

PROJETO ONÇA

ALTO RIO PARANÁ



Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema - MS

Relatório Final 2004/2006

Parceiro:



Financiador:



PROGRAMA

“ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO E MANEJO
***IN SITU E EX SITU* DE GRANDES FELINOS**
DO ALTO RIO PARANÁ ”

Coordenação:

Dênis Aléssio Sana – Biólogo (Instituto Pró-Carnívoros)

Ronaldo Gonçalves Morato, PhD – Médico Veterinário (Instituto Pró-Carnívoros)

Pesquisadores Associados:

Eduardo Eizirik, PhD – Biólogo (Instituto Pró-Carnívoros)

Laury Cullen Jr., MSc – Engenheiro Florestal (Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPÉ)

Relatório final apresentado à CESP
- Companhia Energética de São Paulo -

Outubro de 2004 a setembro de 2006

Instituto para a Conservação dos Carnívoros
Neotropicais - Pró-Carnívoros

Subprojeto I

Ecologia e conservação de grandes felinos no Alto Rio Paraná

**Dênis Aléssio Sana
Biólogo
Instituto Pró-Carnívoros**

**Laury Cullen Jr
Eng. Florestal
Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPÊ**

**Eduardo Eizirik
Biólogo
Instituto Pró-Carnívoros**

Subprojeto I - Ecologia e conservação de grandes felinos no Alto Rio Paraná

Dênis Aléssio Sana
Biólogo - Instituto Pró-Carnívoros
Laury Cullen Jr
Eng. Florestal - Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPÊ
Eduardo Eizirik
Biólogo - Instituto Pró-Carnívoros

Introdução

Os grandes felinos, como a onça-pintada (*Panthera onca*) e a onça-parda (*Puma concolor*), predadores de topo na pirâmide alimentar, são espécies que desempenham importantes funções na regulação dos processos ecológicos (predador/presa), mantendo a diversidade de espécies e o equilíbrio dos ecossistemas (Terborgh *et al.* 1999). A onça-pintada tem sido utilizada como espécie focal, no planejamento de áreas de conservação, já que as necessidades para sua sobrevivência refletem um ambiente ecologicamente saudável (Miller e Rabinowitz, 1999) e como “detetives ecológicos” da paisagem, na identificação de áreas importantes para a conservação da biodiversidade e no manejo para melhoria de habitat (Cullen *et al.* 2005).

A onça-pintada é considerada criticamente ameaçada na mata atlântica (CBSG, 1995). Com apenas 8% da floresta original, estima-se que sua população é de poucos indivíduos (Leite e Boulhosa, 1999), e em algumas áreas dentro do domínio deste bioma como nas várzeas do rio Paraná (mata atlântica de interior), está distribuída em metapopulações ameaçadas e possivelmente em processo de isolamento (Sana *et al.* 2000).

Esta área úmida têm sofrido grandes impactos ambientais, seja para utilização agro-pastoril ou pela construção de hidrelétricas alagando extensas áreas de várzea. A planície de inundação do alto rio Paraná, na divisa do Mato Grosso do Sul com os estados de São Paulo e Paraná possui apenas 35% de sua extensão livre de barragens (Agostinho e Zalewsky, 1996).

Nesta região desenvolvemos estudos de ecologia envolvendo padrões de movimentos e utilização de área por grandes felinos, dando ênfase às áreas mais preservadas, como o Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEVRI), MS, na jusante da hidrelétrica Sérgio Motta (Porto Primavera). Também é priorizada a espécie *Panthera onca*, devido a sua maior vulnerabilidade e exigências ecológicas, visando auxiliar no plano de manejo regional desta espécie.

Apresentamos neste relatório dados referentes ao trabalho realizado no P. E. do Ivinhema e dados do monitoramento de ocorrências dos grandes felinos na montante de Porto Primavera.

Os trabalhos em parceria do Instituto Pró-Carnívoros e Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ) têm possibilitado uma visão mais ampla da situação das onças-pintadas no Alto Paraná com estimativas de densidade, áreas de vida e seleção de habitat em diferentes ambientes, que contribuirão para planos de conservação da espécie. Portanto são apresentados também dados de toda a região, acessados por este e outros projetos parceiros desenvolvidos na área.

Objetivos

- 1- Mapear áreas de ocorrência de grandes felinos, com enfoque na onça-pintada, no alto rio Paraná.
- 2- Definir as áreas de uso de grandes felinos no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema, MS e áreas adjacentes, estimando densidade das espécies.
- 3- Avaliar a predação de animais domésticos por onça-parda e onça-pintada, nas proximidades do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema e na área de influência do reservatório da UE Porto Primavera.
- 4- Dar subsídios para o manejo de grandes felinos na região, com a continuidade dos estudos genéticos e de radiotelemetria.

Atividades previstas

- Continuidade do monitoramento aéreo e terrestre dos animais aparelhados com transmissores na área de influência do reservatório da UE Porto Primavera.
- Continuidade do monitoramento aéreo e terrestre dos animais aparelhados com transmissores na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema.
- Levantamento de grandes felinos em áreas potenciais de ocorrências no alto rio Paraná, enfocando principalmente a onça-pintada e a área não afetada por hidrelétricas.
- Captura de animais e aparelhamento com transmissores na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema.
- Se necessário, captura de animais e aparelhamento com transmissores, vinculadas às predações de animais domésticos, na área de influência do reservatório da UHE Porto Primavera.
- Coleta de amostras biológicas dos animais capturados no alto rio Paraná (P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema e área de influência do reservatório da UHE Porto Primavera).
- Conservação das amostras biológicas coletadas.

Referências bibliográficas

Agostinho, A. e M. Zalewski. 1996. *A planície alagável do alto rio Paraná: importância e preservação*. EDUEM, Maringá, BR.

CBSG. 1995. *Felid Conservation Assessment and Management Plan and Global Captive Action Recommendations: Review Draft*. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group. Apple Valley, MN, USA.

Cullen, L., Abreu K. C., Sana D. e Nava, A.F.D. 2005. As onças-pintadas como detetives da paisagem no corredor do Alto Paraná, Brasil. *Natureza & Conservação* Vol 3, 1: 43-58

Leite R. P. e Boulhosa R.L.P. 1999. Ecology and conservation of jaguars in the Atlantic Rainforest of Brazil In *El Jaguar en el Nuevo Milenio: Deteccion de Prioridades y Recomendaciones para la Conservacion de los Jaguares en America* Eds RA Medellin, C Chetkiewicz, A Rabinowitz, KH Redford, JG Robinson, E Sanderson e A Taber Universidad Nacional Autonoma de Mexico/Wildlife Conservation Society, Mexico DF.

Miller, B. e Rabinowitz, A. (1999). Why conserve jaguars? In R.A. Medellin, C. Chetkiewicz, A. Rabinowitz, K.H. Redford, J.G. Robinson, E. Sanderson e A. Taber (eds.), *El Jaguar en el Nuevo Milenio: Deteccion de Prioridades y Recomendaciones para la Conservacion de los Jaguares en America*. Universidad Nacional Autonoma de Mexico/Wildlife Conservation Society, Mexico DF.

Sana, D.A., P.G. Crawshaw Jr, R. Morato, e E. Eizirik. 2000. Relatório final do projeto "Translocação e Monitoramento de Grandes Felinos na Área de Influência da UE de Porto Primavera, SP/MS". Associação Pró-Carnívoros / CESP.

Terborgh, J., J. Estes, P. Paquet, K. Ralls, D. Boyd-Heger, B. Miller e R. Noss. 1999. The role of top carnivores in regulating terrestrial ecosystems. Em M. E. Soulé e J. Terborgh (eds.), *Continental conservation. Scientific foundations of regional reserve networks*. Washington, D.C.: Island Press.

CAP. I

Capturas, ocorrências e coletas

Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEIVI)

Área de influência do reservatório da UHE “Sérgio Motta” (Porto Primavera)

Métodos

Capturas

Duas metodologias distintas para a captura de espécimes vivos de grandes felinos têm sido usadas mais freqüentemente: cães rastreadores e armadilhas de ferro do tipo “live-trap”. O primeiro tem sido mais eficiente em áreas extensas, de vegetação aberta e com grande disponibilidade de presas, onde é difícil atrair os animais para armadilhas. Já estas são mais adequadas para áreas florestais.

Na área de influência do enchimento do reservatório foram utilizados cães rastreadores e na área do parque do Ivinhema cães rastreadores e armadilhas.

Nas capturas com cães foram utilizados animais treinados para a captura de grandes felinos, conduzidos por um caçador prático. Ao serem encontrados vestígios recentes de onça, os cães eram soltos. Estes seguiam o animal, forçando-o a subir em uma árvore. Uma vez acuada, a onça era então sedada com dardos contendo substância anestésico-tranquilizante (Zoletil, Virbac do Brasil, SP) disparados por um rifle (CBC, série especial). O monitoramento anestésico teve início tão logo o animal permitiu aproximação. Frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal, eram medidos, quando possível, em intervalos aproximados de 15 min.

Durante a contenção química, procedia-se a biometria, coleta de ectoparasitas e de sangue para análises sorológicas e genéticas. Quando necessário ou possível, atendendo o proposto pelo projeto, os animais adultos capturados foram aparelhados com rádios transmissores VHF com ou sem GPS, sendo deixados no mesmo local da captura, tanto na montante de Porto Primavera quanto no parque do Ivinhema.

No parque do Ivinhema foram realizadas campanhas de sete a vinte dias, com equipes de quatro a sete pessoas, entre biólogos, veterinários, ajudantes e caçador prático. Percorriamos ao amanhecer as estradas do parque buscando vestígios recentes das onças. Em outros momentos procuramos alternativas para otimizar as buscas, passando em outros locais e conversando com moradores do entorno da unidade de conservação. Na montante de Porto Primavera não foram realizadas campanhas, sendo utilizadas ocasiões favoráveis para captura, como a predação de animais domésticos que nos eram relatados. As capturas foram acompanhadas por veterinários da CESP.

Visitas às fazendas e ocorrências

Com o objetivo de se levantar informações a respeito da ocorrência de grandes felinos nas áreas de estudo, na montante e na jusante da UHE Porto Primavera, foram contatados proprietários e empregados de fazendas, visitando-se estas áreas. Informações adicionais sobre a biologia das onças foram obtidas averiguando-se os relatos de ocorrências e predações de animais domésticos, atendendo solicitações de moradores locais.

Resultados

Capturas no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema

Durante o período entre janeiro de 2002 e dezembro de 2006 ocorreram 14 capturas com cães de grandes felinos no parque do Ivinhema. Foram capturada seis onças-pintadas (*Panthera onca*) e sete onças-pardas (*Puma concolor*) (tab.1). Uma fêmea de pintada (Po15) capturada em 2002 foi recapturada para troca de colar em 2004. As tentativas de captura com armadilhas utilizando iscas vivas (porcos) não foram bem sucedidas.

Foram aparelhadas para radiotelemetria dois machos – sendo um melânico (preto) – e quatro fêmeas de onça-pintada. Também foram aparelhados três machos e uma fêmea de onça-parda. Dos 10 animais aparelhados, em cinco foram colocados rádios convencionais com sinal VHF e em outros cinco, todos onças-pintadas, foram colocados colares com GPS. Houve um aproveitamento de aproximadamente 70% das localizações programadas. Esta alta porcentagem de dados armazenados deve-se ao fato de ser uma área aberta, possibilitando as localizações do GPS, aprovando-se assim o sistema para a área de trabalho. Porém uma fêmea (Po19) aparelhada não conseguimos localizar após a captura. Uma onça-pintada fêmea (Po20) e um macho de onça-parda (Pc21) permanecem sendo monitorados no parque.

Tabela 01 – Capturas realizadas no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema, MS, no Projeto “Ecologia, Conservação e Manejo in situ e ex situ de Grandes Felinos no Alto Rio Paraná” e situação atual dos animais até dezembro de 2006.

Nº	ESPÉCIE	SEXO	FREQ	ONÇA	CAPTURA	SITUAÇÃO
01	<i>P.onca</i>	F	111	Po15	26.02.2002	Monitorado até 12/04/05
02	<i>P. concolor</i>	M	-	Pc11	25.04.2002	Morto (filhote)
03	<i>P. concolor</i>	F	-	Pc12	22.07.2002	Filhote Pc13 – Não monitorada
04	<i>P. concolor</i>	F	121	Pc13	28.07.2002	Monitorado até 15/04/05-morta
05	<i>P. concolor</i>	M	122	Pc14	27.08.2002	Monitorado até 15/04/05-morta
06	<i>P.onca</i> -preta	M	123	Po16	06.09.2002	Monitorado até 28/01/03-sumiu
07	<i>P. concolor</i>	M	118	Pc16	05.12.2002	Monitorado até 17/12/04-morta
08	<i>P.onca</i>	F	1.550	Po 17	24.04.2004	Monitorado até 16/12/04 (colar-GPS)
09	<i>P.onca</i>	F	1.882	Po15	07.07.2004	Monitorado até 12/04/05 (colar-GPS)
10	<i>P.onca</i>	M	1.112	Po 18	21.03.2005	Monitorado até 09/04/06 (colar-GPS)
11	<i>P.onca</i>	F	1.663	Po19	21.03.2005	Não encontrado pós captura (colar-GPS)
12	<i>P. concolor</i>	M	115,9	Pc21	09.12.2005	Em monitoramento
13	<i>P. concolor</i>	F	-	Pc22	26.05.2006	Não monitorado
14	<i>P.onca</i>	F	1.789	Po20	25.09.2006	Em monitoramento (colar – GPS)

Capturas na área de influência do reservatório da UHE Porto Primavera.

Durante o mesmo período, entre janeiro de 2002 a dezembro de 2006 ocorreram oito capturas na área a montante de Porto Primavera, sendo uma onça-pintada (*Panthera onca*) fêmea e sete onças-pardas (*Puma concolor*), quatro machos e três fêmeas (tab.02). A fêmea de pintada (Po14) e um macho de onça-parda (Pc17) foram aparelhados com rádiotransmissores convencionais VHF e monitorados até 2003.

Com a captura das pardas coletamos dados biométricos e amostras para análises (tab. 04). Apesar das capturas não houve aparelhamento de animais com rádio neste período, já que a ênfase do projeto é o monitoramento radiotelemétrico de onças-pintadas e a região do parque do Ivinhema.

As tentativas de captura, com e sem sucesso, foram realizadas quando fazendeiros locais chamavam para averiguar casos de predação. Algumas vezes com as capturas o problema era atenuado, “espantando” o animal do local de predação. Porém outro animal poderia vir no seu lugar ou ele mesmo poderia voltar após um período prolongado. Assim

os chamados também diminuíram, pois os proprietários com perdas econômicas queriam a retirada dos predadores do local, diminuindo também o registro de ocorrências na área.

Tabela 02 - Capturas realizadas à montante da UHE Porto Primavera, MS, no Projeto "Ecologia, Conservação e Manejo in situ e ex situ de Grandes Felinos no Alto Rio Paraná".

Nº	ESPÉCIE	SEXO	FREQ	ONÇA	CAPTURA	SITUAÇÃO
01	<i>P. concolor</i>	F	-	Pc09	08.06.2001	Não monitorado
02	<i>P. concolor</i>	M	-	Pc10	27.08.2001	Não monitorado
03	<i>P. onca</i>	F	107	Po14	02.02.2002	Monitorado até 06.09.03 - morto
04	<i>P. concolor</i>	F	-	Pc15	12.11.2002	Não monitorado
05	<i>P. concolor</i>	M	119	Pc 17	04.06.2003	Monitorado até 02.12.03 - morto
06	<i>P. concolor</i>	M	-	Pc18	15.10.2004	Não monitorado
07	<i>P. concolor</i>	F	-	Pc19	15.09.2005	Não monitorado
08	<i>P. concolor</i>	M	-	Pc20	11.11.2005	Não monitorado

Ocorrências na área de influência do reservatório da UHE Porto Primavera

No período de 2004 a 2006 quase não houve ocorrência de onça-pintada na área, havendo apenas duas tentativas de captura da espécie. Obtivemos poucas informações e reclamações de predação pela espécie, sendo a grande maioria das ocorrências causadas por onça-parda (tab. 03).

Nos 24 meses de projeto foram registradas 33 ocorrências de grandes felinos na montante de Porto Primavera sendo 30 de onça-parda e apenas três de onça-pintada, menos de 10 % das ocorrências.

Tabela 03. Ocorrências de grandes felinos averiguados na área de influência do reservatório da UHE Porto Primavera, MS, entre outubro de 2004 e setembro de 2005.

