



RECOMENDAÇÕES PARA COLETA, PREPARO E PRESERVAÇÃO DE ESPÉCIMES PARA COLEÇÕES CIENTÍFICAS E AMOSTRAS DE TECIDO PARA INVESTIGAÇÕES MOLECULARES

Ana C. Pavan & Renato Gregorin

1. INFORMAÇÃO ASSOCIADA AO MATERIAL

A seguir apresentamos algumas recomendações e referências para coleta e preservação de espécimes e obtenção de amostras de tecido para investigações moleculares. Como orientação inicial, é muito importante destacar que material biológico sem dados associados é de pouca utilidade. Por isso, é fundamental que pesquisadores, ao coletarem espécimes/amostras em campo, registrem da maneira mais acurada possível as informações relativas à obtenção do material. Esses dados tornam-se ainda mais relevantes com o passar dos anos, à medida que os habitats de onde as amostras procedem são modificados ou destruídos por atividades humanas, e essas informações tornam-se cada vez mais difíceis de serem verificadas.

Convencionalmente, os espécimes ou amostras coletadas devem estar associados a um mínimo de dados registrados, e de modo consistente, facilitando assim a transmissão inequívoca dessa informação e assegurando que o material possa ser utilizado futuramente para uma gama maior de investigações. Dentre as informações essenciais à identidade do material, incluem-se: número de campo (iniciais do pesquisador coletor seguida de numeração sequencial ininterrupta); tipo de preparação (se o espécime foi coletado e quais tipos de amostras foram extraídas – tecido, sangue, ectoparasitas, fezes, etc); identificação, ao menos preliminar (nome científico acompanhado ou não de anotação sobre incerteza do nome, como sinal de interrogação ou a abreviação “cf.” entre gênero e espécie); localidade (preferencialmente com coordenadas geográficas); data da coleta; sexo do espécime e condição reprodutiva (grávida, lactante, testículos visíveis ou inativo); idade (adulto, sub adulto, jovem); e medidas corporais (as mais comuns sendo comprimento do antebraço, comprimento da tíbia e peso). Além disso, é recomendado que se anote as circunstâncias da captura/obtenção do espécime, tais como habitat, método de captura (redes, abrigos, etc), hora, altura (caso o espécime tenha sido capturado em rede) e qualquer outra informação associada à localização e biologia do indivíduo.

2. PREPARO DE ESPÉCIMES PARA COLEÇÕES CIENTÍFICAS

2.1. Etiquetas e identificação

Todas as partes separadas de um mesmo espécime devem ser identificadas com o mesmo número, em etiquetas duráveis, cuja escrita deve ser resistente a álcool e formol. A etiqueta deve ser amarrada ao espécime de modo específico, de modo que o nó não afrouxe ou se desfaça com o transporte do espécime e o tempo. Portanto, aprender como elaborar e fixar uma etiqueta é um dos primeiros passos ao preparo do espécime para sua inclusão em uma coleção científica. As etiquetas mais simples para se utilizar em campo são de papel vegetal de maior espessura, com escrita à lápis (que não sai ou borra em formol/álcool). Ambos os materiais (papel e lápis) são baratos e fáceis de encontrar. Outro tipo de etiqueta frequentemente utilizada em campo são os rotuladores manuais. Neste caso, o custo é um pouco mais elevado e a etiqueta plástica tende a apagar o número com o tempo, mas é pos-

sível obter a numeração devido a marca (relevo) deixado pela impressão, desde que esta seja feita com força suficiente.

2.2. Eutanásia

Procedimentos de eutanásia realizados em animais usados em atividades de ensino ou de pesquisa devem ter a supervisão de um médico veterinário, não obrigatoriamente presencial. Essa exigência foi normatizada em 2012 pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e confirmada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) por meio da Resolução Normativa nº 37, do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). A diretriz da prática de eutanásia do Concea, disponibilizada no site do Sbeq, descreve os métodos considerados aceitáveis de eutanásia, suas vantagens e desvantagens, e recomendações para os diferentes grupos animais. O documento não faz menção direta a quais métodos podem ser aplicados a morcegos, mas permite uma clara interpretação da sua adequabilidade baseada nas características biológicas do grupo (mamíferos de pequeno porte). Os métodos de eutanásia mais comumente adotados em morcegos, e aprovados pela American Society of Mammalogists (ASM), são a injeção letal (contendo substância anestésica), inalantes tóxicos (tais como éter), deslocamento cervical com alicate de bico fino e compressão torácica, que devem ser utilizados com critério conforme a situação, porte do indivíduo e experiência do profissional. Recomenda-se a leitura do documento elaborado pelo Concea, assim como do guia da ASM para uso de mamíferos silvestres em pesquisa (Sikes and Mammalogists 2016).

