

## **Implementação de nanochip como método de marcação em juvenis de axolote (*Ambystoma mexicanum*), Oceanic Aquarium, Balneário Camboriú.**

MESSENGER, Rafaella<sup>1</sup>; FORMAGIO, Juliana<sup>1</sup>; ARDANAZ, Renata<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Médica veterinária do Oceanic Aquarium.

### **RESUMO**

O axolote, *Ambystoma mexicanum*, é um anfíbio criticamente ameaçado, neotênico, com capacidade de regeneração, amplamente utilizado para estudos científicos. O objetivo do estudo é descrever a implementação de nanochip como método de marcação para juvenis de *A. mexicanum*. 23 animais, com média de 100 g, foram microchipados na região da base da cauda e acompanhados por 5 meses quanto a mobilidade, comportamento, crescimento e sobrevivência. Os resultados foram positivos, sem qualquer reação a essa técnica de marcação. Devido a isso, recomendamos a marcação por nanochip para axolotes jovens, considerando a praticidade, o tempo e os resultados obtidos envolvidos na aplicação dessa técnica.

**Palavras-chave:** anfíbios; técnica de marcação.

### **INTRODUÇÃO**

*Ambystoma mexicanum* é um anfíbio caudado único, endêmico da região central do México. É um organismo neotênico, com capacidade de regeneração de múltiplos tecidos e estruturas corporais complexas, incluindo membros, cauda, pele, medula espinal, tecido muscular, coração e cérebro (Galerani, Soffo e Felipe, 2021; Martinez-Barnetche *et al.*, 2022). É uma espécie ameaçada de extinção, atualmente seu estado de conservação está listado como Criticamente Ameaçado pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2020).

Embora métodos de marcação menos invasivos estejam disponíveis, seu uso é frequentemente dificultado por uma série de limitações. Por exemplo, no caso de anfíbios tem sido utilizado; padrões de pele individuais, o rastreamento por rádio a remoção completa ou parcial dos dígitos e mais recentemente, a injeção subcutânea de elastômero visível de silicone. Os microchips também são utilizados como técnica de marcação, mas gera altos custos de investimento (Daversa *et al.*, 2023).

Um princípio fundamental da marcação da vida selvagem é a minimização da dor e do sofrimento, idealmente, a marca não deve prejudicar o bem-estar do indivíduo marcado (Locatelli *et al.*, 2019; Daversa *et al.*, 2023). No intuito de encontrar um método de marcação apropriado é necessário que se leve em consideração fatores como: estresse causado pela manipulação, fácil identificação, validade para a duração do estudo em questão, se é economicamente viável e se afeta a mobilidade, comportamento, crescimento e mortalidade da espécie estudada (Mellor & Beausoleil *et al.* 2004). Neste estudo, o método escolhido foi a implementação de microchip por via intramuscular., um método fácil, pouco invasivo, mas sem dados disponíveis sobre a influência desse método de marcação no crescimento e sobrevivência de axolotes.

### **OBJETIVOS**

Avaliar os efeitos, a curto e médio prazo, da implementação de marcação por nanochip em juvenis de axolote (*Ambystoma mexicanum*), buscando um melhor método para diferenciar e assegurar o registro dos indivíduos, facilitar o manejo individual e acompanhar o desenvolvimento dos animais.

## **METODOLOGIA**

Para proporcionar a diferenciação entre os animais e acompanhar o desenvolvimento destes, foram implantados nanochips em 23 axolotes juvenis, mantidos sob cuidados profissionais, sendo seis albinos, oito leucísticos e nove selvagens. Todos os animais são de terceira geração, nascidos e mantidos no Oceanic Aquarium. Os animais nasceram em dezembro de 2022 e foram marcados sete meses depois, em julho de 2023, com intuito de facilitar o manejo individual dos espécimes. Cada animal foi primeiramente anestesiado em banho de imersão com propofol na dose de 88 ml/L (Carpenter, 2018), diluído diretamente na água, para indução anestésica por via branquial e, ocasionalmente, por via transdérmica. Em seguida foi feita a aplicação do nanochip, com aplicador individual, esterilizado e descartável, realizada por via intramuscular, na região da base da cauda, acima dos membros posteriores esquerdos. O nanochip possui 8mm de comprimento, 1,4 mm de diâmetro e são encapsulados em vidro biocompatível. O peso dos transmissores (10 mg) era inferior a 1% do peso corporal total dos axolotes (variação de 52 a 193 g).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após a implantação do nanochip, os axolotes retornaram para os aquários e foram acompanhados durante cinco meses, quando então completaram um ano de vida, quanto a capacidade de alimentação, movimentação e crescimento de cada indivíduo.