Onça-pintada	03 casos de predação	02 eqüinos 01 tamanduá-bandeira 01 cateto
Onça-parda	27 casos de predação	22 ovinos 16 bovinos 03 eqüinos 01 capivara
	03 capturas	

Além dos casos verificados obtivemos informações de que foram mortas cinco onças-pardas, sendo uma com a colocação de veneno, prática que começa a ser usada na região. Segundo as informações todas foram mortas em retaliação à predação de animais domésticos.

Coletas

Dos grandes felinos capturados foram feitas coletas de sangue para análises sanitárias e genéticas entre 2001 e 2006 e de ectoparasitas entre 1999 e 2006 (tab. 4). Para análises genéticas as amostras de sangue e de outros tecidos foram enviadas para a Pontifícia Universidade Católica (PUC) de Porto Alegre, RS, aos cuidados do professor doutor Eduardo Eizirik, daquela instituição e pesquisador da Pró-carnívoros. Além de 37 amostras de sangue coletadas de animais capturados no projeto, foi coletado sangue de uma onça-preta no zoo de Ilha Solteira (CESP) e cinco amostras de tecido foram adquiridas de peles apreendidas e animais atropelados. Outras cinco amostras de fezes foram encaminhadas para tentativa de extração de DNA. Com as amostras estão sendo desenvolvidos trabalhos de mestrado e doutorado em genética na UFRGS e PUC, em Porto Alegre, já com resultados preliminares para onça-pintada (capítulo VII). Estas 43 amostras de tecidos serão preservadas para análises futuras e duplicadas para o banco genômico do CENAP- IBAMA (capítulo VIII).

O soro do sangue de 17 animais foram coletados e encaminhados para análises sorológicas, sob cuidados do pesquisador do IPÊ associado ao projeto, Laury Cullen. Uma publicação - “First evidence of canine distemper in brazilian free-ranging felids”- foi submetida ao J. Wildlife Diseases (capítulo VI). Estas amostras estão armazenadas no IPÊ, em Teodoro Sampaio e ainda serão utilizadas em trabalhos futuros.

Dos animais capturados foram coletadas amostras de ectoparasitas de 28 onças. Os carrapatos foram enviados para a Universidade de São Paulo (USP) aos cuidados do professor Marcelo Labruna. Dois trabalhos já foram publicados com a utilização deste material (capítulo VI).

As amostras de fezes coletadas no parque do Ivinhema estão sendo analisadas para estudos de hábitos alimentares. Entre 2001 e 2006 foram coletadas 13 amostras de onça-pintada, 13 de onça-parda e 12 de grande felino não identificado (capítulo V).

Tabela 4. Quantidade de amostras coletadas (N) de onças-pardas (Pc) e onças-pintadas (Po) na região de influência do Reservatório da UE “Sérgio Motta” (Porto Primavera) (PP), MS e do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema(PEIVI), MS, entre 1998 e 2006.												
Amostra	Ectoparasitos				Análises sorológicas				Análises genéticas			
Local	PP		PEIVI		PP		PEIVI		PP		PEIVI	
Espécie	Pc	Po	Pc	Po	Pc	Po	Pc	Po	Pc	Po	Pc	Po
N	14	7	2	4	4	3	4	6	17	12	7	10

CAP. II

Monitoramento por radiotelemetria

Onça-pintada (*Panthera onca*)

Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEIVI)

Metodologia

As onças-pintadas capturadas foram aparelhadas com colares com sistema GPS (Televilt – Suécia). Estes armazenam as localizações no colar, sendo coletadas por um receptor em dias previamente estabelecidos com sobrevôos. Estes colares não possibilitam localizar o animal a qualquer momento, mas somente nos dias programados para receber os dados. Porém o retorno dos dados e o maior refinamento nas informações compensam esta falta de acompanhamento. Os colares foram programados para fazerem três localizações por dia. As onças capturadas foram deixadas no mesmo local da captura.

Os animais aparelhados foram monitorados por via aérea, utilizando-se aeronave monomotor experimental, modelo ECHO, com duas antenas direcionais adaptadas aos montantes, conectadas a um receptor.

As áreas de ocupação foram calculadas com o programa Animal Movement (Hooge & Eichenlaub, 2000), uma extensão do Programa Arcview GIS 3.3 (Environmental Systems Research Institute, Inc).

Resultados

1. Áreas de uso e movimentos

Com o monitoramento e a quantidade de dados obtidos podemos calcular o tamanho das áreas de vida utilizadas pelos animais, além de inferir sobre a seleção de habitat destes indivíduos com a utilização de imagens de satélite.

Obtivemos uma área de uso de 299 km² para o macho de onça-pintada (Po18) monitorado e uma média de 212 km² para duas fêmeas da espécie (tab1). Para a análise da área de uso foi utilizado o método “fixed-kernel”, baseando-se nas áreas mais utilizadas pelas onças com 50, 85 e 95 % das localizações (fig. 1, 2 e 3).

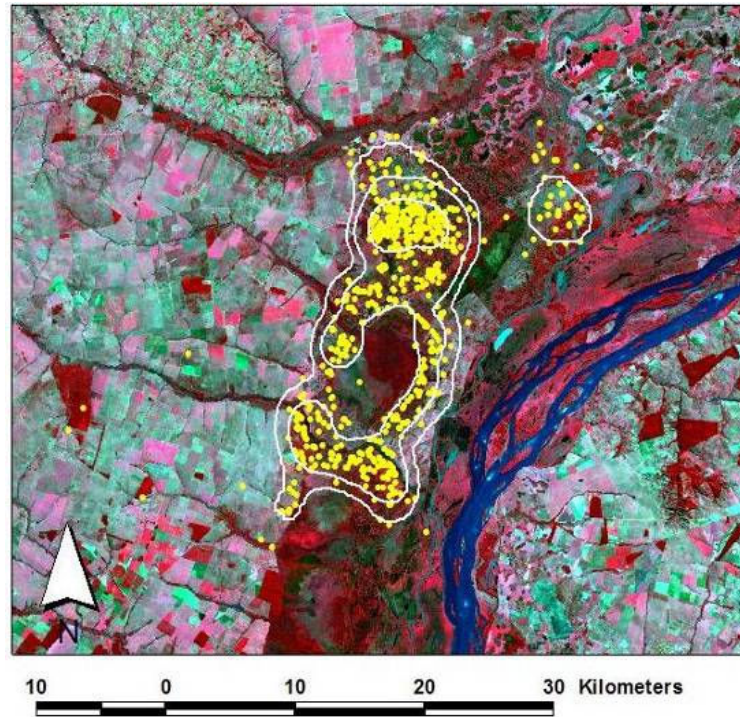


Figura 1. Área de uso total do macho Po18 (50, 85 and 95% fixed kernel) e localizações no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

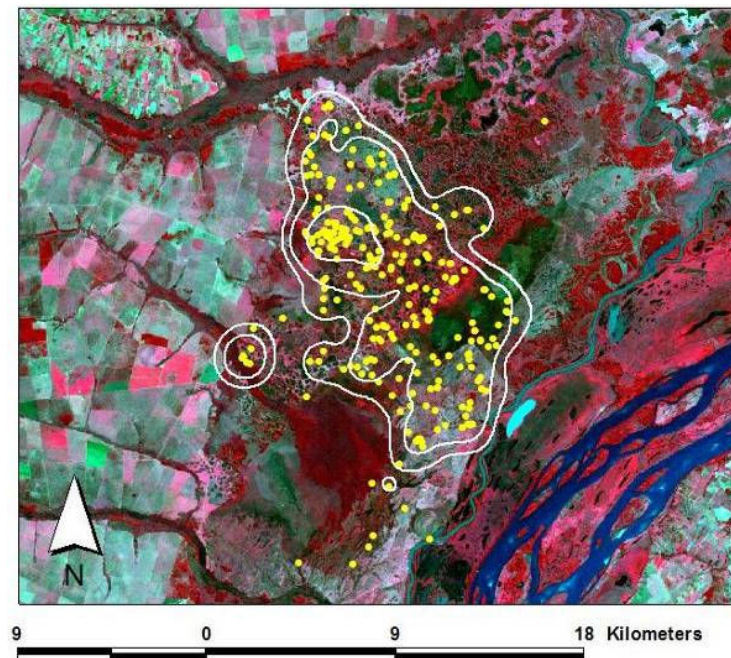


Figura 2. Área de uso total da fêmea Po15 (50, 85 and 95% fixed kernel) e localizações no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

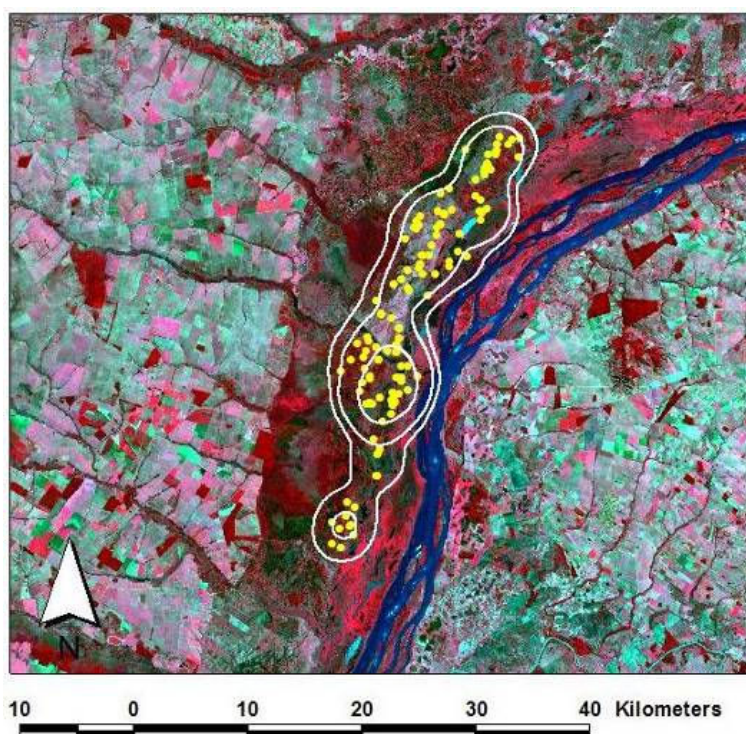


Figura 3. Área de uso total da fêmea Po17 (50, 85 and 95% fixed kernel) e localizações no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

Tabela 1. Áreas de vida (km^2) de 1 macho e 2 fêmeas de onça-pintada no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (2002-2006), usando a análise “fixed-kernel estimator”.

Onça	Anos Mon.	Área de vida total				Estação seca				Estação chuvosa			
		No. loc.	50%	85%	95%	No. loc.	50%	85%	95%	No. loc.	50%	85%	95%
P. E. do Ivinhema													
Po18 M	1	799	20	147	299	399	31	157	295	400	21	139	290
Po15 F	4	326	7	87	135	148	31	89	152	179	6	68	119
Po17 F	1	183	26	173	289	154	24	125	241	30	18	45	63
Média	2,5	254	16	130	212	151	27	107	196	104	12	56	91
Fêmeas													
Média	2	436	18	136	241	234	29	124	229	203	15	222	157
Total													

* Para os cálculos foram incluídos os animais com ≥ 30 localizações.

Comparando as áreas de ocupação destes animais em ambientes abertos como as áreas de várzeas (PEIVI), com os de mata fechada, na região do alto Paraná (P.E. do Morro do Diabo, SP) os machos apresentam resultados similares (*280 km², n=2), já as fêmeas de ambientes abertos apresentam o dobro do tamanho das áreas de uso das de mata (*92 km², n=5). Comparando-se as médias de todos animais, os de ambiente aberto apresentam uma área de vida cerca de 60% maior do que os de mata (*155 km², n=7).(*Cullen L., dados não publicados). Tanto a busca de refúgio como de presas podem fazer com que as áreas sejam maiores em ambientes abertos. Porém nos dois parques, com ambientes distintos, a presença de gado na periferia ou no interior, caso do Ivinhema, pode favorecer a diminuição destas áreas, com a oferta de alimento. Mas questões reprodutivas, filhotes no caso de fêmeas e a busca de parceiras pelos machos, além da territorialidade, interferem nos processos de ocupação e tamanho das áreas. Portanto vários fatores podem influenciar nos padrões de uso de área e movimentação.

Incursões de até 30 Km pela paisagem fragmentada evidenciaram que alguns indivíduos conseguem atravessar áreas degradadas com pastagens e lavouras, usando florestas de galeria como corredores principais. Esse potencial de longos movimentos e longas incursões pela paisagem esta diretamente relacionado com a característica de detetive ecológico da onça-pintada, podendo capturar importantes elementos da paisagem que auxiliem no manejo de sua conectividade. Por exemplo, durante essas longas incursões alguns indivíduos de onça-pintada podem ajudar a identificar importantes corredores, e ou pequenos fragmentos florestais essenciais para a conectividade entre as unidades de conservação ou importantes manchas (patches) de habitat na paisagem do alto Rio Paraná.

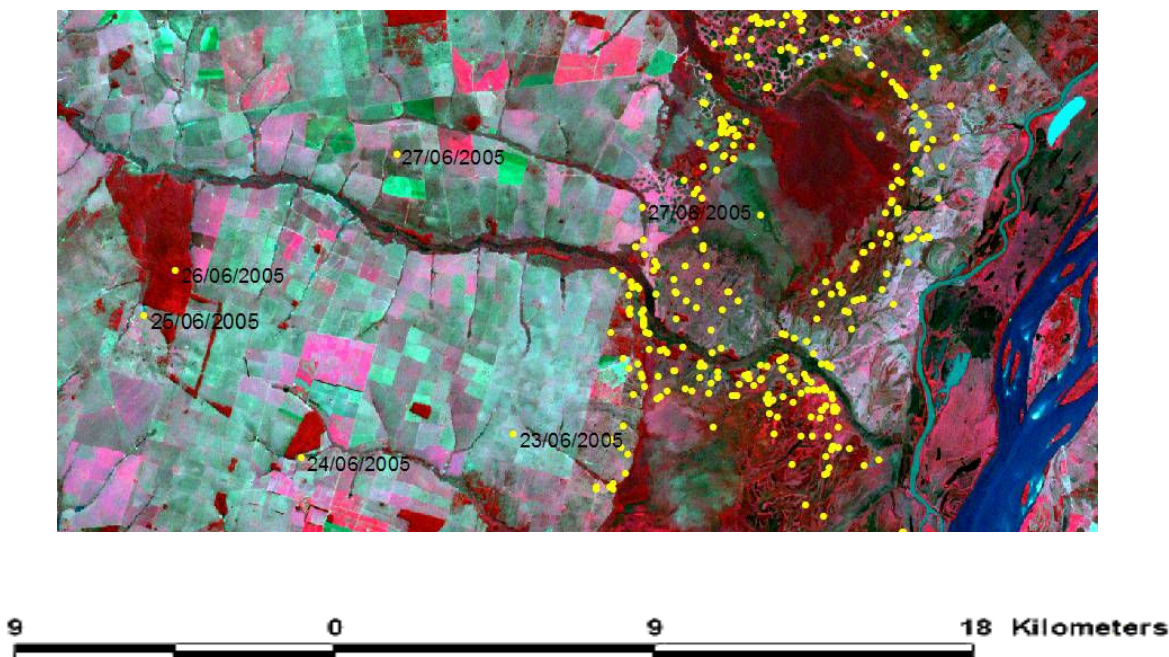


Figura 4. Macho adulto Po18 durante suas longas incursões pela paisagem no entorno do Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema. Incursões de até 30 Km para um fragmento de 2.000 ha foram observadas, com a utilização de matas de galeria e paisagens abertas.

2. Seleção de Habitat

Neste componente do projeto estudamos aspectos de seleção de habitat praticados pelas onças-pintadas em duas escalas de magnitude (segunda e terceira ordem). Nossos resultados mostraram de maneira bastante consistente que, floresta primária e várzeas mais densas e fechadas são os habitats preferidos e ou selecionados pela espécie na região do Alto Rio Paraná. Por outro lado, muitos dos indivíduos estudados evitaram significativamente o uso de áreas como agricultura e pastagens. Duas conclusões principais podem ser extraídas desses resultados:

- **Primeiro:** as várzeas e varjões mais densos no Alto Rio Paraná foram os tipos de habitats mais usados e preferidos pela espécie. Ao mesmo tempo, esse tipo específico de habitat é o único tipo de ambiente que potencialmente conecta as várias UCs localizadas ao longo do eixo do Rio Paraná, formando um quase contínuo entre o Parque Estadual do Morro do Diabo e a Parque Nacional de Ilha Grande, também potencialmente ligando ao

Parque de Iguaçu. Assim, esses ambiente produtivos podem e devem potencialmente conectar essas populações de onças-pintadas ainda parcialmente isoladas.

