PAGANO et al., 2009). Sabe-se que os órgãos fiscalizadores como IBAMA, Polícia Ambiental e Corpo de Bombeiros estão constantemente observando os danos ao meio ambiente por meio de ocorrências em seu dia a dia. O trabalho instituído pelos mesmos tem contribuído para salvar e preservar a fauna resgatada em perímetros urbanos e devolvendo-os para o habitat natural (JACOB, 2013). Espécies de aves de rapina diurna como o carcará (*Caracara plancus*, Miller, 1777) pertencente à ordem Falconiformes apresentam ampla distribuição no Brasil. Sofrem fatores constantes de degradação antrópica do ambiente natural, como a retirada das espécies pelo tráfico, diminuindo o patrimônio biológico e extinção de muitas destas espécies. O que tem ocasionado um aumento de atendimentos desta natureza pelos médicos.veterinários (JACOB, 2013). Porém, observa-se que há uma enorme carência de dados de referência na patologia clínica para este rapinante que não apresenta dimorfismo sexual.

Portanto, é imprescindível a determinação de informações para identificação do sexo de aves silvestres mantidas tanto em cativeiro quanto em vida livre, visto que os valores hematológicos aviários de fauna selvagem estão sujeitos a extensa variabilidade para cada espécie silvestre (THRALL, 2015).

1. **Materiais e Métodos**

As amostras foram coletadas do período de janeiro a setembro de 2020 de modo aleatório. Para a realização das mesmas foram utilizados materiais de captura e contenção como panos, luvas de couro e puçás para as aves cativas e de vida livre resgatadas. Objetivando, deste modo, oferecer uma maior segurança ao manipulador e ao animal a ser capturado. As aves de rapina da espécie *Caracara plancus* (Figura 1) foram provenientes de resgates pelo 6º Batalhão do Corpo de Bombeiros da Paraíba, em trechos da BR 230 em Sousa-PB, assim como mantidas em cativeiro no Parque Zoobotânico Arruda Câmara, localizado em João Pessoa-PB, bem como no Parque Zoobotânico da Caatinga do 72º Batalhão De Infantaria Motorizado, localizado em Petrolina-PE. O Parque Zoobotânico Arruda Câmara, localizado no município de João Pessoa -Paraíba (Lat. 7° 5′ 0″ S; Long. 34° 50′ 0″ W) (Figura 2) Está inserido na Mata atlântica. O Parque Zoobotânico da Caatinga que está localizado na cidade de Petrolina, no Estado de Pernambuco, (Lat. 9° 23' 34" S; Long. 40° 30' 28" O) ( Figura 2) e está inserido no bioma da Caatinga.

Pássaro com as asas abertas

Descrição gerada automaticamente

**Figura 1:** Lâmina esquemática de Caracara plancus adulto, jovem e espécie adulta em voo consecutivamente da esquerda para direita. (Ilustração cedida por Fredy Pallinger)

**Diagrama, Mapa

Descrição gerada automaticamente**

**Figura 2**: Delimitação dos locais selecionados para avaliação hematológica e sexagem de *Caracara plancus* nos municípios de Sousa (A), João Pessoa (B) e identificação do Estado da Paraíba

Foram coletadas amostras de sangue e penas de 16 aves da espécie *Caracaras plancus* de idade adulta e classificados quanto ao sexo (macho ou fêmea), conforme sexagem realizada através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Para sexagem, foi extraído o DNA do bulbo de penas de 5 animais resgatados pelo 6º Batalhão do Corpo de Bombeiros da Paraíba, 5 aves do Parque Zoobotânico Arruda Câmara e 6 espécies do Parque Zoobotânico da Caatinga, Para avaliação dos dados hematológicos foram coletadas amostras de sangue das 5 aves do Parque Zoobotânico da Caatinga e 2 aves hígidas segundo os padrões clínicos de Joppert (2014), resgatadas pelo Corpo de Bombeiros da Paraíba, visto serem animais que vivem no mesmo bioma com características semelhantes de temperatura e umidade em seus habitats de origem. A avaliação dos dados obtidos foi de forma descritiva e os valores comparados com os considerados fisiológicos para a espécie de *Caracara plancus*. Para a realização da sexagem foram realizadas coleta de 05 penas com bulbo na região do *pectus* da ave para extração do DNA através da técnica de *polymerase chain reaction* (PCR) pelo método de extração alcalina simples rápida (VIEIRA; COELHO; OLIVEIRA, 2011; RUDBEK & DISSING, 1998). Cada amostra foi armazenada individualmente em envelope a temperatura ambiente e devidamente identificadas. Sendo encaminhadas para avaliação genética no Laboratório UNIGEN, localizado no estado de São Paulo – SP

Para amplificação do DNA foi utilizado um par de primers alelo específicos, P2 e P8, por serem os mais indicados em aves para os alelos específicos relacionados com os cromossomos sexuais. Inicialmente foi realizado o protocolo modificado de Griffiths et al. (1998) em relação à concentração: de cada dNTP (de 200 µM para 100 µM de cada um dos dNTPs), da U/amostra da enzima GoTaq® DNApolimerase/Promega (de 0,15 U para 1,0 U/amostra) e a temperatura padrão de anelamento (de 48 ºC para 49 ºC). O mix para PCR foi preparado em câmara de fluxo laminar a fim de se evitar qualquer tipo de contaminação com DNA exógeno. A reação de PCR para amplificação foi realizada em termociclador contendo um volume final de 10 µl, sendo: 8,0 µl do mix de reação, sendo este composto por tampão 5X Green GoTaqTM (Promega), 100 µM de cada um dos dNTPs (Promega), 5 µM de cada um dos primers P2 e P8 e 1,0 U de GoTaq® DNA polimerase (Promega). As amostras amplificadas foram submetidas à corrida eletroforética em gel de poliacrilamida (PAGE) 10%, a 200 V e 25 mA, por cerca de quatro horas. Foi utilizado, no gel, como padrão de peso molecular o marcador o pGEM® (Promega), com um volume de 2 µl. Para a visualização dos alelos, foi realizado o método de coloração com Nitrato de Prata. Após a coloração, os géis foram analisados com auxílio de transiluminador de luz branca e fotografados em câmera digital.