2.3. Técnicas de preservação de espécimes

Diferentes métodos de preservação resultam em espécimes úteis para diferentes propósitos. Um método bastante comum em outros grupos taxonômicos (roedores, marsupiais e aves) é a preservação do espécime como “pele e crânio”, onde o corpo do indivíduo é taxidermizado, ou seja, submetido a um processo de preservação onde a pele é separada da carcaça e montada com algum preenchimento (Fig. 1). Esse método é vantajoso por preservar a coloração e padrões de bandejamento na pelagem, o que é importante para identificação em muitos grupos, porém requer tempo e habilidade e, no caso dos morcegos, pode resultar em perda de informação na morfologia da face do indivíduo, que frequentemente contém informações taxonômicas relevantes. Se o animal for taxidermizado e a carcaça não preser-



Figura 1. Parte de uma série de espécimes de *Pteronotus davyi* preservada como pele e crânio na coleção da Universidade do Kansas (KU Biodiversity Institute & Natural History Museum). Foto: A. C. Pavan.

vada, perde-se também partes importantes para estudos anatômicos e mesmo ecológicos, como conteúdo estomacal. Outro método de preservação utilizado é o preparo do esqueleto completo, que sacrifica os órgãos internos do indivíduo e, às vezes, sua morfologia externa (quando a pele não é taxidermizada), mas possui a vantagem de revelar aspectos da morfologia esquelética que normalmente ficam inacessíveis em outros tipos de preparo.

Para morcegos, porém, o modo mais comumente utilizado no Brasil consiste na fixação do espécime inteiro em formol e a subsequente manutenção em álcool. Esse método é simples e rápido, e preserva toda a morfologia do indivíduo. Espécimes mantidos em álcool também são a melhor opção para futuras disseções e investigações da morfologia interna. Há algumas desvantagens: 1) a coloração da pelagem tende a desbotar no álcool; 2) a análise precisa da coloração da pelagem fica condicionada à secagem do espécime, o que pode causar desidratação ou até mesmo dano; 3) partes do esqueleto não estão diretamente acessíveis para estudo. Tais desvantagens, contudo, podem ser superadas através de registros fotográficos de qualidade e de técnicas modernas de investigação, tais como a tomografia computadorizada (CT scan). O método de preservação em álcool torna-se mais informativo quando associado à remoção do crânio do espécime, que pode ser feita através de uma pequena incisão da parte posterior da cabeça ou através da boca. O crânio extraído deve então ser limpo, i.e., ter toda a parte mole associada removida (o que comumente é feito com o uso de uma colônia de larvas de besouro *Dermestes* spp.) e armazenado em via seca. Como a verificação do crânio é muitas vezes imprescindível para a identificação correta em morcegos, espécimes preservados em meio líquido, mas com o crânio mantido separadamente são de grande utilidade em coleções e em estudos de sistemática. A remoção do crânio deve ser feita com o máximo de cautela para garantir que não ocorram quebras em regiões frágeis, tais como os arcos zigomáticos e a base craniana, e para preservar caracteres importantes do espécime que será mantido em álcool, tais como face e orelhas. Para isto, deve-se ter um conhecimento da morfologia da espécie antes que seu crânio seja removido, e muitas vezes é necessário a utilização de um estereomicroscópio (lupa) para o procedimento. Diferentes métodos de preparo devem ser combinados no caso de uma série de espécimes de uma mesma espécie e localidade ter sido coletada, de modo a maximizar sua utilidade numa coleção científica.