- **Segundo:** quando analisamos seleção de habitat a terceira ordem (ou seja, comparando uso e disponibilidade de habitats dentro de seu próprio home range), alguns animais parecem se concentrar em áreas mais altas próximas as pastagens. Alguns indivíduos se estabelecem temporariamente nas proximidades de pastagens onde a criação de gado é intensa e isso pode levar a conflitos com fazendeiros. Ao mesmo tempo esses conflitos podem impedir a dispersão de alguns indivíduos obstruindo as oportunidades de conectividade e fluxo gênico e demográfico entre as populações outrora conectadas, impedindo o cenário metapopulacional. Resumidamente, as onças pintadas no Alto Rio Paraná parecem ter a habilidade para se dispersar, mas essa dispersão pode ser comprometida devido a conflitos com fazendeiros e ou outros proprietários de terra.

3. Detetives Ecológicos e Metapopulação

Esse componente utiliza muitas informações prévias para construir a ferramenta e ou o modelo denominado “Detetives Ecológicos” para identificar uma rede de corredores, manchas apropriadas de habitats integradas às UCs existentes para a manutenção de uma metapopulação viável da espécie. O modelo até o momento identificou 3 manchas (*habitat patches*) apropriados para a espécie com uma área total de 4.000 Km². Após a integração desse modelo com uma análise de viabilidade populacional, obtivemos os seguintes resultados:

Considerando o cenário atual, o tempo médio para o declínio da população para a metade de sua situação atual (ou seja, de 126 indivíduos para 63) é de aproximadamente 18 anos. Também, o risco estimado para a extinção da metapopulação do Alto Rio Paraná nos próximos 50 anos é de 25%. Entretanto, outras simulações analisadas do modelo sob um cenário mais otimista, resultam em um menor risco de extinção, abundâncias significativas e uma taxa considerável de ocupação pela espécie de algumas áreas mais favoráveis. Concluimos também que qualquer manejo realizado em prol do aumento das taxas vitais da espécie (reprodução e fecundidade) e redução das taxas de mortalidade, a

curto prazo tem um efeito bastante positivo nas possibilidades de sobrevivência da espécie, quando comparados a outros cenários, como por exemplo, estímulo às dispersões e corredores. Ou seja, a curto prazo seria mais recomendado aumentar a capacidade de suporte das populações existentes, antes de se promover a conexão entre as mesmas.

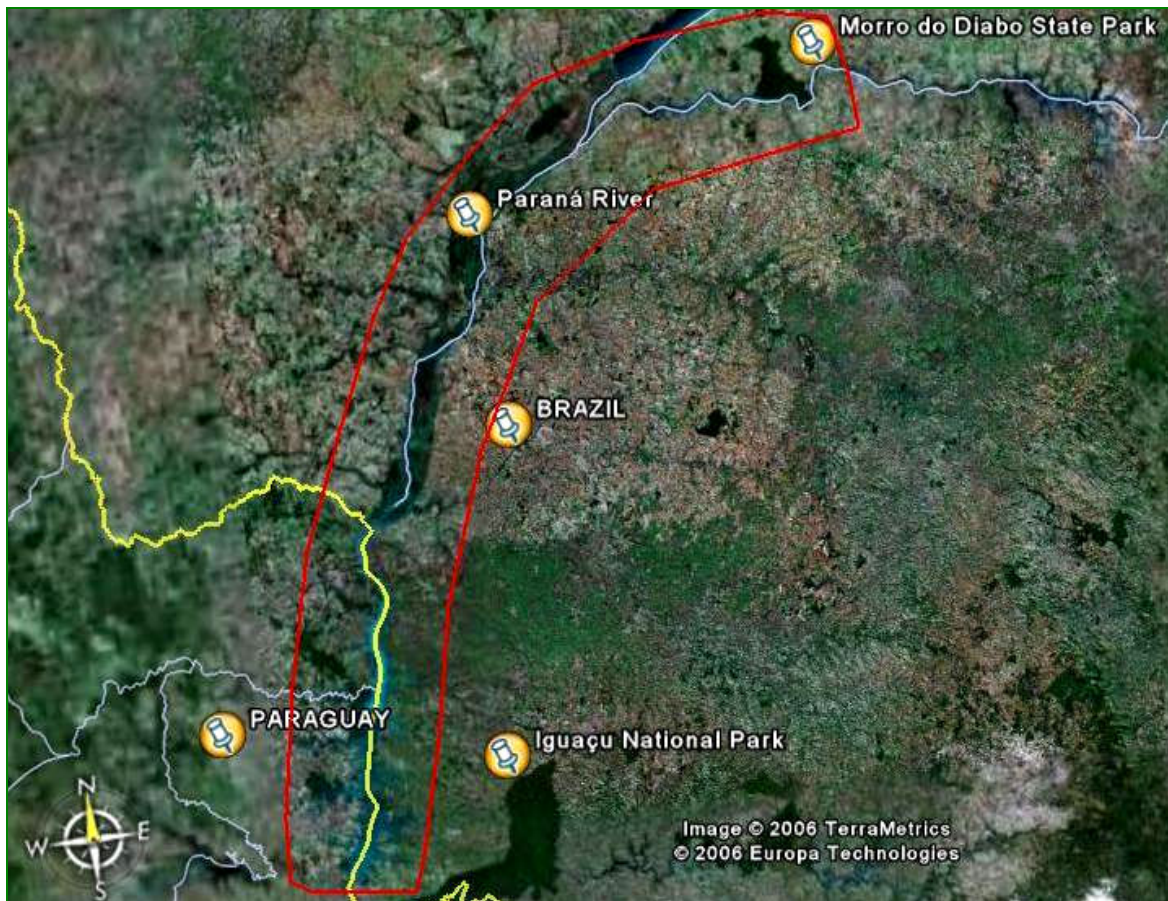


Figura 5. Metapopulação de onças-pintadas analisadas. Uma área de aproximadamente 50.000 km² na região do Alto Rio Paraná, cobrindo uma faixa de 50 Km de cada lado e ao longo do principal eixo do Rio Paraná, desde a cidade de Teodoro Sampaio (22°31'36 S; 52 10'09 W) até a cidade de Santa Terezinha de Itaipu (25°21'36 S; 54 28'36 W) no Brasil (Fonte:Goggle Earth).

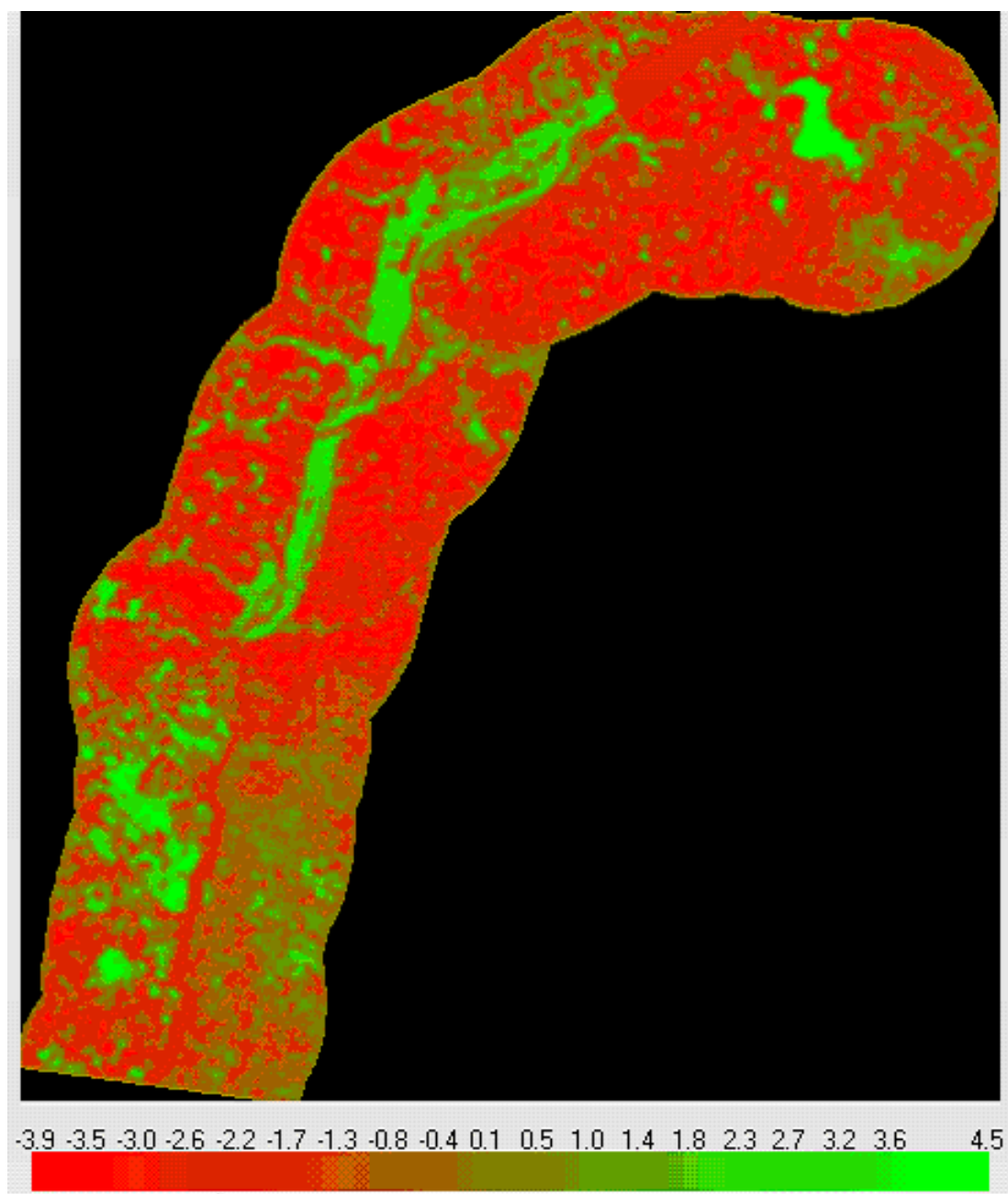


Figura 6. Mapa de Habitats Favoráveis (Habitat Suitability Map) para a onça pintada na região de estudo. Valores para (habitat suitability) são representados na escala variando de - 3.9 (em vermelho e pouco favoráveis) até + 4.5 (em verde e mais favoráveis).

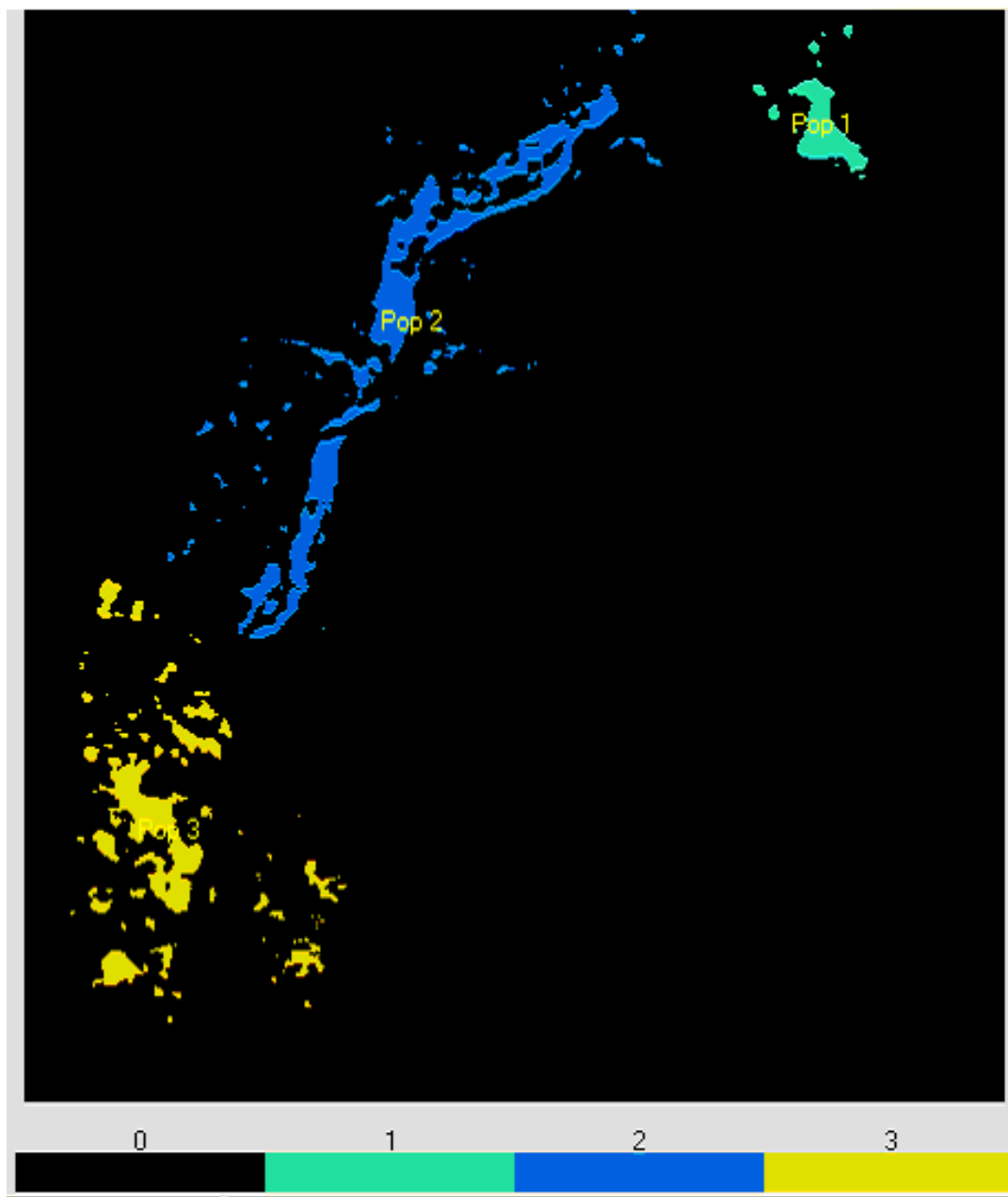


Figura7. Manchas mais específicas de habitats favoráveis para a Onça Pintada. Cada cor identifica uma sub-população identificada. Patch 1 corresponde a região do Parque Estadual do Morro do Diabo e seu entorno. Patch 2 corresponde ao Parque de Ivinhema e seu entorno no Mato Grosso do Sul, contíguamente ao Parque Nacional de Ilha Grande no Estado do Paraná. Patch 3 corresponde a região leste do Paraguai ao longo do eixo do Rio Paraná, e mais especificamente a Canindeyú (Salto de Guairá) e Alto Paraná (Ciudad del Este), formando uma área com uma série de UCs entre elas o Refugio Biológico Carapá, Reserva Natural Privada Itabo, Reserva Natural Privada Morombi, Reserva Biológica Mbaracayú, Reserva Biológica Pikyry, Refugio Biológico Tati Yupi, Reserva Biológica Itabo and Reserva Biológica Limoy.

Tabela 2. Resultados dos Habitats identificados.

Patch #	Nome da População*	Total HS	Área (km ²)	Área Patches %	% Paisagem	Capacidade de Suporte (K)
1	Morro do Diabo State Park Region (São Paulo State)	15617	409	9.97	0.84	18
2	Ivinhema State Park Region (Mato Grosso do Sul State) and Ilha Grande National Park Region (Paraná State)	55422	2224	54.57	1.34	64
3	Eastern Paraguay along the Paraná River, and more specifically to the states of Canindeyú (Salto del Guairá) and Alto Paraná (Ciudad del Este), comprising an area with a series of protected areas such as Refugio Biológico Carapá, Reserva Natural Privada Itabo, Reserva Natural Privada Morombi, Reserva Biológica Mbaracayú, Reserva Biológica Pikyry, Refugio Biológico Tati Yupi, Reserva Biológica Itabo and Reserva Biológica Limoy	38404	1472	35.86	1.22	44
Total:		109443	4105	100%	3.39%	126

* Including areas in the mosaic surrounding the current protected areas.

4. Viabilidade Populacional

Como mencionado anteriormente, considerando o cenário atual com o status de proteção das áreas representadas neste estudo, (figuras 8 e 9), o tempo médio de declínio para 50% da população na região do Alto Rio Paraná (de aproximadamente 126 indivíduos adultos para 63) é cerca de 18 anos e o risco de extinção nos próximos 50 anos é de 25%. O tamanho mínimo da população esperada daqui a 50 anos é de 17 indivíduos.