1. **Resultados e Discussão**

Aanálise estatística foi realizada pelo programa Bioestart 5.3.( pesquisa aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal da Paraíba (CEUA-IFPB) e registrada com o nº 23000.002336.2020-64) e. autorizado pelo do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) - de sangue e penas com registro SISBIO nº 73852-

A relação entre machos/fêmeas obtida a partir da avaliação da sexagem das amostras (n=12) obteve como resultado 41,7% (5/12) de machos e 58,3% (7/12) de fêmeas (Tabela 1). Vale ressaltar que, considerando apenas os parques zoobotânicos de João Pessoa-PB e de Petrolina-PE, apresentou-se um total de 5 aves por recinto coletivo. Esta quantidade de animais cativos é baseada em estudos realizados por Tavares (2014), que estimou a média de animais de vida livre em 5 a 10 aves por grupo de animais. Observou-se proporção semelhante em pesquisas de Hoyo et al. (1994) em relação aos grupos em cativeiros comunitários e que favorecem a simulação de grupos familiares de três a quatro indivíduos por grupo.

Constou-se ainda que o Parque Zoobotânico da Caatinga de Petrolina apresentou relação macho/fêmea de 40% (2/5) de machos e 60% (3/5) de fêmeas em sua prole. Similar proporção também foi verificada no Parque Zoobotânico Arruda Câmara de João Pessoa com resultado de 40% (2/5) de machos e 60% (3/5) de fêmeas. Número compatível também comparado à quantidade de machos (50% - 1/2) e de fêmeas (50% - 1/2) dos animais resgatados na BR 230 na região de Sousa-PB.

**Tabela *1*:** Resultado da sexagem por amostra de penas de Caracara Plancus, oriundas dos resgates de Sousa (PB) e dos Parques Zoobotânicos das cidades de Petrolina (PE) e João Pessoa (PB)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Local** | **Número de Machos (%)** | **Número de Fêmeas (%)** | **Total** |
| Petrolina (PE) | 2 (16,7%) | 3 (25%) | 5 (41,7%) |
| Sousa (PB) | 1 (8,3%) | 1 (8,3%) | 2 (16,7%) |
| João Pessoa (PB) | 2 (16,7%) | 3 (25%) | 5 (41,7%) |
| **Total** | 5 (41,7%) | 7 (58,3%) | 12 (100%) |

1. **Considerações Finais**

A determinação do sexo dos *Caracara plancus* por extração de DNA para realização da sexagem das aves por técnica da reação em cadeia da polimerase mostrou-se acurada, segura e de baixo custo para os animais analisados. Pode ser considerada uma alternativa eficaz para identificar e selecionar aves para reprodução em cativeiro e/ou soltura ou reintrodução monitorada de indivíduos, casais e/ou dos descendentes na natureza com sucesso em programas conservacionistas. Além de poder incrementar estudos que poderão ser instituídos e desenvolvidos em recuperação, criação, reprodução, soltura e reintrodução destes animais.

**Referências**

**CAVALCANTI, C. A. T.; NUNES, V. S. O tráfico da avifauna no nordeste brasileiro e suas consequências socioambientais**. Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública, v. 6, n. 2, p. 405-415, ago., 2019.

GRIFFITHS R. Sex identification in birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v.9, p.14-26, 2000. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1055937X00800122 >. Acesso em: 10 abr. 2020.

GRIFFITHS, R.; TIWARI, B. Avian CHD genes and their use inmethods for sex identification in birds. **Isis Innovation**, Oxford, 1996. Disponível em: < https://nexusacademicpublishers.com/uploads/files/AAVS\_7\_10\_844-847.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2020.

GRIFFITHS, R.; et al. A DNA test to sex most birds. **Molecular Ecology**, v. 7, 1998.

JACOB, B. A. S. **Fauna silvestre resgatada pelo 4º Batalhão de Bombeiros Militar na zona urbana de Rio Verde – GO.** 2013.17 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade de Rio Verde, Rio Verde, 2013.

JOPPERT, A. M. Accipitriformes, Falconiformes e Strigiformes (Gaviões, Águias, Falcões e Corujas). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.;

VIEIRA, J. N.; COELHO, E. G. A; OLIVEIRA, D. A. A. Determinação sexual em aves via PCR. **PUBVET**, Londrina, 150 ed., v. 5, n. 3, 2011.

RASO, T.F. & WERTHER, K. Sexagem cirúrgica em aves silvestres. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 187-192, 2004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0102-09352004000200008>. Acesso em: 10 abr. 2020.

RUDBEK, L & DISSING, J. Rapid simple alkaline extraction of human genomic DNA from whole blood, buccal epithelial cells, semen and forensic stains for PCR. **Biotechnique**, v. 25, n. 4, 1998. Disponível em: < https://www.future-science.com/doi/10.2144/98254bm09>. Acesso em: 30 abr. 2020.

SANTRA, A. K. **Handbook on Wild and Zoo Animals**. India: International Book Distributing CO., 2008. p. 3-6.

TAVARES, S. S. **Aspectos biológicos, fisiológicos e patológicos de carcarás (*Caracara plancus*, Miller, J.F., 1777) capturados na área do Aeroporto Internacional Pinto Martins**, **Fortaleza-CE**. 2014. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.