2.4. Preservação de espécimes em meio líquido

A preservação de espécimes em meio líquido inclui três principais etapas: 1) preparação do espécime; 2) fixação do espécime; e 3) transferência do espécime para um meio de armazenamento. A primeira etapa para a preservação de espécimes em coleções científicas consiste em, com o indivíduo morto, tomar suas medidas e registrar todas as informações relevantes em um catálogo. Uma etiqueta resistente a líquidos deve ser amarrada em uma das pernas do espécime. O posicionamento dessa etiqueta é muito importante e não pode comprometer a análise morfológica do espécime posteriormente; ela deve ser amarrada sempre de modo a ser projetada na parte dorsal do indivíduo, com uma distância de ao menos 1 cm de linha conectando as duas partes, para permitir a livre manipulação da etiqueta. Recomenda-se o posicionamento da etiqueta no meio da perna do indivíduo, inserindo a linha através da membrana da asa e da cauda com o uso de uma agulha (Fig. 2). Amarrar a etiqueta apenas no tornozelo do indivíduo pode provocar distorções permanentes no calcar dos espécimes em que essa estrutura é bem desenvolvida. Também é importante abrir a boca do espécime e inserir uma quantidade de algodão capaz de mantê-la aberta, o que permitirá que dentes e outras estruturas orais fiquem visíveis para inspeção após o animal ser fixado (Fig. 3). Por fim, o posicionamento do espécime numa postura apropriada para preservação é fundamental, e deve ser feito antes que a rigidez muscular consequente da morte ocorra. O espécime pode ser apoiado e preso a uma superfície plana para facilitar a manipulação.

Em geral, placas de isopor são uma boa opção, pois são baratas, leves e permitem a inserção de alfinetes. As asas devem estar parcialmente flexionadas, paralelamente ao corpo de modo que não se sobreponham ao abdômen ou face, as pernas devem estar estendidas posteriormente (e não cruzadas na frente do abdômen), o pescoço deve estar estendido para expor a região da garganta e as orelhas expandidas (Fig. 4). Além dessa postura de preservação otimizar o armazenamento e retirada dos espécimes de recipientes posteriormente, ela facilita o exame de estruturas de relevância taxonômica e viabiliza estudos anatômicos, tais como dissecação de conteúdo abdominal e musculatura torácica.



Figura 2. Preparo de espécimes de *Noctilio leporinus* (esquerda) e *N. albiventris* (direita) em campo para preservação em meio líquido, com detalhe do posicionamento da etiqueta. Foto: A. C. Pavan.