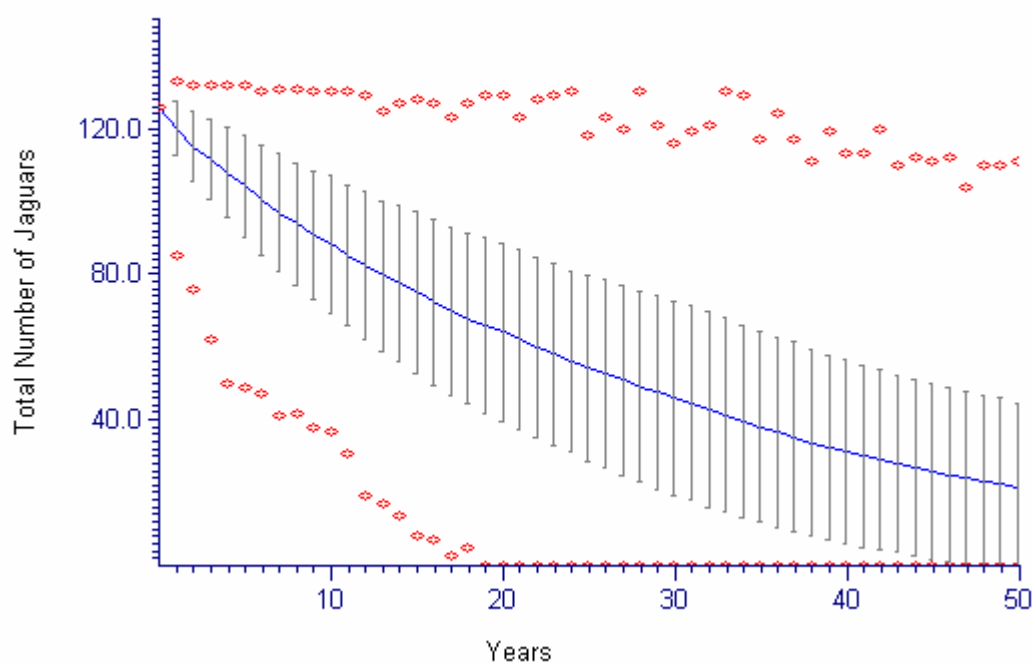


Figura 8. Tamanho estimado da metapopulação do Alto Rio Paraná para os próximos 50 anos.

Tabela 3. Viabilidade Populacional em diferentes cenários

Viabilidade	Cenário	
	<i>Cenário Atual</i>	<i>Cenário Protegido / Otimista</i>
Tempo médio para declínio a 50% da população atual	18 anos	>100 anos
Risco de extinção para os próximos 50 anos.	25%	1%
Tamanho mín. esperado da metapopulação em 50 anos	17	84
Tamanho médio da metapopulação final	21	165
Número final de subpopulações em 50 anos.	1.4	2.7

(X=58)

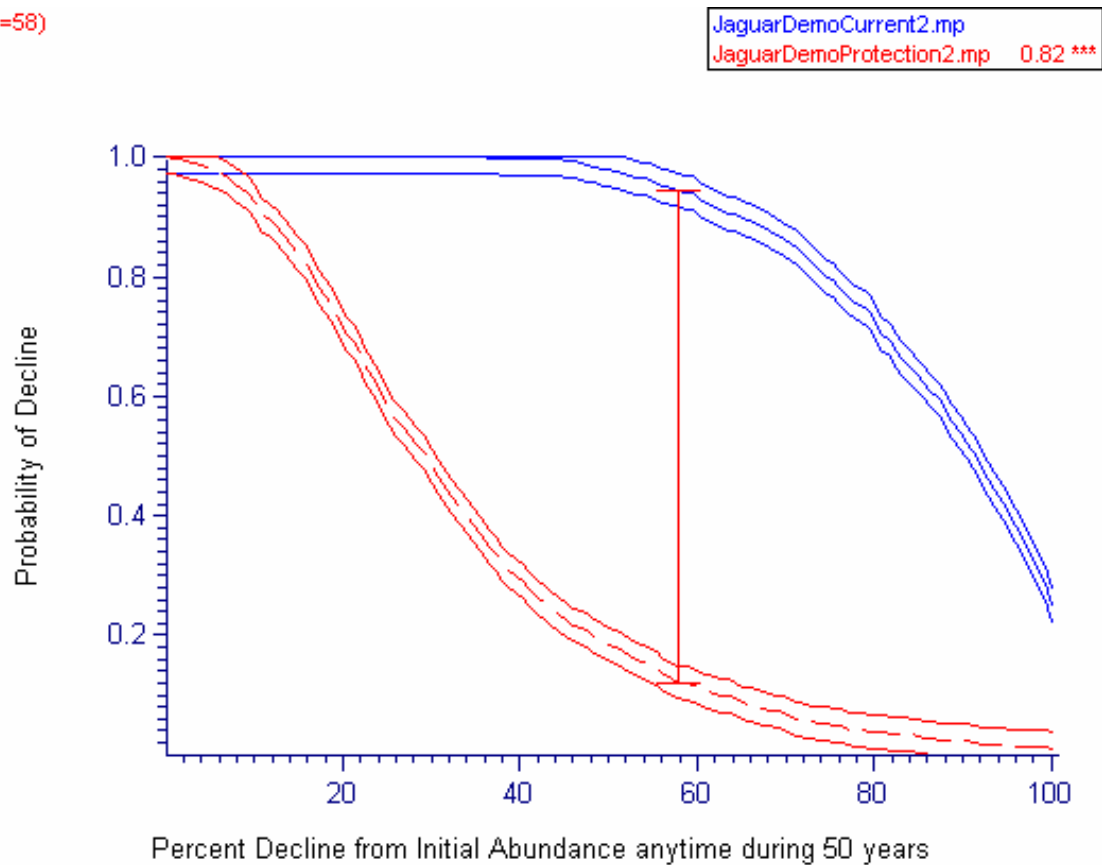


Figura 9. Probabilidade de declínio da metapopulação de onças-pintadas da região do Alto Rio Paraná.

5.Discussão

A conservação da onça-pintada bem como de muitas outras espécies nesse ecossistema, não só depende de estudos aplicados de auto ecologia da espécie como aqui relatado, mas principalmente de um modelo de gestão, conservação e desenvolvimento que garanta a integridade das paisagens e das UCs nesta região. Trabalhos com envolvimento comunitário e restauração de paisagens no entorno das Unidades de Conservação ao longo do Corredor Ecológico do Alto Rio Paraná poderiam ser implementados contribuindo para a conservação do ambiente e codesenvolvimento, como o trabalho realizado pelo IPÊ no entorno do parque Estadual do Morro do Diabo, SP.

As descobertas preliminares dessa pesquisa a longo prazo sobre a onça-pintada enfatizam a importância do aumento das taxas de vida para as populações de onça. A curto prazo, o aumento da taxa de vida (maior fecundidade e menor mortalidade) parece ser mais importante que o aumento da taxa de dispersão. O aumento da dispersão, especificamente para a metapopulação do Alto Paraná-Paranapanema, só é recomendado uma vez que as populações de onça atinjam pontos de maior estabilidade. A sensibilidade dessa análise sugere que esses resultados preliminares não devem ser interpretados em termos absolutos. Particularmente, seria inapropriado usar esses resultados para concluir que a metapopulação de onças na bacia do Alto Paraná-Paranapanema está ameaçada de extinção. Há simplesmente muitas incertezas sobre a maioria dos parâmetros para prever com confiança qual será o tamanho da população daqui a cinquenta anos, ou qual poderia ser o risco de extinção. Apesar dessa incerteza, esses modelos podem ter uso prático de duas maneiras (Akçakaya & Atwood, 1997): 1) eles proporcionam informações sobre quais parâmetros precisam de uma estimativa mais cuidadosa e onde os trabalhos de conhecimento e de campo deveriam ser concentrados, 2) eles permitem alinhar as opções de manejo de acordo com seus efeitos previstos na viabilidade da espécie-alvo. Com o desenvolver deste trabalho e com mais dados demográficos e ecológicos acumulados, será possível alcançar resultados mais confiáveis e propor recomendações de manejo mais pragmáticas.

OBS: Fonte de figuras e tabelas não identificadas: tese de doutorado Laury Cullen Jr.

Publicação

Parte dos dados preliminares do trabalho de monitoramento no parque do Ivinhema foram publicados na revista científica *Natureza e Conservação*: As onças-pintadas como detetives da paisagem no corredor do Alto Paraná – Cullen *et al.* 2005. (ANEXO)

Referências Bibliográficas

Akçakaya, H. R. & Atwood, J. L. 1997. A habitat-based metapopulation model of the California Gnatcatcher. *Conservation Biology* 11:422-434.

Cullen, L. 2006. Jaguars as Landscape Detectives for the Conservation of Atlantic Forests in Brazil. *Thesis of Phd.* Durrell Institute of Conservation and Ecology (DICE). University of Kent, Canterbury, UK.

Hooge P. N. & Eichenlaub, B. 2000. *Animal movement extention to Arcview, ver. 2.0.* Alaska Science Center – Biological Science Office, U.S. Geological Survey, Anchorage, AK, USA.

As onças-pintadas como detetives da paisagem no corredor do Alto Paraná, Brasil¹

Laury Cullen Jr.²

• IPÊ- Instituto de Pesquisas Ecológicas

Kauê Cachuba Abreu

• IPÊ- Instituto de Pesquisas Ecológicas

Dênis Sana

• Associação Pró-Carnívoros

Alessandra Ferreira Dales Nava

• IPÊ- Instituto de Pesquisas Ecológicas

RESUMO

Muitas espécies que vivem em áreas fragmentadas estão restritas a pequenas manchas de habitat natural e formam metapopulações; prever seu futuro é o foco principal na ecologia aplicada. Neste trabalho é apresentada uma análise da dinâmica de uma metapopulação de onça-pintada (*Panthera onca*) em aproximadamente 5.000 km² de floresta Atlântica semidecidual e várzeas semiconectadas e relativamente bem preservadas na região do Alto Paraná. Utilizando-se uma combinação de armadilhas fotográficas e telemetria por GPS/VHF, são apresentadas informações de densidade, área de território e seleção de habitats pela espécie. Com a plataforma RAMAS/GIS 3.0 foi desenvolvido um modelo de potencial de adequação de habitat para as onças-pintadas, usando-se dados de topografia, vegetação e localização por telemetria. Com o modelo de habitat foi então calculada a estrutura espacial da metapopulação de onça-pintada, incluindo o tamanho e a localização das manchas de habitat, bem como a distância entre elas. A análise dos fragmentos identificou três grandes áreas de habitat para a conservação da onça-pintada e da biodiversidade na

região do Alto Paraná-Paranapanema. A população total de onças-pintadas estimada para a região foi de quarenta e cinco indivíduos. O mapa de habitats originado identificou importantes áreas-trampolim que podem ser manejadas e restauradas para ligar as populações de onças-pintadas em um futuro próximo. Com o maior número de combinações entre os parâmetros, a Análise da Viabilidade Populacional (PVA) preliminar previu um declínio e risco de extinção para a população de onça-pintada do Alto Paraná-Paranapanema. Além disso, as descobertas apontam que, a curto prazo, o aumento das estatísticas de vida para a população de onças-pintadas (maior fecundidade e menor mortalidade) parece ser mais importante do que o aumento da taxa de dispersão entre as populações.

Palavras-chave: onça-pintada, Floresta Atlântica, Alto Paraná, ecologia, modelo de metapopulação, viabilidade, modelo de paisagem, fragmentação de habitat, análise de fragmentos, RAMAS-GIS

INTRODUÇÃO

Unidades de conservação isoladas, como os parques nacionais e estaduais, frequentemente falham na conservação de todos os elementos da biota natural, especialmente com relação aos grandes mamíferos (Newmark, 1995). Na verdade, os grandes mamíferos são particularmente suscetíveis à extinção mesmo nas reservas bem protegidas, mas isoladas. As espécies-chave, especialmente carnívoros de topo de cadeia alimentar, são essenciais para a manutenção da diversidade biológica e da integridade do ecossistema a longo prazo (Soulé & Noss, 1998). Há cada vez mais evi-

¹ Enviado originalmente em inglês

² lcullen@stetnet.com.br

dências que sugerem que muitos ecossistemas são regulados pelos carnívoros de topo de cadeia, sendo que tais ecossistemas podem desestruturar-se ou serem radicalmente alterados sem eles, tendo como consequência a perda de sua diversidade e resiliência (Terborgh, 1999). Por exemplo, predadores com ampla área de vida, como as onças-pintadas (*Panthera onca*), freqüentemente desempenham um papel essencial na regulação do número e na diversidade das espécies-presa na cadeia alimentar. Uma abordagem em larga escala para a conservação da natureza necessita de grandes reservas-núcleo conectadas entre si e com sua totalidade de espécies nativas (Soulé & Noss, 1998). O objetivo central desta abordagem é manter ou restaurar populações ecologicamente viáveis de grandes carnívoros e outras espécies-chave (Soulé & Terborgh, 1999, Foreman & Daly, 2000).

Neste trabalho, propõe-se o uso da onça-pintada como detetive da paisagem, dada sua significância ecológica e necessidade de grandes áreas de habitat protegido e de alta qualidade. Espécies detetives da paisagem podem ser definidas como organismos que nos mostram como planejar e manejar reservas e grandes eco-regiões interconectadas, pois suas exigências para sobreviver incluem fatores importantes para manter ambientes ecologicamente saudáveis. Mais especificamente, o principal objetivo deste trabalho é usar a onça-pintada como um detetive da paisagem para desenvolver uma rede de reservas naturais conectadas na região do Alto Paraná-Parapanema, no Brasil.

Nesta região, as onças-pintadas apresentam estrutura de metapopulação, definida neste trabalho como uma “rede de populações isoladas ou semi-isoladas com algum nível de migração regular ou intermitente e fluxo genético entre elas, na qual cada população pode ser extinta, porém podendo ser recolonizada através de outra população” (Meffe & Carroll, 1997:678). Três argumentos científicos importantes constituem a abordagem de detetive da paisagem e justificam a ênfase nos grandes predadores, como as onças-pintadas:

1) diversidade e densidade das presas: a estrutura, a resiliência e a diversidade de ecossistemas são freqüentemente sustentadas pelas interações tróficas que são iniciadas e mantidas pelos grandes predadores (Terborgh, 1998; Terborgh *et. al.*, 1999). A especificidade de presas é um componente-chave do habitat para a maioria dos grandes carnívoros (Seidensticker, 1986). Portanto, estudando a dinâmica presa-predador da onça-pintada juntamente com a seleção de habitat será possível detectar a estrutura da presa, sua resiliência e sua diversidade em áreas nas quais a onça-pintada ocorre.

2) grandes áreas-núcleo: predadores com ampla área de vida geralmente requerem espaço e áreas protegidas extensas para procurar alimento, movimentarem-se sazonalmente e atender a outras necessidades. Estudando e comparando a distribuição e densidade da onça-pintada em locais específicos, será possível detectar áreas-núcleo ou manchas de habitat para formar uma rede de áreas de conservação. Estas áreas protegeriam o habitat natural, a biodiversidade, a integridade ecológica, os serviços ambientais e os processos evolutivos no ecossistema do Alto Paraná-Parapanema.

3) conectividade da paisagem: a conectividade é também requerida porque as reservas, em geral, não são grandes o suficiente na maioria das regiões; portanto, elas devem ser ligadas para garantir a viabilidade a longo prazo das espécies que precisam de grandes áreas para sobreviver. Rastreamento a dispersão de onças jovens que usam os fragmentos de floresta como via de ligação na paisagem fragmentada, pode-se detectar possíveis ligações-chave entre grandes áreas naturais. Isso poderia garantir a continuação da migração e outros movimentos vitais para a sobrevivência das populações e metapopulações saudáveis de fauna silvestre. O planejamento da conservação eco-regional que enfatiza a onça-pintada como um detetive da paisagem oferece uma nova abordagem para o design de reservas. Esta é uma abordagem focada nos detalhes, que usa a

onça-pintada para definir as paisagens a serem conservadas, o que em troca conservará todo o ecossistema, considerando-se que os carnívoros de topo de cadeia precisam de uma boa base alimentar e grandes áreas-núcleo conectadas entre si. Certamente este é o maior passo com relação a algumas práticas atuais, que incluem a análise de uma imagem de satélite em um escritório e imaginar onde uma área-núcleo, mancha de habitat, ou corredor poderiam estar. Não está sendo proposto o uso de detetives da paisagem para todas as espécies de interesse. Entretanto, na região do Alto Paraná, as decisões administrativas não podem esperar a conclusão dos estudos a longo prazo sobre espécies mais sedentárias. Nessa região, o uso de dados adquiridos através das onças com rádio-collar de GPS pode ser o meio mais prático para integrar a informação biológica com a análise dos impactos negativos da fragmentação e com as tentativas de mitigação relacionadas ao manejo da vida selvagem, ecologia da paisagem e planejamento.