A marcação pode reduzir diretamente a sobrevivência por meio de deficiências físicas, mas mesmo quando elas não ocorrem, pode provocar respostas comportamentais imediatamente após a marcação, afetando diretamente o bem estar e a sobrevivência dos indivíduos. As respostas comportamentais de curto prazo à marcação têm sido amplamente inexploradas (Iannella *et al.*, 2017; Daversa *et al.*, 2023), uma lacuna de conhecimento que pode ignorar oportunidades para melhorar o bem-estar sem abandonar os métodos de marcação. Nenhum dos indivíduos apresentou reação adversa, impedimento do crescimento ou rejeição tecidual ao nanochip implantado, além disso, também foi avaliada a permanência do nanochip no local correto e não foi constatada nenhuma alteração quanto a localização do microchip. Também não foram observados nenhum sinal inflamatório, nem clínico.

## **CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos, propõe-se que o uso do nanochip seja implementado como uma técnica de marcação segura e de baixo estresse para o axolote (*A. mexicanum*), podendo assim identificar os indivíduos, além de ser aplicado para estimar parâmetros populacionais (nascimento, morte, transferência, sobrevivência, etc.) e padrões espaciais (área de vida, distância de dispersão, etc.) (Andis, 2018).

Esta técnica tem a vantagem de ser pouco invasiva, causando trauma leve e não implicando em possíveis reações, podendo ser implementado em outras espécies de *Ambystoma*. É um método de marcação consistente e facilmente detectável com alta precisão,

através do leitor de microchip, e não resulta em efeitos negativos na sobrevivência ou no desenvolvimento dos indivíduos marcados.

Há pouca literatura e informações sobre o uso de microchip em axolote. O presente trabalho contribui para auxiliar no manejo desses animais *in-situ* e *ex-situ*, facilitando a diferenciação dos espécimes e promovendo um melhor acompanhamento do desenvolvimento desses animais. Além de poder ser aplicado para estudos de avaliações das populações nas estimativas de densidades e diferenciação *in situ* e *ex situ*.

## REFERÊNCIAS

Andis, A. Z. A new, noninvasive method of batch-marking amphibians across developmental stages. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 13, n. 2, P. 423–432. Ago. 2018.

Carpenter, J. W. **Exotic Animal Formulary**. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2018. 776 p.

Daversa, D. R.; Baxter, E.; Rosa, G. M.; Sergeant, C.; Garner, T. W. J. Standard methods for marking caudate amphibians do not impair animal welfare over the short term: an experimental approach. **BioRxiv**. 2023.

Galerani, G.; Soffo, I. M. e Felipe, N. F. Celiotomy and gastrotomy for surgical removal of foreign bodies in axolotl (*Ambystoma mexicanum*): case report. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 28, n. 1, p. 3-8, 2021.

Iannella, M.; Liberatore, L.; Biondi, M. Marking tadpoles with Visible Implant Elastomer (VIE) tags: methods for improving readability and decreasing mortality. **Salamandra**. v. 53, p. 531-536. Out. 2017.

IUCN - The IUCN Red List of Threatened Species. 2020. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/1095/53947343>. Acessado em 23 de abril de 2024.

Locatelli, A.G.; CiuL, S.; Presetnik, P.; Toffoli, R.; Teeling, E. Long-term monitoring of the effects of weather and marking techniques on body condition in the Kuhl's pipistrelle bat, *Pipistrellus kuhlii*. **Acta Chiropterologica Journal**. v. 21, p. 87-102. Out. 2019.

Martinez-Barnetche, J.; Godoy-Lozano, E.E.; Saint Remy-Hernández, S.; Pacheco-Olvera, D.L.; Téllez-Sosa, J.; Valdovinos-Torres H; Pastelin-Palacios, R.; Mena-González, H.; Zambrano-Gonzalez, L.; López-Macías, C. Subfunctionalization and constrained size of the immunoglobulin *loci* in *Ambystoma mexicanum*. **BioRxiv**, 2022.

Mellor, D. J.; Beausoleil, N. J.; Stafford, K. J. Marking amphibians, reptiles and marine mammals: animal welfare, practicalities and public perceptions in New Zealand. **Animal Welfare Science and Bioethics Centre**. Wellington. Department of Conservation. 2004. 55 p.