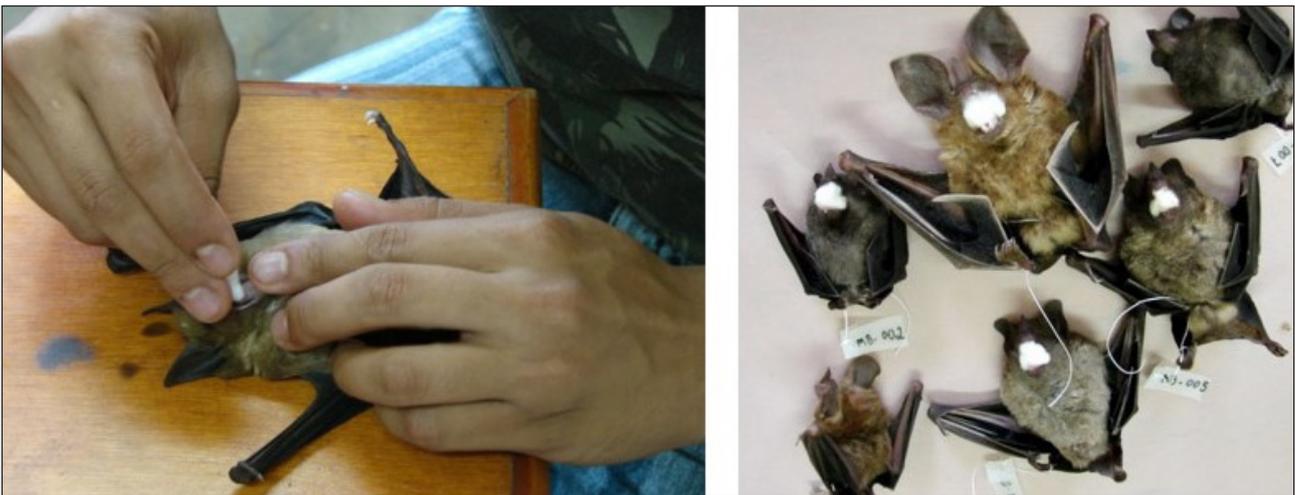


Figura 3. Preparo de espécimes da Família Phyllostomidae, destacando a inserção de algodão na boca dos indivíduos durante o processo de fixação, o que permitirá posteriormente a análise da dentição. Foto: M. Zortéa



Figura 4. Posicionamento de espécimes de morcegos em uma bandeja com isopor para fixação em solução de formol. Foto: M. Zortéa.

A fixação do espécime requer sua exposição a uma solução de formol 10% por um intervalo de tempo proporcional ao tamanho do indivíduo. É importante lembrar que o formol comercial é uma solução aquosa do formaldeído (em geral 40%); esta deve ser considerada como a concentração absoluta e, logo, a diluição feita é de uma parte de formol 40 para nove partes de água. Este produto é altamente irritante e tóxico, além de inflamável e, portanto, o procedimento de fixação deve ser realizado em ambiente arejado (preferencialmente ao ar livre) com o uso de luvas de procedimento e óculos de proteção.

Para garantir uma boa preservação, o espécime deve ter as cavidades abdominal e torácica preenchidas com a solução de formol, o que pode ser feito com o uso de uma seringa (Fig. 5). Em indivíduos de maior porte, também é aconselhado injetar pequenas quantidades da solução na massa muscular, por exemplo nas costas, próximo ao encéfalo, na barriga e peito do animal. Além disso, é importante que o espécime seja imerso na solução. A fixação ocorre mais rapidamente e de modo mais homogêneo se a pelagem dos espécimes for umedecida antes da imersão, pois os pelos secos agem



Figura 5. Método de preenchimento da cavidade abdominal com solução de formol, o que garante a fixação das partes moles internas. Foto: M. Zortéa

como uma barreira para o contato do formol com a pele. O tempo de fixação é crucial para uma boa preservação do material a longo prazo. A quantidade de espécimes imersos ao mesmo tempo em uma solução de formol influencia na eficácia do processo e, como regra, o volume de solução utilizado deve sempre ser superior a duas vezes o volume ocupado pelo agregado de espécimes. A exposição ao formol deve ocorrer por tempo suficiente para assegurar a preservação de todos os tecidos moles do espécime; contudo, mantê-lo no formol por um período muito longo resultará em um espécime muito rígido e quebradiço. Indivíduos de espécies de pequeno e médio porte geralmente estão fixados entre 1 a 2 dias em formol, mas espécimes maiores (mais que 100 g) podem requerer mais tempo. Para determinar se um espécime está adequadamente fixado, a região abdominal ou musculatura peitoral deve apresentar uma consistência mais firme (leve resistência) quando pressionada.

Após fixação, os espécimes podem ser embalados para transporte (por exemplo, do campo para o laboratório ou coleção onde serão mantidos), envolvidos individualmente em gaze umedecida com solução de formol e selados em plástico com o mínimo de ar possível. O armazenamento permanente dos espécimes é feito em frascos com álcool 70%. Antes de transferi-los para o álcool, aconselha-se enxaguar rapidamente os espécimes em água corrente para eliminar resíduos de formol e em seguida retirar o excesso de água, para não interferir na concentração da solução de álcool utilizada para armazenamento.

3. COLETA E ARMAZENAMENTO DE TECIDOS

A coleta de tecidos visa à obtenção de amostras para sua utilização imediata em investigações científicas ou para seu armazenamento em bancos de tecidos. Tais bancos possuem como objetivo a estocagem de amostras que poderão ser requisitadas futuramente, consti-

tuindo importantes repositórios e provedores para pesquisas que incorporam dados moleculares, desde estudos que visam identificar espécimes por meio de marcadores moleculares (DNA *barcoding*), passando por abordagens filogenéticas, populacionais e epidemiológicas, até investigações mais amplas envolvendo variação em escala genômica e transcriptômica. A seguir são apresentadas recomendações para obtenção e armazenamento de amostras de maneira invasiva, que envolve a coleta do espécime, e não letais, onde o indivíduo é solto depois.