Em 1997 foi iniciado um estudo sobre a ecologia e a conservação da onça-pintada no Parque Estadual Morro do Diabo, uma área protegida de 370 km² (37,000 ha) na região do Pontal do Paranapanema, no estado de São Paulo. A área proporciona uma oportunidade única para estudar a onça-pintada como detetive da paisagem. No limite oeste da remanescente Floresta Atlântica, junto com o ecossistema do Alto Paraná, ainda existem aproximadamente 5.000 km² de fragmentos de Floresta Atlântica semidecidual e de várzeas semiconectados e relativamente bem preservados. A região está entre as poucas áreas onde grandes carnívoros como a onça-pintada, os pumas e as jaguatiricas podem sobreviver (Sanderson *et al.*, 2002) (FIGURA 1). Onças-pintadas são relativamente comuns na região do Pontal (Cullen *et al.*, 2000, Leite *et al.*, 2002) e informações empíricas sobre sua densidade, presas e exigências de habitat, estrutura de dispersão e metapopulação são necessárias para desenvolver um modelo de detetives da paisagem com base em informações consistentes e no conhecimento de campo sobre a espécie.



Considerando-se a situação crítica da onça-pintada na região, são necessárias respostas claras e confiáveis para algumas questões básicas. Essas perguntas estão relacionadas aos três amplos argumentos científicos que constituem a abordagem de detetives da paisagem: 1) qual é a densidade absoluta de onças-pintadas em áreas protegidas prioritárias para a conservação? 2) Como as onças-pintadas selecionam os habitats e o que determina o tamanho do seu território e o padrão da sua movimentação? 3) Qual é a estrutura espacial da metapopulação de onças na região, sua localização, seu tamanho, sua abundância total, sua capacidade de suporte e a distância uma da outra? 4) Qual a área mínima necessária para garantir populações viáveis de onças-pintadas e a conservação da biodiversidade?

MÉTODOS E RESULTADOS

Estimativa da densidade de onças no Parque Estadual Morro do Diabo

No período entre os meses de março e agosto de 2003, realizou-se no Parque Estadual Morro do Diabo o primeiro censo preliminar e sistemático de onças-pintadas, através de armadilhas fotográficas, no qual se obteve um surpreendentemente grande número de fotos de onças-pintadas, pumas e jaguatiricas. O levantamento foi realizado utilizando um equipamento moderno de armadilha fotográfica combinado com a análise de captura-recaptura, uma técnica estatística para estimar o tamanho da população através dos dados amostrais (Karanth & Nichols, 1998). Foram utilizadas dez armadilhas fotográficas CAM-TRAKKER com sensores infra-vermelhos. As armadilhas foram instaladas ao longo das rotas naturais das onças-pintadas e de suas presas. Sete pontos das armadilhas foram selecionados através de um *grid* de parcelas alocadas sistematicamente, cobrindo cerca de 90% da área do Parque. As armadilhas fotográficas foram instaladas para atender aos pré-requisitos da teoria de captura-recaptura, visando uma estimativa populacional confiável.

Os resultados obtidos através dessas armadilhas foram analisados seguindo-se a metodologia delineada por Karanth & Nichols (2002) e com a utilização do programa CAPTURE (Rexstad & Burnham, 1991; Otis *et al.*, 1978) para estimar os parâmetros populacionais (por exemplo, o tamanho da população) através dos padrões de recaptura dos indivíduos reconhecidos (FIGURA 2).



Figura 2: Uma onça preta e uma pintada fotografadas no mesmo ponto de amostragem.

Os dados obtidos das câmeras estão sumarizados como histórico de captura. Durante o levantamento, houve sete períodos de amostragem totalizando 1.120 noites de esforço amostral, que renderam trinta e quatro capturas de seis diferentes indivíduos adultos e sub-adultos de onça-pintada. Essas capturas foram usadas com o programa CAPTURE para calcular estatísticas relacionadas à premissa de populações fechadas e à seleção de modelo, bem como a estimativa de abundância baseada no modelo. O teste utilizado não proporcionou evidência estatística de que a premissa de populações fechadas foi violada ($z=0,80$, $p=0,20$). Desse modo, concluiu-se que os modelos de população fechada do CAPTURE foram apropriados para esses dados e não foi preciso usar modelos para populações abertas. Baseados no procedimento de seleção de modelo da função discrepante, os modelos M_0 e M_h foram os mais apropriados para este conjunto de dados. Foi escolhido o modelo M_h , pois as evidências de campo indicaram que poderia haver heterogeneida-

de na probabilidade de captura entre os diferentes indivíduos de onça, por causa da estrutura social e desigual acesso às armadilhas fotográficas (TABELA 1). Além disso, percebeu-se que suas estimativas foram mais apropriadas por causa da robustez do estimador Jackknife Mh para os desvios das hipóteses do modelo (Otis *et al.*, 1978).

Tabela 1: Número de onças-pintadas no Parque Estadual Morro do Diabo com base no levantamento realizado através de armadilhas fotográficas

Probabilidade de captura estimada		Abundância		
Modelo	Por ocasião	Número**	Erro padrão	Intervalo de confiança de 95%
M ₀	0,28	6	0,69	6-8
M _h *	0,28	8	1,33	7-13

* Modelo selecionado

** Apenas adultos e sub-adultos

O número mínimo de onças na população pôde ser estimado diretamente a partir do número de indivíduos diferentes registrados durante a utilização de armadilhas fotográficas. Seis indivíduos foram registrados por essas armadilhas: dois machos adultos, três fêmeas adultas e um sub-adulto. Segundo a estimativa utilizada no modelo selecionado (M_h), a densidade média da população de onças-pintadas (adultas e sub-adultas) estimada no Parque Estadual Morro do Diabo é de 2,22 indivíduos/100 Km² (SE 1.33). Esta média é consideravelmente mais baixa que a estimada para a população do Parque Nacional do Iguaçu, no Estado do Paraná (3,70 indivíduos/100 km²) (Crawshaw *et al.*, 2004). No Pantanal Brasileiro, houve uma densidade estimada de 2,90 indivíduos/100 Km² (Schaller, 1983, Schaller & Crawshaw, 1980). Em Belize, estimou-se que 20 a 30 onças-pintadas estavam presentes em cerca de 250 Km², correspondendo a uma densidade consideravelmente maior de 8 indivíduos/100 Km² (Rabinowitz & Nottingham, 1986). Silver *et al* (2004), aplicando a mesma metodologia de armadilhas fotográficas, realizou um censo

de onças na Floresta Pluvial Maia de Belize, nas Florestas Secas do Chaco, e na Floresta Amazônica da Bolívia. As densidades variaram de 2,8 até 8,8 indivíduos adultos por 100 km². Com base nesses resultados preliminares, é aparente e nem um pouco surpreendente que a densidade de onças seja menor nos habitats semidecíduais. O Parque Estadual Morro do Diabo faz limite com a vegetação de Cerrado do Estado do Mato Grosso do Sul e do norte do Estado de São Paulo. Lá o Cerrado constitui-se em uma vegetação alta, densa, xeromórfica e semidecídua, tipo savânica. O Parque Estadual Morro do Diabo está localizado exatamente no limite do Cerrado e, conseqüentemente, a melhor classificação da floresta do parque seria uma "Floresta Atlântica semidecidual de planalto, entremeada por algumas áreas de Cerradão" (Baitello *et al.*, 1988). Nesse habitat, tanto a produção primária como a disponibilidade de água, são baixas e mais variáveis, afetando assim a distribuição e a densidade das espécies de presas (Cullen *et al.*, 2000).

Tamanho do território, seleção de habitats e padrão de movimentação das onças-pintadas no Parque Estadual Morro do Diabo

Métodos específicos

As onças foram capturadas utilizando-se caixas de ferro feitas sob medida, atraídas até elas por frangos vivos ou sendo encurraladas por cães treinados. Depois disso, os animais foram sedados com Zoletil (o mesmo que Telazol ou CI-744; Virbac do Brasil). Foi utilizada uma aeronave para obter a localização dos animais com rádio-colar de GPS (www.televilt.se) a cada 70 dias, aproximadamente. Foi usada triangulação para registrar as localizações por VHS, que foram plotadas em uma imagem Landsat. O tamanho do território e os padrões de movimento foram estimados através da Análise de Movimento Animal (Animal Movement Analysis), uma extensão do programa ArcView GIS 3.3.

Tamanho do território e movimentos

Durante esta fase preliminar, sete onças foram capturadas e equipadas com rádio-colar, incluindo dois machos adultos e cinco fêmeas. Todos os animais foram capturados no Parque Estadual Morro do Diabo e arredores. Um total de 565 localizações (85% com GPS e 15% com VHF) foram obtidas com os sete animais adultos estudados, sendo 195 (34%) localizações de machos e 370 (66%) de fêmeas. O tamanho do território estimado (método do Polígono Convexo Mínimo) variou consideravelmente entre os animais estudados, indo de 43,79 km² até 177,65 km² (ver TABELA 2 e FIGURA 3 para as localizações). Os machos adultos se movimentaram por uma média de 4,22 km entre as localizações e as fêmeas adultas, uma média de 3,73 km. O intervalo médio entre as localizações foi de um dia para os animais com rádio-colar de GPS e de 10 dias para os animais com rádio-colar de VHF. O tamanho médio do território foi de 102,02 km² para os machos (n=2) e 87,27 km² para as fêmeas (n=5). A área de sobreposição média foi de 6,42 km² (6%) para os machos e 16 km² (18%) para as fêmeas. Sem dúvida, algumas dessas variações podem ser devidas às diferenças entre os sexos, à faixa etária e às preferências de habitats.

Os sete animais com rádio-colar usaram uma área total de aproximadamente 300 km². A densidade mínima estimada de adultos e sub-adultos em um período de quatro anos foi, então, de 2,33 onças/100 km², muito similar à estimada através do levantamento por armadilhas fotográficas (2,22 onças/100 km²).



Macho 01 MCP
 Macho 02 MCP
 Fêmea 01 MCP
 Fêmea 02 MCP
 Fêmea 03 MCP
 Fêmea 04 MCP
 Fêmea 05 MCP

Figura 3: Territórios das onças com rádio-colar no Parque Estadual Morro do Diabo.

Em Belize, Rabinowitz & Nottingham (1986), usando a rádio-telemetria por VHF, reportaram que o tamanho do território de quatro machos variou de 28 a 40 km², com uma média de 33,4 km², cerca de três vezes menos que a média dos machos no Morro do Diabo. No mesmo estudo em Belize, duas fêmeas tiveram um alcance de 10 e 11 km², respectivamente, o que significa oito vezes menos que as fêmeas do Morro do Diabo. Ao contrário deste estudo, o tamanho do território daquelas duas fêmeas

Tabela 2: Tamanho do território das Onças com rádio-colar no Parque Estadual Morro do Diabo

Onças	Datas do rastreamento	Peso (kg)	Nº de localizações	Tamanho do Território (km ²) MCP
Fêmea 01	02/03-07/03	68	92	43,79
Fêmea 02	08/00-11/01	59	11	50,51
Fêmea 03	07/02-02/03	56	214	88,60
Fêmea 04	09/98-01/00	86	33	132,74
Fêmea 05	04/02-08/02	55	20	120,82
Macho 02	01/03-06/04	98	162	87,62
Macho 01	04/03-08/03	90	33	177,31

não se sobrepõem em Belize, enquanto que os dos machos o fez significativamente. A teoria prevê que a sobreposição de território em machos de espécies carnívoras solitárias é esperada se a densidade de fêmeas for baixa (Sandell, 1989). No Parque Nacional do Iguaçu, no sul do Brasil, o tamanho estimado do território das onças (MCP) variou consideravelmente, indo de 8,8 km² até 138 km² (Crawshaw *et al.*, 2004). Novamente, essas diferenças poderiam ser atribuídas à baixa capacidade de suporte dos habitats semidecíduais.

Seleção de habitats

A estrutura espacial da metapopulação de onças na eco-região do Alto Paraná-Paranapanema foi baseada nos dados de habitat. Essa conexão entre os dados de habitat e o modelo de metapopulação foi possível graças ao programa de dados espaciais construído utilizando-se o *software* Ramas-GIS (Akçakaya, 2002). Esse programa usa os dados espaciais de exigências de habitat das espécies, como por exemplo, os mapas de cobertura gerados pelo GIS, e combina esses dados em um mapa de potencial de adequação do habitat (HS) em função de suas características. Esse mapa então é usado para encontrar manchas de habitat, por intermédio da identificação das áreas de alto potencial de adequação onde as populações de onças exis-

tem e podem sobreviver. A localização dos habitats e das onças que originou a base dessa análise preliminar é proveniente do Parque Estadual Morro do Diabo e arredores.

Incluiu-se principalmente o mapa topográfico e o de categorias de habitats, que melhor explicaram a distribuição espacial das manchas de habitat e das metapopulações de onças-pintadas (TABELA 3). Esses mapas foram preparados por Alexandre Uezu (unidade IPÊ-GIS) através de imagens Landsat, usando tanto o conhecimento de campo como a classificação não supervisionada das três imagens de satélite Landsat 7ETM que cobriram toda a extensão da região do Morro do Diabo. A análise foi feita com os programas Erdas Imagine 8.4 e Arcview 3.3/Spatial Analyst. Foi avaliada a seleção de habitat como sendo a distribuição de todas as posições independentes das onças em cada tipo de habitat em relação à disponibilidade desse habitat durante o período de estudo (FIGURA 4). A seletividade de habitat foi então definida, comparando-se a disponibilidade (A) e a utilização (U), usando-se o índice de seletividade de Ivlev (1961), qual seja: índice de seletividade = $(U-A)/(U+A)$. A seleção de habitat foi avaliada em uma escala bruta (equivalente à ampla visão da exigência de um animal), onde as localizações das onças incluídas nas categorias de habitat foram feitas na mesma proporção de sua disponibilidade no local de estudo.

Tabela 3: Disponibilidade e seleção de habitat pelas onças-pintadas na área do Morro do Diabo

Tipo de Habitat	(A) Proporção de disponibilidade no local de estudo (%)	(U) Proporção de localizações das onças-pintadas (%)	Índice de seletividade de IVLEV	Seleção
1- Água	4,89	4,03	-0,09663	-
2- Floresta primária	2,56	12,63	0,66265	+++++
3- Floresta secundária	2,95	7,79	0,45048	+++
4- Floresta aluvial	1,27	2,41	0,30943	++
5- Várzea densa	3,06	6,98	0,38971	++
6- Várzea aberta	11,69	24,19	0,34810	++
7- Agricultura	21,84	34,40	0,22343	+
8- Pasto	51,70	7,52	-0,74584	-----

Onde: + (mais) e - (menos) indicam a força de seleção

As onças selecionaram os tipos de hábitat de uma forma não aleatória em comparação à disponibilidade na área de estudo no Morro do Diabo. Embora as florestas primárias e secundárias formem em conjunto uma pequena porcentagem dos habitats disponíveis (5,51%), elas foram bastante selecionadas. Florestas aluviais, várzeas abertas ou densas foram escolhidas em uma proporção equivalente ao dobro das suas respectivas disponibilidades. Áreas de agricultura e habitats abertos e com água foram pouco procurados. Pastos abertos não foram selecionados. Com a continuação deste estudo, será realizada a estimativa de densidade de ungulados em cada hábitat. Isso permitirá correlacionar o tamanho do território das onças, sua densidade, movimentos e padrões de atividade com as informações das presas e incorporar a dinâmica presa-predador na abordagem de detetives de paisagem. Além disso, durante este estudo, alguns incidentes de predação de gado foram relatados pelos pecuaristas do entorno do parque, mas nenhuma evidência de onças feridas ou baleadas foi encontrada. O impacto da depredação

causada pelo gado e sua relação com a ecologia da onça-pintada nas áreas de estudo merecem investigação e serão consideradas durante a continuação desta pesquisa.

Essas análises ressaltam a importância das florestas e várzeas como habitats-chave para a sobrevivência das últimas populações de onças-pintadas na eco-região do Alto Paraná-Paranapanema. Resultados similares também foram reportados para outras populações de onças em regiões Neotropicais (Medellin *et al.*, 2002). Recomenda-se que esses habitats sejam considerados altamente prioritários nas estratégias de manejo e conservação da eco-região, na abordagem de conservação da paisagem que vem sendo desenvolvida pela WWF e organizações parceiras. Exatamente por serem a floresta e a várzea os primeiros ambientes perturbados pela invasão humana, eles atuam como pontos potenciais de fragmentação. Trilhas, estradas e canais de irrigação são construídos e a supressão dos complexos de floresta e várzea pode resultar em mais fragmentação dessas populações de onças.

