



**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 RÉPTEIS E
ANFÍBIOS - RAN**

**PLANO DE AÇÃO NACIONAL PARA A CONSERVAÇÃO DA
HERPETOFAUNA AMEAÇADA DO NORDESTE**

**Protocolo para detecção de fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd)
em anuros nas áreas prioritárias do PAN-NE**

Goiânia, 25 de novembro de 2022.

OBJETIVO ESPECÍFICO: 2. Redução da perda de indivíduos das espécies do PAN em suas áreas naturais, ampliando e compartilhando conhecimento e diminuindo conflitos entre humanos e animais.

AÇÃO: 2.13 Elaborar protocolos para detecção dos fungos *Batrachochytrium dendrobatidis* (B.d.) em anuros e *Ophidiomyces ophidiicola* (O.o) em serpentes.

RESPONSÁVEIS PELA AÇÃO: Carlos Abrahão

COMENTÁRIOS: Arquivo com o protocolo para a detecção de Bd em anuros em áreas prioritárias contempladas pelo PAN-NE.

VERSÕES E DATAS: 1.

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/)

Plano de ação nacional para a conservação da herpetofauna nordestina

Protocolo para detecção de fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) em anuros nas áreas prioritárias do PAN-NE

Ação 2.13: Elaborar protocolos para detecção dos fungos *Batrachochytrium dendrobatidis* (B.d.) em anuros e *Ophidiomyces ophiodiicola* (O.o) em serpentes.

1. Introdução

Pode haver a introdução silenciosa do Bd em populações de anfíbios em regiões remotas e de pouco acesso, contudo, áreas de maior concentração antrópica também estão mais expostas à contaminação por Bd. Este fungo está associado aos corpos d'água e sobrevivem mesmo na ausência de anuros. Nestes animais geram lesões em uma parte da população e as lesões podem levar ao aumento da mortalidade ou mesmo à extinção local de algumas espécies mais sensíveis.

Ao se observar uma maior mortalidade de anuros ou a diminuição abrupta de populações em um determinado local, deve-se proceder com o protocolo de detecção do Bd.

2. Coleta de animais

Os animais deverão ser coletados mediante licença SISBIO.

Os anuros sob suspeita deverão ser observados em lupa para a presença de lesões na pele. A detecção se dá, principalmente, no aparato bucal dos girinos, onde é possível observar à lupa, a despigmentação e perda da queratina dos dentículos e bico córneo (Figura 1). Perde-se, portanto, a anatomia bucal padrão dos girinos daquela espécie. Outros contaminantes podem gerar lesões similares, portanto, é necessário que se faça o teste laboratorial para a confirmação da presença dos zoosporângios característicos deste fungo.

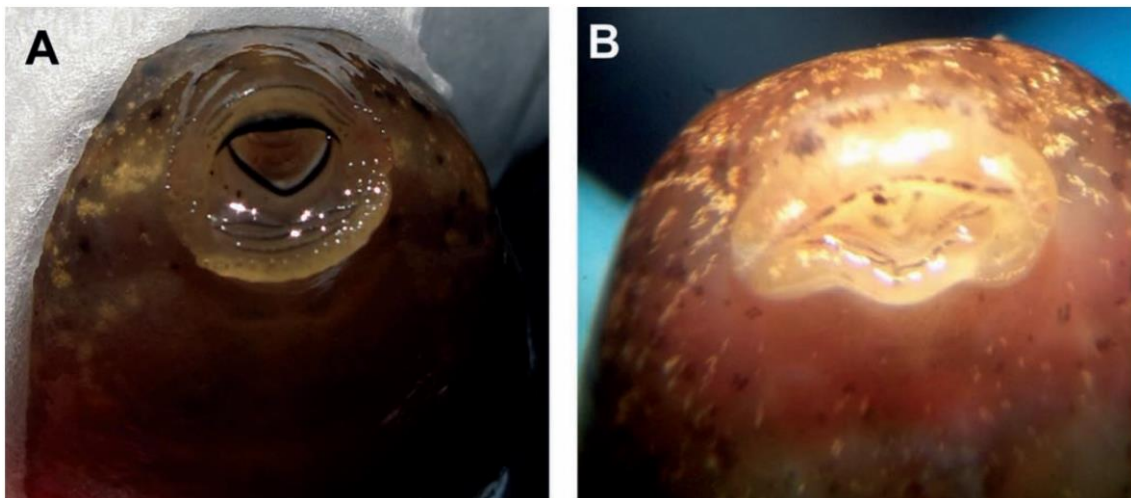


Figura 1: Aparato bucal de girino em conformação normal (A); aparato bucal de girino com lesão decorrente de Bd (B). (fonte: Lambertini *et al.* 2013)

3. Identificação microscópica

Os anuros identificados com lesão deverão ser eutanasiados e um corte do aparelho bucal deve ser colocado em uma lâmina com água destilada. O material deve ser cortado em pequenos pedaços com um bisturi e então coberto com uma lamínula e colocado em aumento de 400x no microscópio ótico. A presença de zoosporângios pode ser visualizada conforme ilustrado na figura 2 (C).