3.1. Material e preparação

Inicialmente, é importante que se tenha uma infra-estrutura mínima durante as atividades de campo, de modo a permitir a amostragem em condições estéreis e o armazenamento adequado. Instrumentos geralmente utilizados incluem lâmina para bisturi, tesoura e pinça de taxidermia, papel alumínio, algodão/papel toalha, papel vegetal e lápis/caneta nanquin, e solução comercial para esterilização (alternativamente, água oxigenada 10 volumes, água sanitária 10%, formol 10% ou bico de Bunsen para flambagem). O cuidado com os instrumentos utilizados para a retirada e manuseio do tecido é imprescindível para que contaminações sejam evitadas. Pinças, tesouras e bisturis devem ser sempre esterilizados entre os procedimentos. Para o armazenamento, tubos próprios ao congelamento e com sistema de vedação com tampa de rosca (criotubos), com capacidade entre 1.5 e 2 mL, são ideais; outros tipos de tubos (p. ex., eppendorfs comuns) são pouco resistentes, podendo trincar quando submetidos a grandes impactos ou temperaturas muito baixas, e seu sistema de fechamento da tampa por pressão permite o vazamento de álcool. Uma identificação adequada da amostra em campo, assim como ocorre no espécime coletado, é crucial. Para isso, o tubo deve ser devidamente identificado antes da amostra ser inserida, de modo a evitar trocas acidentais. O número que identifica a amostra é sempre o mesmo do espécime associado; da mesma maneira, múltiplas amostras retiradas do mesmo indivíduo (ex.: tecido, sangue e fezes) devem ter o mesmo número de identificação. Anotações devem ser feitas no lado externo do tubo utilizando um marcador permanente (à prova de álcool) ou lápis e, também, em uma etiqueta de papel vegetal que é inserida dentro do tubo junto com a amostra. A identificação dentro do tubo é particularmente recomendada caso a identificação externa seja feita sem um marcador permanente, ou seja, se possuir alguma chance de ser apagada com o tempo.

3.2. Amostragem

Inúmeros tipos de tecidos são utilizados em estudos moleculares, incluindo fígado, baço, rim, pulmão, coração e músculo. Quando a amostragem de tecido está associada à coleta do espécime, o tempo decorrido desde a morte do animal é muito relevante. Vísceras no geral são mais suscetíveis à autólise do que musculatura esquelética. Sendo assim, deve-se optar pela retirada de músculo em situações em que o tempo transcorrido entre a morte do espécime e a obtenção do material é desconhecido, ou quando não existe um tecido-alvo para amostragem. O músculo pode ser retirado do antebraço (animais de médio a grande porte) ou da região peitoral (animais de pequeno porte). A remoção da pele e dos pelos antes da amostragem do tecido que será armazenado é indicada, pois isso evita contaminações. Quando o indivíduo for taxidermizado ou tiver o crânio removido em campo, outra opção é amostrar a musculatura da cabeça.

Se a amostragem de órgãos internos é necessária ou indicada, ela deve ocorrer imediatamente após a morte do indivíduo. A incisão deve ser feita primeiro na pele, depois na musculatura subjacente e, por fim, no peritônio. Se o morcego possuir pelos muito longos na região ventral, estes podem ser aparados com o uso de uma tesoura, para facilitar a visualização. Ao realizar a incisão, é importante o conhecimento sobre a localização do órgão que

se deseja remover dentro da cavidade torácica/abdominal, de modo a reduzir o tamanho do corte e o dano ao espécime. No caso do fígado, por exemplo, que é a víscera mais comumente extraída, a incisão deve ser feita em plano transversal no lado esquerdo do espécime, logo abaixo da caixa torácica; incisões feitas na parte distal do abdômen geralmente expõem o intestino, enquanto cortes mais sagitais levam ao estômago. O corte não pode ser muito profundo para não atingir o órgão, que é delicado e altamente irrigado. Após exposição do fígado, basta uma compressão na área próxima à incisão para que ele seja gradualmente expelido através da incisão na pele. Uma pinça pode ser utilizada para auxiliar na retirada do órgão da cavidade. Porém, pinças de ponta fina muitas vezes acabam por perfurar o órgão, o que provoca sangramento e causa seu dilaceramento (particularmente comum no caso do fígado); o uso de uma pinça com ponta romba é mais adequado.