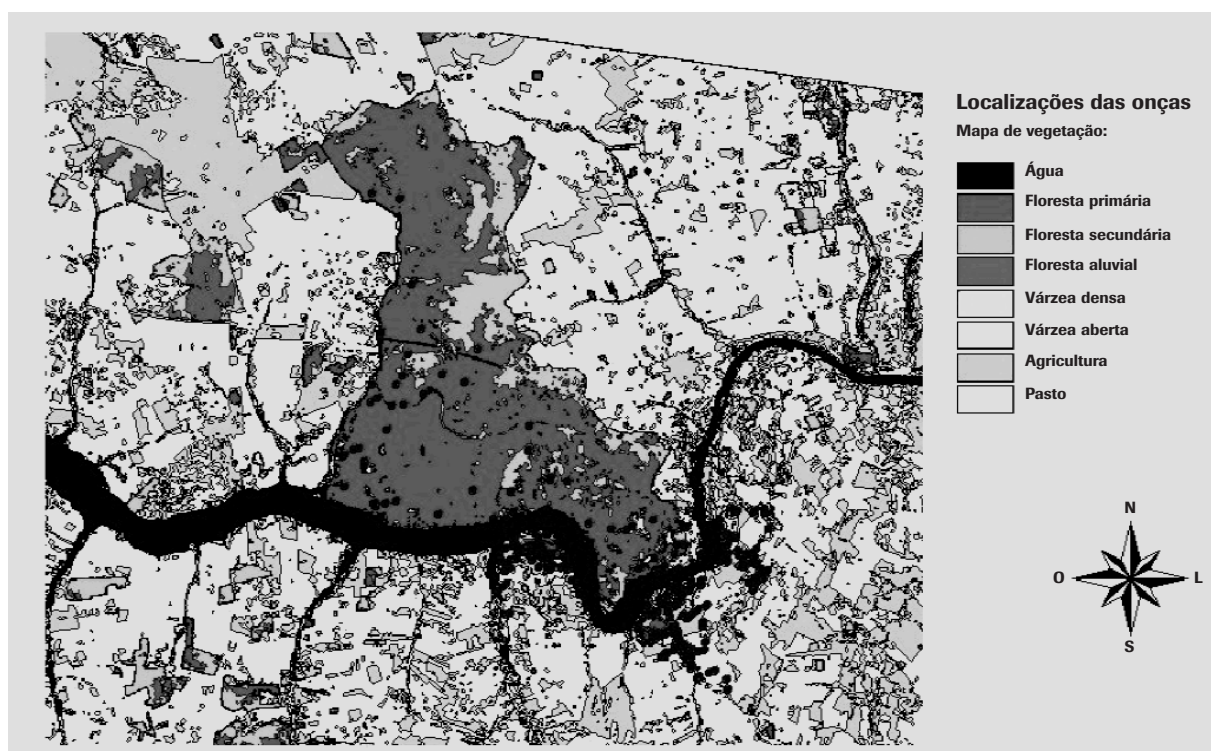


Figura 4: Seleção de habitats de acordo com a distribuição de todos os pontos de ocorrência das onças em cada tipo de habitat e em relação à disponibilidade dos habitats durante o período de estudo.

Estrutura da metapopulação de onças-pintadas na região do Pontal do Paranapanema e do ecossistema do Alto Paraná

Um importante passo para a viabilidade prática do modelo de detetive da paisagem é avaliar a estrutura de metapopulação para as espécies em questão. Descrever a estrutura da metapopulação de onças-pintadas requer o conhecimento de onde elas vivem em relação ao tamanho e ao padrão espacial da cobertura florestal remanescente, onde existem barreiras que isolam a reprodução de sub-populações, onde o hábitat está sendo degradado e onde o homem esgotou a base alimentar das onças até o ponto do tamanho da população diminuir ou das onças extinguírem-se localmente. Portanto, detectar áreas-fonte extensas onde grandes carnívoros com ampla área de vida ocorrem e podem continuar ocorrendo deveria ser considerado uma variável-chave na abordagem de detetives da paisagem. Áreas extensas de paisagens naturais serão requisitadas para a viabilidade de grandes carnívoros a longo prazo (Shaffer, 1987). Onde o hábitat das onças está naturalmente ou artificialmente fragmentado, elas exibirão uma estrutura de metapopulação. Supõe-se que o ecossistema do Alto Paraná-Paranapanema abrigue uma metapopulação de pelo menos cinquenta onças-pintadas em idade reprodutiva.

Foi apresentada uma análise preliminar da dinâmica de metapopulação da onça-pintada para uma área de aproximadamente 5.000 km² na região do Alto Paraná-Paranapanema. Através do programa Ramas GIS, desenvolveu-se o modelo de potencial de adequação do hábitat (HS) para esta espécie, utilizando-se dados de uso do solo e seleção de hábitat pela espécie. Com este modelo de hábitat, calculou-se a estrutura espacial da metapopulação, incluindo tamanho e localização das principais manchas de hábitat e as distâncias entre elas. Usou-se uma combinação de nossos próprios dados junto com a revisão da literatura para estimar parâmetros como sobrevivência, fecundidade e dispersão, combi-

nando-se esses parâmetros com a estrutura espacial para construir um modelo de metapopulação espacialmente explícito, estocástico e estruturado em estágios. Com a maior combinação de parâmetros, o modelo previu um rápido declínio e um alto risco de extinção das populações do Alto Paraná-Paranapanema. Entretanto, quando a população de onças-pintadas do Parque Nacional do Iguaçu, mais ao sul, é incorporada ao modelo, toda a metapopulação parece ser viável.

O MODELO

Foram realizados os resultados de seleção de hábitat encontrados para definir a seguinte Função do Potencial de Adequação do Hábitat:

Potencial de Adequação do Hábitat (HS) =

$$0.022343*[agric]+0.030943*[floalu]+0.038971*[várzeadensa]+0.034810*[várzea aberta]-0.074584*[pasto]+0.066265*[flopri]+0.045048*[flosec]-0.0097*[água]$$

Essa função determina o potencial de adequação de um local baseado em diversos mapas que descrevem as variáveis ambientais. Em outras palavras, ela objetiva identificar os fragmentos de hábitat do ponto de vista das onças-pintadas e tenta determinar como a espécie percebe a fragmentação da paisagem. Essa função é usada para calcular o potencial de adequação do hábitat para cada local do mapa, tendo sido utilizado o mesmo mapa de vegetação. Com base neste mapa foram criadas oito camadas de dados descrevendo a proporção (em percentagem) de cada tipo de hábitat em um *grid* de nove hectares (300 x 300 m). As referências das camadas do mapa estão indicadas entre os colchetes na função de hábitat.

A ligação entre o mapa de hábitat e a metapopulação foi caracterizada por dois outros parâmetros: o limiar do potencial de adequação do hábitat (HS), que foi o menor valor do potencial de adequação do hábitat, abaixo do

qual este não é considerado adequado para reprodução e sobrevivência; a distância dos locais com características semelhantes, usada para identificar as células próximas que pertencem ao mesmo fragmento e podem representar, por exemplo, a distância média de forrageamento da espécie. Com base em evidências de outras localizações da onça-pintada ao longo de toda a bacia, foi definido um limiar de HS de 2,0 para as onças da região do Alto Paranapanema. Esse parâmetro foi estimado de acordo com o valor mínimo de HS entre as células do *grid*, nas quais foram coletadas evidências de campo da reprodução da onça (fêmeas com filhotes). Através dos resultados de telemetria foram definidas 12,40 células (3.720 metros) como sendo a distância média de forrageamento das onças com rádio-colar.

O programa Ramas permite o cálculo da capacidade de suporte (K) baseado no valor total de hábitat de cada fragmento. Com base no tamanho do território e nos resultados das armadilhas fotográficas estimou-se a capacidade de suporte como $K=8$ para o Morro do Diabo, considerando apenas os animais adultos e sub-adultos. O número total - com todos os adultos, sub-adultos e indivíduos jovens - para o Morro do Diabo foi estimado em cerca de 15 animais. Especificou-se, então, a relação entre os valores totais de potencial de adequação de hábitat para o Morro do Diabo, K e os números totais em uma função pré-definida pelo usuário. Para este modelo básico e preliminar, nenhum ambiente, estocasticidade demográfica e catástrofes foram considerados. Nas simulações, foi assumido um

modelo tipo “*Ceiling*” dependente de densidade para cada população e usou-se a capacidade de suporte, calculada com base nos dados de hábitat, como sendo “*ceilings*” de população. Os efeitos da dispersão da onça-pintada na análise de viabilidade também foram modelados e referem-se ao movimento das onças (indivíduos sub-adultos) entre as manchas de hábitat. Uma taxa de dispersão (proporção de indivíduos que dispersam de uma população para outra) de 10% foi inicialmente usada nessa análise preliminar. A análise da dinâmica populacional da onça com o modelo descrito anteriormente foi composta por uma série de simulações. Cada simulação consistiu de 1.000 repetições e cada uma delas projetou a abundância de cada população para cem anos. Uma análise de sensibilidade foi feita, considerando-se mudanças em taxas de sobrevivência e K nas populações de onça-pintada.

Através do mapa de hábitat e dos parâmetros descritos anteriormente, o programa encontrou três manchas de hábitat (grupos de células com características semelhantes próximas umas das outras). A estrutura de manchas encontrada foi bastante realista considerando-se o hábitat remanescente, ocorrências conhecidas da onça-pintada e a localização de algumas áreas protegidas na região do Alto Paraná-Paranapanema. Os dados de capacidade de suporte, abundância total e áreas de manchas identificadas pelo modelo são apresentados a seguir (TABELA 4, FIGURA 5).

A estimativa populacional da onça para to-

Tabela 4: Capacidade de suporte, abundâncias totais e áreas de manchas identificadas pelo modelo.

Manchas	Local	K*	Abundância total	HS total	HS Médio HS	Área (km²)	% de área da mancha
1	Morro do Diabo	9	14	20678	5,30	351	19,61
2	Ivinhema	14	21	32256	2,97	976	54,47
3	Ilha Grande	7	10	15273	2,96	465	25,92
TOTAL		30	45	68207	3,74	1792	100,00

K = somente adultos e sub-adultos, Abund. total = todos os indivíduos

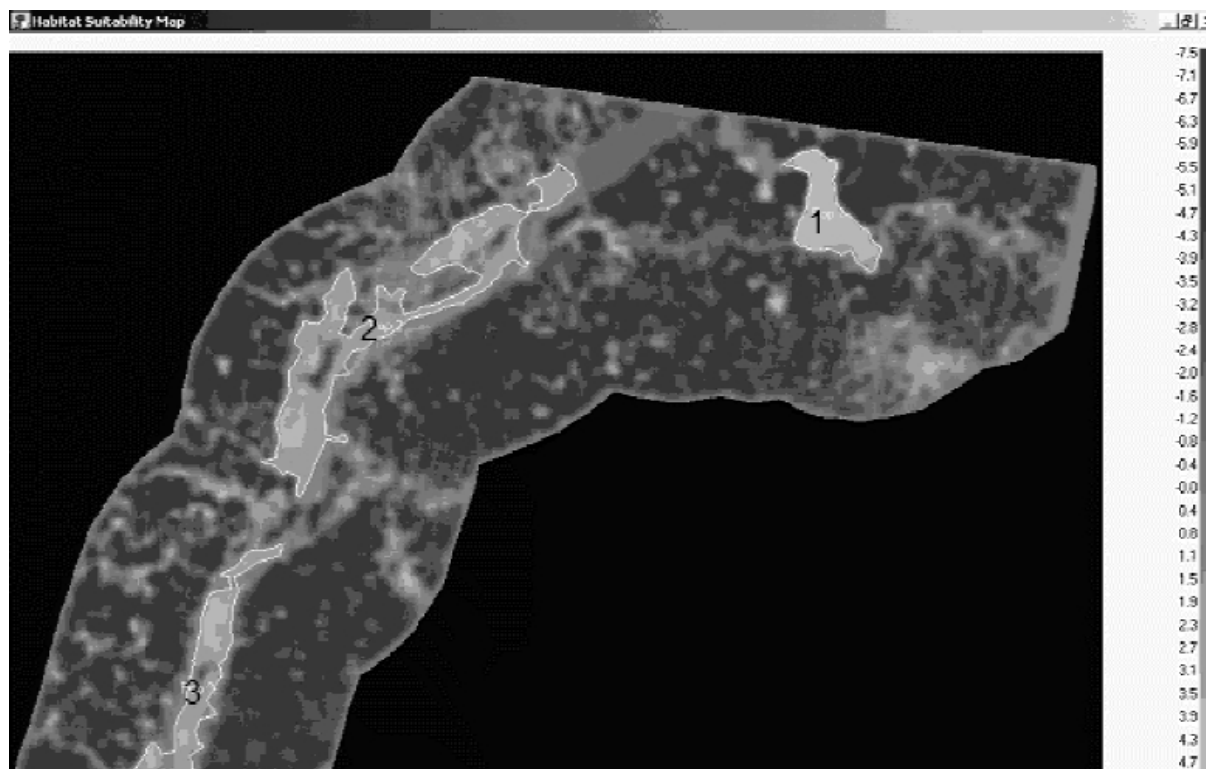


Figura 5: Estrutura das manchas das populações de onças-pintadas na região do Alto Paraná-Paranapanema. Os valores do potencial de adequação do habitat estão representados na escala à direita da figura, com os valores variando de -7,5 (menos adequado) até + 6,8 (mais adequado). O delineamento em branco representa o limite externo das manchas 1, 2 e 3. A mancha 1 corresponde à área do Parque Estadual Morro do Diabo; a mancha 2, ao Parque Estadual de Ivinhema; e as várzeas mais ao sul e a mancha 3 correspondem à área do Parque Nacional de Ilha Grande.

dos os fragmentos foi de cerca de 45 indivíduos, com a capacidade de suporte igual a 30, considerando-se apenas adultos e sub-adultos. A maior mancha (a 2), com uma área de 976 km², compreende a região do Parque Estadual de Ivinhema e uma grande área ao sul em direção ao Parque Nacional de Ilha Grande, onde ainda existem populações consideráveis de onças. Essa mancha representou 54% da área total de todas as manchas. Apenas 2,6% da paisagem total analisada está coberta pelas três manchas consideradas mais adequadas, sendo uma área muito pequena considerando-se as necessidades da onça. As manchas apresentam intervalos entre elas, que representam locais não adequados para atender às necessidades de habitat e distância de forrageamento da onça. Esses intervalos podem afetar a conectividade da paisagem e a dispersão entre as manchas. O mapa do poten-

cial de adequação do habitat também pode ser usado para identificar os corredores de áreas-trampolim – células com alto valor de potencial de adequação de habitat fora das manchas identificadas – ligando as sub-populações de onça e contribuindo para o planejamento e restauração de uma paisagem interconectada.

Viabilidade Populacional

Com o maior número de combinações de parâmetros, o modelo previu uma diminuição e risco de extinção da população de onças do Alto Paraná-Paranapanema (FIGURAS 6 a 9). O risco de chegar abaixo do limiar de metapopulação de dez indivíduos foi de cerca de 80% em 80 anos. O tempo médio de extinção é de 88 anos.

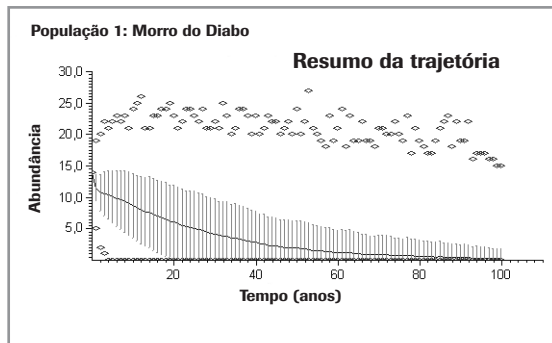


Figura 6: Resumo da trajetória da população do Morro do Diabo*.

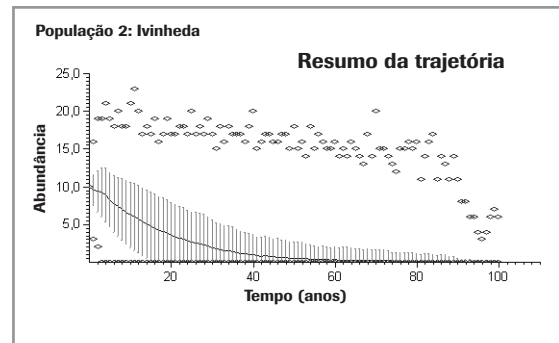


Figura 7: Resumo da trajetória da população da mancha de Ivinhema*.