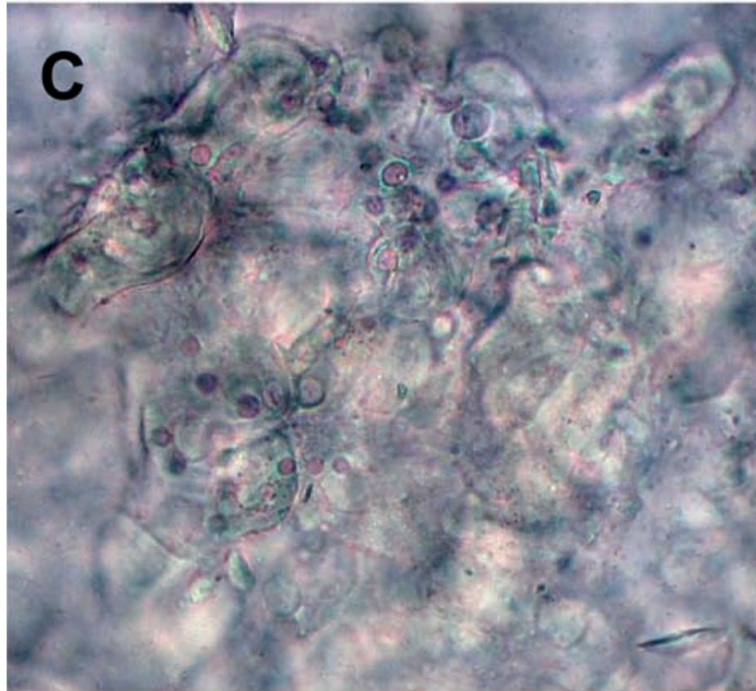


Figura 2: Aparato bucal de girino com lesão e a presença de zoosporângios em aumento de 400x sem corantes, caracterizando a presença de Bd (C). (fonte: Lambertini *et al.* 2013)

4. Coleta de material biológico (SWAB)

Para animais adultos ou animais raros ou ameaçados de extinção, recomenda-se a coleta de material biológico com o uso de um swab estéril. O animal deve ser manuseado com luvas limpas, trocando a luva para cada animal, evitando contaminação cruzada. O swab deve ser passado cinco vezes na região inguinal de cada lado e cinco vezes nas membranas (ou região) interdigital de todos os membros do indivíduo (Hyatt *et al.* 2007) (Figura 3). Este swab pode ser armazenado em criotubo seco ou embebido em álcool PA, e estocado congelado até o momento da análise, que deve ser feita em laboratório especializado.



Figura 3: Coleta de amostra com uso de swab em região inguinal (D). (fonte: Lambertini *et al.* 2013)

5. Considerações finais

Podem ser necessários outros estudos como a quantificação do grau de infecção ou a coleta de amostras biológicas para extração de DNA e outros métodos moleculares. Nestes casos, sugere-se entrar em contato com a coordenação do PAN para identificar um especialista que possa auxiliar no processo. Deve-se ter cuidado com a presença de falsos negativos nas amostras, especialmente quando a carga de infecção é baixa.

A detecção de Bd em alguma população de anuro em qualquer classificação de ameaça ou considerada deficiente de dados (DD), ou mesmo nas áreas prioritárias para a conservação identificadas pelo PAN-NE devem ser comunicados imediatamente à coordenação deste PAN para eventual medida de manejo, caso necessário.

6. Referências

Hyatt, A.S., D.G. Boyle, V. Olsen, I. Berger, D. Obendorf, A. Dalton, K. Kriger, A. Hero, H. Hines, R. Phillot, R. Campbell, G. Marantelli, F. Gleason e A. Colling. 2007. Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 73:175-192.

Lambertini, C., D. Rodriguez, F. B. Brito, D. S. Leite e L. F. Toledo. 2013. Diagnóstico do fungo Quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Herpetologia Brasileira*. Vol. 2 (1). 12-17.

(<http://public.sbherpetologia.org.br/assets/Documentos/2017/04/hb-2013-01-g.pdf>)