Quando o espécime é de pequeno porte, a localização do órgão torna-se um pouco mais difícil. Além disso, muitas vezes é interessante a retirada de mais de um tipo de tecido, como complemento. Cabe ainda destacar que, sempre que possível, os outros órgãos devem ser mantidos integralmente no animal, uma vez que podem ser usados em estudos futuros. Além da necessidade de sacrificar o animal, esse tipo de amostragem possui como desvantagem o fato de órgãos internos estarem mais susceptíveis à elevada atividade enzimática e estresse inflamatório consequente do momento da eutanásia, o que pode causar viés em estudos proteômicos e transcriptômicos e contaminar extrações de DNA genômico com transcritos de RNA que interferem no sequenciamento. A remoção desses tecidos específicos é, contudo, fundamental em diversos casos, como em estudos epidemiológicos, metabólicos e de expressão, porém requer mais agilidade e habilidade, devido a necessidade de abertura do espécime, vulnerabilidade dos órgãos e exposição da pessoa a patógenos presentes no morcego. Deve ser levado em consideração, portanto, um maior número de procedimentos de biossegurança.

No caso de amostragem não-letal, o procedimento mais comum é retirar um pequeno fragmento do patágio do indivíduo (no inglês, *wing punch*). O tamanho da amostra varia conforme o tamanho do morcego, mas no geral está entre 3 e 8 mm de diâmetro. O método é indolor e raramente acarreta em problemas ao morcego. Baseado em recapturas feitas, foi observado que os buracos na membrana geralmente se fecham em 2-4 semanas e, portanto, não existem efeitos a longo prazo. Morcegos são frequentemente capturados em redes com injúrias nas asas maiores que os buracos deixados por *wing punches*, e essas injúrias não parecem resultar em perda de capacidade de vôo. Para diminuir o risco da amostragem por *wing punch* prejudicar o indivíduo, recomenda-se que o corte no patágio seja feito próximo ao corpo, entre a perna e o quinto dígito (plagiopatágio), e fora de vasos sanguíneos maiores (facilmente visualizados quando a luz da lanterna é colocada contra a asa do morcego). A amostragem é facilmente realizada através de pequenos instrumentos próprios para a biópsia (*biopsy punches*); entretanto, esse material ainda não é vendido no Brasil. Como alternativa, o corte pode ser feito com pinça e tesoura esterilizadas, de modo a evitar infecções na região. O morcego deve estar contido sobre uma superfície plana, com a asa não completamente estendida, de modo que seja possível pinçar uma pequena área e cortá-la. Após a retirada da amostra de patágio, pode-se aplicar na região antisséptico em spray ou algodão umedecido com álcool para evitar contaminação por micro-organismos.

3.3. Método de preservação

O método de preservação é crucial na durabilidade da amostra coletada, com a taxa de sucesso no isolamento de quantidades satisfatórias de DNA sendo gradualmente afetada pelo tempo. O processo de degradação do DNA tem início no momento em que o indivíduo morre. A maioria das enzimas possuem uma temperatura ótima de atividade entre 37 e

40°C e por isso uma das medidas mais importantes para a preservação do material a longo prazo é o resfriamento; no geral, quanto mais frio, melhor. Trabalhos sugerem que os melhores resultados em estudos moleculares com vertebrados são obtidos a partir de tecido fresco ou congelado imediatamente após coleta em nitrogênio líquido ou gelo seco, sem adição de nenhuma solução no interior do tubo. Entretanto, esse método é inviável na grande maioria das situações em campo. Alternativamente, o etanol pode ser um excelente agente de preservação, permitindo a obtenção de quantidades de DNA em laboratório quase equivalentes às obtidas a partir de amostras criopreservadas, e usando um protocolo de preservação menos complexo. Entretanto, a concentração e qualidade do etanol utilizado são aspectos críticos. Embora soluções de etanol 70% sejam comumente utilizadas em campo, o tecido armazenado em tal concentração tende a apresentar uma menor vida útil do que quando preservado em etanol 92-100%. Além disso, etanol puro (de laboratório) deve sempre ser utilizado; o álcool comum, comercializado em mercados e farmácias, é metilado, o que o torna prejudicial ao DNA.