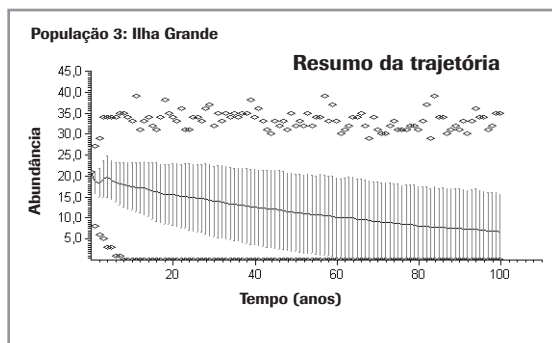


Figura 8: Resumo da trajetória da população da mancha de Ilha Grande*.

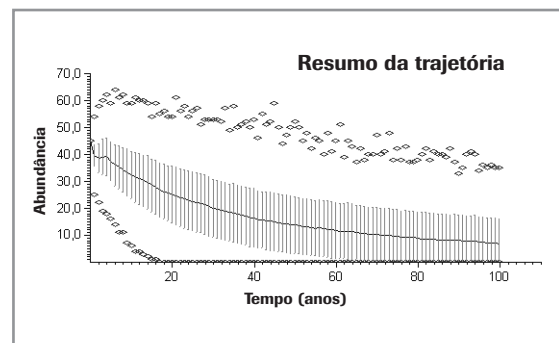


Figura 9: Resumo da trajetória da Metapopulação*.

* Os pontos nas figuras representam valores mínimos e máximos obtidos em cada simulação. Linhas verticais ao longo da trajetória representam ($\pm$) desvio padrão (SD) para os a média.

Um resultado surpreendente foi o efeito negativo, embora fraco, da dispersão natural e dispersão manejada (translocação). Quando a dispersão é modelada entre as três manchas (permitindo uma taxa de dispersão de 10% entre as manchas; algumas translocações foram dispersões naturais, o que não é comum) o modelo produz resultados bastante similares, sem diferenças significativas entre os dois cenários (TABELA 5; FIGURA 10). Isso pode ser explicado pelo tipo de fonte e dinâmicas de fonte e dreno (Alçakaya & Atwood, 1997). Embora todas as populações no modelo tenham taxas de vida similares (por isso *lambdas* similares), as populações menores são mais propensas à extinção como resultado da estocasticidade demográfica. Portanto, o aumento da dispersão significa dispersar as onças-pintadas de populações mais estáveis e maiores para populações menores e mais propensas à extinção. Entretanto, a análise de sensibilidade mostrou resultados significativos quando a dispersão é combinada com um aumento de

15% nas taxas de vida da população (aumento da taxa de sobrevivência em 15% e diminuição da taxa de mortalidade em 15%). Considerando-se este cenário, a metapopulação tem grandes chances de continuar existindo pelos próximos 100 anos, estabilizando em cerca de 40 indivíduos (FIGURA 11).

Outro objetivo dessa análise foi demonstrar qualquer chance na viabilidade através da adição de outra população na metapopulação de onça-pintada do Alto Paraná-Parapanema. Isso foi feito incluindo-se nas simulações a mais meridional das populações de onças protegidas no Brasil – a do Parque Nacional do Iguaçu. O valor usado para a capacidade de suporte da população do Iguaçu foi $K=40$ e a abundância total de 67 indivíduos (Crawshaw *et al.*, 2004). Além disso, com base neste cenário, é muito importante enfatizar que a dispersão natural da onça entre o Iguaçu e a região do Alto Paraná-Parapanema é possível quando se considera a dis-

Tabela 5: Resultados de sensibilidade para diferentes parâmetros e cenários, usados na modelagem da viabilidade da metapopulação de onça-pintada do Alto Paraná-Paranapanema, com o programa RAMAS.

Parâmetros/Cenário	Efeito	Risco de extinção Final A	Ocupação da Metapopulação B	MDO	IVO	IGO
Modelo Base	-	65%	12	2	8	2
Modelo Base + 10% de taxa de dispersão	-	100%	5	1	3	1
Modelo Base + 10% de taxa de dispersão						
+ 15% de taxa de vida	+	1%	42	12	20	10
Modelo Base + 10% de dispersão natural						
+ Parque Nac. Iguaçu	+	0%	65	3	3	6
Modelo Base + 10% de dispersão natural						
+ transloc + Iguaçu	+	0%	74	10	11	6

A. Mostra a probabilidade da abundância da metapopulação acabar abaixo do limiar do número de 10 indivíduos daqui a 50 anos;

B. A ocupação da metapopulação: mostra o número total de indivíduos que a metapopulação está propensa a ter daqui a 50 anos;

MDO = Área de ocupação no Morro do Diabo em 50 anos;

IVO = Área de ocupação de Ivinhema em 50 anos;

IGO = Área de ocupação de Ilha Grande em 50 anos.

Transloc = translocações ou dispersões manejadas em uma taxa de 10% entre todas as populações.

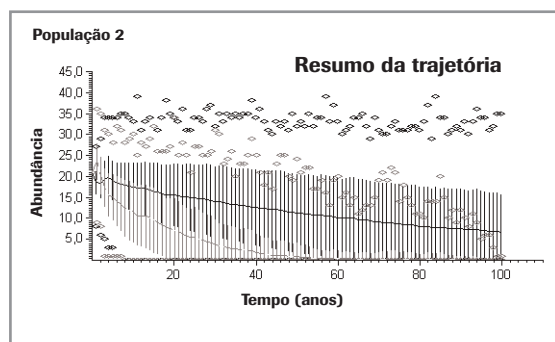


Figura 10: Efeitos da dispersão (linha verde) na população de Ivinhema, a qual mostra os resultados de onças migrando de populações maiores e mais estáveis para populações menores e com maior probabilidade de extinção*.

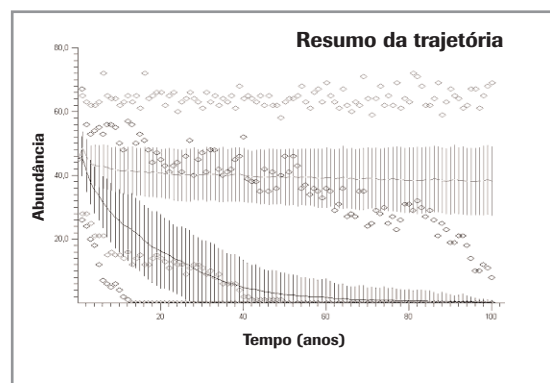


Figura 11: Resumo da trajetória da metapopulação quando a dispersão é modelada com um aumento de 15% na taxa de vida das populações*.

* Os pontos nas figuras representam valores mínimos e máximos obtidos em cada simulação. Linhas verticais ao longo da trajetória representam ($\pm$) desvio padrão (SD) para os a média.

tância de dispersão da espécie e o desenvolvimento dos principais programas de restauração de florestas sendo colocados em prática ao longo desse corredor. Os resultados do modelo mostraram efeitos positivos, que foram ainda melhores quando se incluiu a translocação no programa de manejo, em combinação com a dispersão natural, o que é considerado praticável.

DISCUSSÃO

Considerando-se as análises preliminares das manchas, pode-se concluir que o uso de grandes carnívoros, como a onça-pintada, como detetives da paisagem parece ser um bom método para identificar grandes áreas-núcleo e importantes reservas da vida selvagem para a conservação da biodiversidade. É uma meto-

dologia focada em detalhes, que usa o ponto de vista do animal para determinar a conservação da paisagem, o que em troca pode conservar todo o ecossistema, considerando que os carnívoros de topo de cadeia exigem uma boa base de presas, grandes áreas-núcleo e conectividade entre as populações.

O censo realizado através das armadilhas fotográficas estimou que a população de onças-pintadas (adultos e sub-adultos) para o Parque Estadual Morro do Diabo está em torno de 2,22 indivíduos/100 km². Essa estimativa é baixa quando comparada a outros estudos no Parque Iguaçu e Pantanal Brasileiro, mas muito similar às estimativas obtidas em outras áreas neotropicais. Essas diferenças poderiam ser atribuídas à baixa produtividade de florestas semidecíduais do interior do continente que fazem limite com a vegetação de cerrado, afetando portanto a distribuição e densidade das espécies de presas. A análise das manchas identificou três áreas de habitat importantes para a conservação da onça e da biodiversidade, que foi consistente com a ocorrência já conhecida da onça e a localização de áreas protegidas na região do Alto Paraná-Paranapanema. Somente 2,6% de toda a paisagem analisada está coberta pelos três habitats considerados mais adequados. A população total de onças estimada para a eco-região foi de quarenta e cinco indivíduos. Os intervalos encontrados entre as manchas podem afetar a conectividade da paisagem e a dispersão entre elas. Entretanto, o mapa de habitats identificou importantes áreas-trampolim que poderiam ser manejadas e restauradas para aproximar e ligar as populações de onças no futuro.

Com o maior número de combinações entre os parâmetros, a análise de viabilidade da população (PVA) preliminar previu um declínio e risco de extinção da população de onças do Alto Paraná-Paranapanema. O risco de chegar abaixo do limiar de metapopulação de dez indivíduos foi de cerca de 80% em 80 anos. O tempo médio para extinção foi de 88 anos. o efeito negativo foi surpreendente da dispersão natural. Quando a dispersão é modelada entre as manchas, o modelo produz resultados muito similares àqueles explicados pelo tipo de fonte ou dinâ-

mica de fonte e dreno, presente em populações pequenas e instáveis. A análise de sensibilidade mostrou resultados significativos quando a dispersão é combinada com 15% de aumento nas taxas de vida da população (aumento da taxa de sobrevivência e diminuição da taxa de mortalidade) e/ou considerando-se na estratégia as populações do Parque Nacional do Iguaçu. A metapopulação e todas as populações identificadas têm probabilidade de se estabilizar e continuar existindo quando este cenário é considerado. Em termos práticos, a curto prazo, o aumento das estatísticas de vida da onça significa evitar a caça ilegal e os conflitos entre onças e homem, proteger as populações de presas, conseqüentemente aumentar a capacidade de suporte e reforçar as regras e regulamentos nas áreas de proteção e manchas de habitat identificados neste estudo. O aumento da dispersão natural e da dispersão manejada é recomendado para médio-longo prazo.

As descobertas preliminares dessa pesquisa a longo prazo sobre a onça-pintada enfatizam a importância do aumento das taxas de vida para as populações de onça. A curto prazo, o aumento da taxa de vida (maior fecundidade e menor mortalidade) parece ser mais importante que o aumento da taxa de dispersão. O aumento da dispersão, especificamente para a metapopulação do Alto Paraná-Paranapanema, só é recomendado uma vez que as populações de onça atinjam pontos de maior estabilidade. A sensibilidade dessa análise sugere que esses resultados preliminares não devem ser interpretados em termos absolutos. Particularmente, seria inapropriado usar esses resultados para concluir que a metapopulação de onças na bacia do Alto Paraná-Paranapanema está ameaçada de extinção. Há simplesmente muitas incertezas sobre a maioria dos parâmetros para prever com confiança qual será o tamanho da população daqui a cinquenta anos ou qual poderia ser o risco de extinção. Apesar dessa incerteza, esses modelos podem ter uso prático de duas maneiras (Alçakaya & Atwood, 1997): 1) eles proporcionam informações sobre quais parâmetros precisam de uma estimativa mais cuidadosa e onde os trabalhos de conhecimento e de cam-

po deveriam ser concentrados, 2) eles permitem alinhar as opções de manejo de acordo com seus efeitos previstos na viabilidade da espécie-alvo. Com o desenvolver deste trabalho e com mais dados demográficos e ecológicos acumulados, será possível alcançar resultados mais confiáveis e propor recomendações de manejo mais pragmáticas. 

REFERÊNCIAS

- Akçakaya, H.R. 2002. *Linking spatial data with population viability analysis*. Ramas GIS User Manual V.4 Applied Biomathematics. Setauket, New York.
- Akçakaya, H.R and Atwood, J.L. 1997. A habitat-based metapopulation model of the California Gnatcatcher *Conservation Biology* 11:422-434
- Baitello, J.B.; Pastote, J.A.; Aguiar, O.T.; Serio, F.C.; Silva, C.E.F. 1988. A vegetação arbórea do Parque Estadual do Morro do Diabo, Município de Teodoro Sampaio, Estado de São Paulo. *Acta Botanica Brasilica*, 1(2): 221-230.
- CAMTRAKKER Inc. www.camtrakker.com
- Cullen, L., Bodmer, R.E. and Valladares Padua, C. 2000. Effects of hunting in habitat fragments of the Atlantic forests, Brazil. *Biological Conservation* 95:49-56.
- Crawshaw P.G., Mahler, J.K., Indrusiak, C., Cavalcanti, S.M.C., Leite, M.R.P.L., Silvius, K.M. 2004. Ecology and conservation of the jaguar (*Panthera onca*) -in Iguacú National Park. In: Silvius, K.M., Bodmer, R.B. (eds). *People in Nature: Wildlife Conservation in South and Central America*. Pp 271-285, University of Columbia Press.
- Foreman, D. and K. Daly. 2000. An ecological approach to wilderness area designation. *Wild Earth* 10(4):66-72.
- Ivlev, V.S. 1961. *Experimental ecology of the feeding of fishes*. Yale Univ. Press, New Haven.
- Karanth, U., Nichols, J.D., 1998, Estimation of tiger densities in India using photographic captures and recaptures. *Ecology* 79:2852-2862.
- Karanth, U. and Nichols, J. 2002. *Monitoring Tigers and Their Prey A Manual for Researchers, Managers and Conservationists in Tropical Asia* 208 p. Centre for Wildlife Studies, Bangalore, India
- Leite, M.R.P., Boulhosa, R.L.P. Galvão, F. and Cullen, L. 2002. Ecology and Conservation of Jaguar on Atlantic Coastal Forest, Brazil. In: Medellín, R. A., C. Chetkiewicz, A. Rabinowitz, K. H. Redford, J. G. Robinson, E. Sanderson, and A. Taber. (eds). Pp. 45-56. *Jaguars in the new millennium. A status assessment, priority detection, and recommendations for the conservation of jaguars in the Americas*. Universidad Nacional Autónoma de México/Wildlife Conservation Society. México D. F.
- Meffe, G.K. and C.R. Carroll. 1997. Genetics: Conservation of Diversity within Species. In, *Principles of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. Pp.161-179.
- Newmark, W.D. 1995. Extinction of mammal populations in western North American national parks. *Conservation Biology* 9:512-526.
- Otis, D. L., K. P. Burnham, G. C. White, and D. R. Anderson. 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildlife Monograph* 62. 135pp.
- Rabinowitz, A.R. and Nottingham, B.G. 1986. Ecology and behaviour of the jaguar (*Panthera onca*) in Belize, Central America. *J. Zool., Lond.* 210:149-159.
- Rexstad, E., and K.P. Burnham. 1991. *Users Guide for Interactive Program CAPTURE*. Colorado Cooperative Fish & Wildlife Research Unit, Colorado State University, Fort Collins, Colorado.
- Sandell, M. 1989. The mating tactics and spacing patterns of solitary carnivores. In: *Carnivore behaviour, ecology and evolution*. Pp. 164-182. Chapman & Hall, London, United Kingdom.
- Sanderson, E.W., Redford, K.H., Vedder, A., Coppolillo, P.B. and Ward, S.E. 2002. A conceptual model for conservation planning based on landscape species requirements. *Landscape and Urban Planning* 58: 41-56.

- Seidensticker, J. 1986. Large carnivores and the consequences of hábitat insularization: ecology and conservation of tigers in Indonesia and Bangladesh. *In*: S.D. Miller and D.D. Everett (eds.). Pp 1-42 *Cats of the world: biology, conservation and management*. National Wildlife Federation, Washington D.C.
- Schaller, G.B. and Crawshaw, P.G. 1980. Movement patterns of jaguar. *Biotropica* 12:161-168.
- Schaller, G.B. 1983. Mammals and their biomass on a Brazilian ranch. *Arq. Zool. Sao Paulo* 31:1-36.
- Shaffer, M. 1987. Minimum viable populations: Coping with uncertainty. *In*: M.E. Soulé (Ed.) *Viable Populations for Conservation*. Pp 69-86. Cambridge: Cambridge University Press.
- Silver, S. C., Linde, E. T. O., Marsh, L. K., Maffei, L., Noss, A., Kelly, M J., Wallace, R. B., Gomez, H. and Ayala, G. 2004. The use of camera traps for estimating jaguar (*Panthera onca*) abundance and density using capture/recapture analysis. *Oryx*. 38(2):1-7.
- Soulé, M., and R. Noss. 1998. *Rewilding and biodiversity: complementary goals for continental conservation*. [Online]. Available at: <http://www.twp.org/aboutus/currprojects/rewilding/images/rewilding.pdf>
- Soulé, M. E., and J. Terborgh, editors. 1999. *Continental conservation: scientific foundations of regional reserve networks*. Island Press, Washington, D.C., .
- Televilt GPS Radio Tracking.2003. www.televilt.se
- Terborgh, J. 1998. The big things that run the world. *Conservation Biology*. 2:402-403.
- Terborgh, J. 1999. *Requiem for Nature*. Island Press, Washington, D. C.