Outro ponto importante é o volume de etanol em relação à quantidade de tecido que se deseja preservar; uma elevada proporção de etanol deve sempre ser utilizada, de modo a minimizar a diluição causada pela água que está no tecido, e que será misturada ao meio à medida que o tecido é desidratado pelo álcool. O tecido retirado do animal deve ser colocado sobre uma superfície estéril, por exemplo, um pedaço de papel alumínio, e fracionado em pequenos pedaços (~5mm de diâmetro) antes de ser armazenado no tubo. Esse processo garante o aumento da superfície de contato da amostra e otimiza a penetração do etanol. Tecidos hepático e pulmonar, por serem porosos, são mais permeáveis ao álcool, e mais facilmente fixados do que musculatura, por exemplo. Caso uma quantidade de tecido seja armazenada em um tubo proporcionalmente pequeno, ou seja, que não tenha capacidade para um volume de etanol duas vezes superior ao volume da amostra, recomenda-se a substituição do etanol dentro de 2 ou 3 dias para garantir a fixação do tecido. Alternativamente, pode-se optar para a produção de duas ou mais alíquotas (diferentes tubos) de um mesmo espécime. Tecidos preservados em etanol de maneira adequada não precisam ser resfriados imediatamente (i.e., ainda em campo), mas devem ser posteriormente transferidos para freezers ou ultrafreezers de modo a garantir sua conservação a longo prazo.

Amostras de patágio também podem ser preservadas em etanol, assim como é feito com os demais tecidos, ou dissecados em sílica gel, sendo o último método mais recomendado. Esse sal é normalmente comercializado na forma de esferas ou grãos de tamanhos variáveis, que absorvem e retêm água do ar e dos materiais que estão em contato com ele. Um estudo recente concluiu que amostras de patágio dissecadas pela sílica produzem significativamente mais DNA genômico que aquelas preservadas em etanol ou solução salina. Esferas de sílica não possuem elevado custo, são de fácil aquisição e armazenamento e não apresentam restrições em viagens aéreas por não serem líquido ou inflamável. Ao adquirir a sílica gel, é importante apenas ter em mente o tamanho das esferas, de modo que uma quantidade mínima caiba no tubo e fique em contato com o patágio amostrado. Para assegurar uma boa preservação do DNA a longo prazo, o tubo da amostra pode ser mantido em freezer com a sílica gel.

3.4. Armazenamento e transporte

O procedimento para armazenamento e transporte de tecidos depende do tipo de preservação utilizado. É fundamental que autorizações para transporte de amostras biológicas e regulamentações relativas à existência de agentes químicos e líquidos em viagens aéreas tenham sido obtidas/verificadas com antecedência. Por garantia, é sempre mais seguro armazenar amostras em recipientes resistentes e isolados de fontes de luz e calor.

4. REFERÊNCIAS PARA CONSULTA

- CORTHALS, A. ET AL. 2015. From the field to the lab: Best practices for field preservation of bat specimens for molecular analyses. *PLoS ONE* 10:1-12.
- PRENDINI, L., R. HANNER, AND R. DESALLE. 2002. Obtaining, storing and archiving specimens and tissue samples for Use in Molecular Studies. *Techniques in Molecular Systematics and Evolution*:176-248.
- SIKES, R. S., AND A. C. AND U. C. OF THE A. S. OF MAMMALOGISTS. 2016. 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of mammalogy* 97:663-688.
- SIMMONS, N. B., AND R. S. VOSS. 2009. Collection, preparation, and fixation of specimens and tissues. Pp. 849-867 in *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. (T. KUNZ & S. PARSONS, eds.). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.