CAP.III

Estimativas de densidade

Onça-pintada (*Panthera onca*)

Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEIVI)

Introdução

O monitoramento de populações animais pode ser definido como uma estimativa de abundância absoluta ou relativa com o propósito de inferir sobre a variação na abundância dos animais no espaço e/ou tempo (Nichols & Karanth 2002). Esse conhecimento é essencial nos trabalhos de manejo e conservação das espécies enfocadas.

Animais de comportamento furtivo, noturno ou que ocorrem em baixas densidades como carnívoros de grande porte são difíceis de serem capturados ou mesmo visualizados na natureza. Para estas espécies, apesar de relativamente nova, a técnica empregando armadilhas fotográficas já tem sido usada amplamente. A técnica é utilizada para detectar presença ou ausência de uma espécie em determinada área (distribuição espacial); para estimativas populacionais de abundâncias relativa, no tempo e espaço; para estimativas populacionais de abundância absoluta (tamanho ou densidade populacional) e para estimar sobrevivência e recrutamento em uma população, se houver amostragens por longo tempo (Karanth *et al.* 2003), particularmente em grandes felinos.

Espécies de animais que possuem marcas naturais podendo ser facilmente individualizados, a exemplo da onça-pintada, possibilitam a utilização da técnica na estimativa de abundância absoluta, utilizando-se as fotos tiradas como capturas e recapturas.

Metodologia

Com o objetivo de estimar a densidade populacional de onças-pintadas e a densidade relativa de predadores e presas no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema em dois anos de trabalho foram feitas duas amostragens de aproximadamente 100 dias cada. Foram armadas 20 unidades de armadilhas fotográficas, distribuídas em dez estações de captura com duas unidades em cada, amostrando diferentes ambientes (fig.1). A área foi dividida em cinco quadrantes sendo o tamanho dos quadrante (112 km²) baseado nas áreas de vida obtidas com radiotelemetria dos animais no local de estudo. Foram colocadas duas estações em cada um dos cinco quadrantes, abrangendo toda área do parque. Os pontos das estações foram escolhidos de acordo com o

conhecimento prévio de utilização da área pelos animais, em estradas e trilhas (“passadores de onça”).

As armadilhas foram armadas entre maio e agosto de 2005 e entre março e julho de 2006 e eram revisadas a cada período entre 10 a 15 dias para troca de pilhas e filmes. De acordo com o acompanhamento, as adequações quanto ao intervalo de tempo entre disparo e turno de funcionamento foram ajustados. Isto para evitar a perda de fotos com o gado, nas áreas do parque ainda ocupadas por rebanho bovino e também com o movimento de carros nas estradas de acesso à sede do parque.

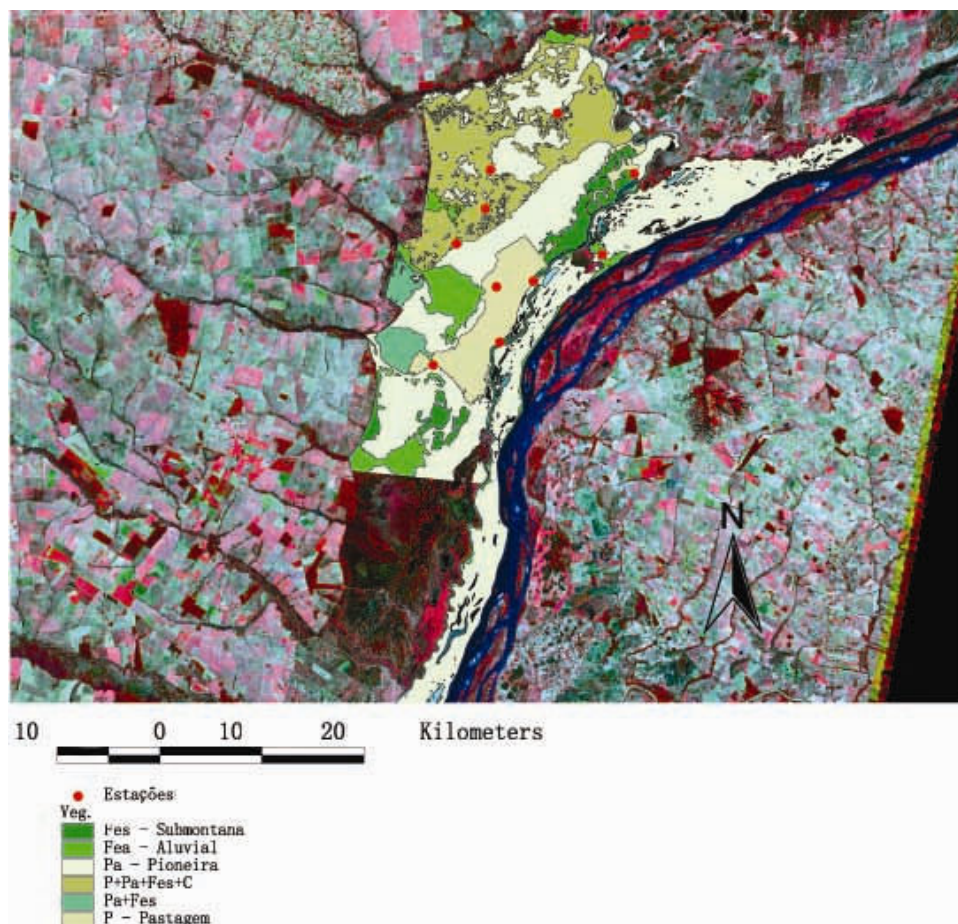


Figura 1- Estações com armadilhas fotográficas nos diferentes tipos de vegetação na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

Resultados

Abundância relativa de predadores e presas

Na amostragem de 2006 calculamos a abundância relativa para as 13 espécies de mamíferos silvestres flagradas pelas câmeras. Os índices (fotos da espécie/ 100 armadilhas-dia) mais altos obtidos foram para anta (*Tapirus terrestris*): 13,02; cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*): 3,54; onça-pintada (*Panthera onca*): 3,44 e onça-parda (*Puma concolor*): 2,08. Para as espécies cateto (*Pecari tajacu*), queixada (*Tayassu pecari*), paca (*Agouti paca*), e tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), os índices ficaram entre 1,0 e 2,0. Índices abaixo de 1,0 foram detectados para lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), cutia (*Dasyprocta azarae*), tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e gambá (*Didelphis albiventris*).

A presença da mastofauna identificada e os altos índices para espécies de grande porte e predadores indicam que o ambiente ainda se mantém preservado, apesar da ação antrópica e da presença de gado no interior da unidade. Isto ressalta a importância da área na conservação da fauna para toda a região do Alto Rio Paraná, nos estados do Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo.

Espécies registradas

Nas duas amostragens realizadas em 2005 e 2006 foram flagradas 20 espécies da fauna, sendo 3 aves e 17 mamíferos, entre predadores e presas.

As espécies registradas foram:

- anta (*Tapirus terrestris*);
- cateto (*Pecari tajacu*);
- queixada (*Tayassu pecari*);
- veado-mateiro (*Mazama americana*);
- cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*);
- onça-pintada (*Panthera onca*);
- onça-parda (*Puma concolor*);
- cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*);

- lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*)
- mão-pelada (*Procyon cancrivorus*);
- quati (*Nasua nasua*)
- tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*);
- tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*);
- capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*)
- paca (*Cuniculus paca*);
- cutia (*Dasyprocta azarae*);
- gambá (*Didelphis albiventris*);
- ema (*Rhea americana*);
- mutum (*Crax fasciolata*);
- perdiz (*Rhynchotus rufescens*).

Os hábitos, comportamento e a ocupação de ambientes diferenciados para cada espécie, influenciam no flagrante e nos índices de densidades relativas das espécies. Portanto outros 10 mamíferos não flagrados pelas câmeras nas duas amostragens foram identificadas no P. E. do Ivinhema apenas por meio de visualização ou vestígios, entre os anos de 2002 e 2006:

- lontra (*Lontra longicaudis*);
- furão (*Galictis vittata*);
- gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*);
- gato-palheiro (*Leopardus colocolo*);
- gato-mourisco (*Puma yaguarondi*);
- mico-prego (*Cebus apella*);
- bugiu (*Alouatta caraya*);
- tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*);
- ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*);
- tatu-peludo (*Euphractus sexcinctus*).

As espécies não flagradas, mesmo algumas sendo comuns na área, indicam que os levantamentos de fauna devem ser feitos por diversos métodos, além da utilização de armadilhamento fotográfico. Também o período de tempo de trabalho na área deve ser adequado para possibilitar a identificação do maior número de espécies.

Estimativa populacional de onça-pintada 2005

As armadilhas fotográficas foram armadas na área do P. E. do Ivinhema de 5 de maio a 27 de agosto. Deste período de 114 dias foram descartados 24 , sendo incluídos apenas os dias em que todas as estações estiveram em funcionamento. Para as análises, os 90 dias válidos foram divididos em 9 ocasiões de 10 dias cada.

Do total de 55 filmes batidos foram tiradas 54 fotos de 8 indivíduos diferentes de onça-pintada.

A análise estatística foi feita utilizando o programa Capture (versão 1994) baseada nos métodos de captura-recaptura. Uma matriz é construída com os dados de captura (fotos batidas) dos animais (número de animais capturados, total de capturas e novas capturas), a partir da qual são calculados os testes estatísticos.

Segundo o teste Jackknife foi estimada uma população de 10 indivíduos (erro padrão = 1,92). Com um intervalo de confiança (95%) entre 9 e 17 indivíduos de onça-pintada ocupam a área do parque do Ivinhema e proximidades. Em comparação com trabalhos feitos com tigre na Ásia, os resultados dos testes estatísticos são bastante confiáveis e precisos. Porém a continuidade dos trabalhos servirá para aumentar a confiabilidade das estimativas.

Antes do cálculo de densidade precisamos saber a área abrangida pelas câmeras (“buffer”), que é calculada a partir da metade da média das distâncias máximas (MMDM) percorridas pelos animais. Se forem utilizados somente os dados das câmeras (distâncias entre as câmeras que fotografam o mesmo animal) este valor geralmente subestima a área acabando por superestimar a população. Por isso calculamos a área do MMDM com os dados da radiotelemetria, sendo bem mais precisos. Comparando-se os dois métodos, o MMDM e a área de buffer dos rádios é três vezes maior que o das câmeras. Isso ressalta a importância da utilização de diferentes métodos de monitoramento e a integração entre eles para obtenção de dados com maior confiabilidade.

Para comparação calculamos densidades com três fontes de dados de área abrangida (“buffer”) distintos além de outra estimativa feita somente com dados de radiotelemetria(D): a partir de dados somente de armadilhas fotográficas (A); a partir de dados de radiotelemetria (B); e a partir de dados de radiotelemetria mas avaliando-se somente o habitat favorável disponível para a espécie (C) (tab.1).

Tab. 1 - Densidade populacional utilizando distintos tamanhos de área amostrada de acordo com diferentes métodos de análise.		
Método	Área	Densidade
(A) – Buffer cameras	588 Km ²	1,70 Ind./100 Km ²
(B) – Buffer Radiotelemetria	1866 Km ²	0,54 Ind./100 Km ²
(C) – Habitat favorável	1185 Km ²	0,84 Ind./100 Km ²
(D) - Radiotelemetria GPS		0,72 Ind./100 Km ²

O resultado baseado no habitat favorável para a espécie(C), mescla métodos de armadilhas fotográficas, radiotelemetria e análise de habitat potencial através de imagens de satélite. Este parece ser o mais adequado para a área de estudo. Comparado-se as densidades é também a que mais se aproxima da estimativa obtida pelas áreas de vida(D) no trabalho com radiotelemetria. Por tratar-se de área com poucos indivíduos e uma baixa densidade o monitoramento da população deve ser contínuo, primeiro para observação de variação nos índices de densidade e abundância relativa, posteriormente, se necessário, para manejar a população.

Os resultados mais confiáveis indicam uma densidade de 0,84 indivíduos /100 km² na região do parque. Esta densidade é baixa, comparando-se com outras áreas que variam de 2,22 (P.E. do Morro do Diabo - SP), 2,9 (Pantanal-MT) e 3,7 (P.N. do Iguaçu - PR).

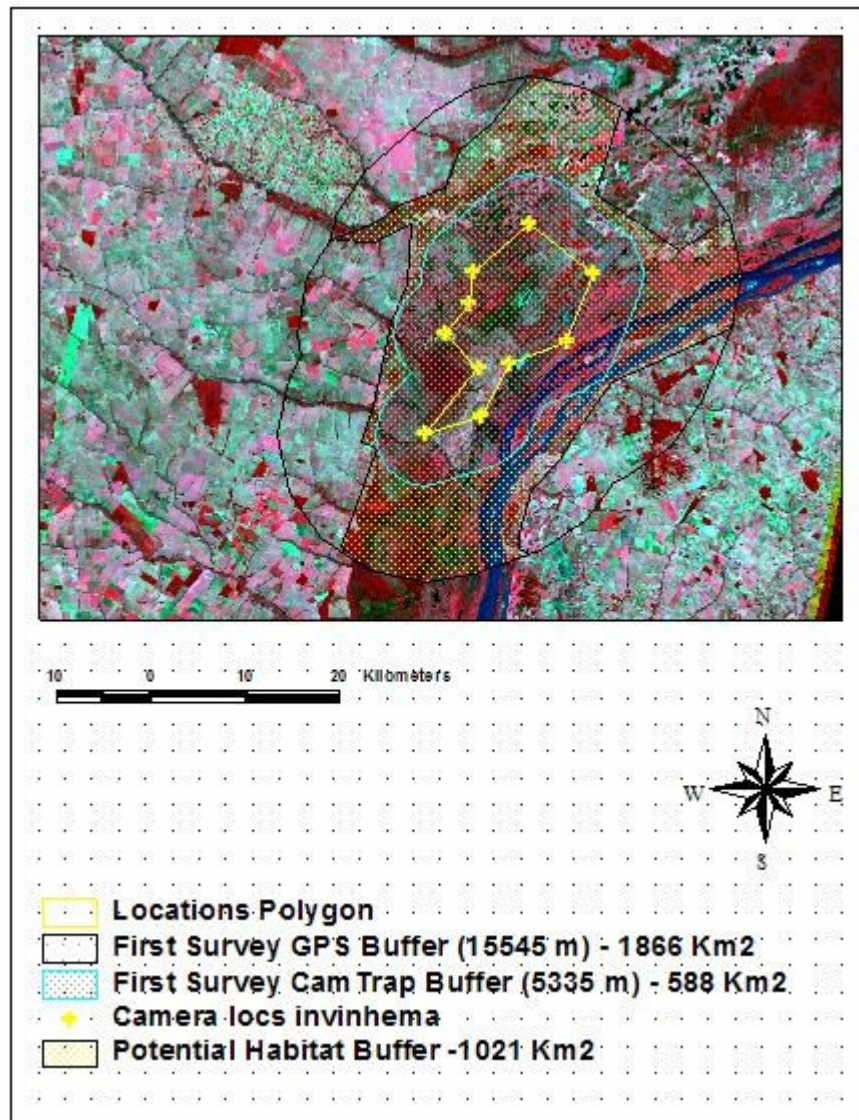


Figura 2- Imagem da área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema com a sobreposição das zonas de abrangência (“buffer”) da amostragem seguindo MMDM da radiotelemetria, das câmeras e do habitat favorável para onça-pintada.

Comparações das análises entre 2005 e 2006

Em 2006 as máquinas foram colocadas nos mesmos quadrantes do ano passado, possibilitando a comparação destes dados. Durante o período de amostragem das armadilhas fotográficas, de março a julho deste ano, foram utilizados 51 filmes. Os filmes revelados bateram 33 fotos de onça-pintada e 20 de onça-parda, já descontada a duplicidade de fotos tiradas no mesmo instante e na mesma estação, já que há duas câmeras por estação.

Foram flagrados oito indivíduos distintos de onça-pintada. Três são machos e cinco são fêmeas, como na amostragem anterior, em 2005. Destes, cinco indivíduos já foram fotografados na primeira amostragem em 2005 e três indivíduos são novos:

-uma fêmea subadulta é filhote de uma das fêmeas flagradas anteriormente na estrada que dá acesso a sede do parque, próximo ao rio Curupaí;

-um macho também foi flagrado no mesmo local, mas em dias distintos da fêmea com filhote;

-outra fêmea foi identificada pela primeira vez, flagrada na estação da foz do arroio Fumaça, na beira do Ivinhema.

Dos oito animais um casal já foi capturado e monitorado por radiotelemetria, bem como um macho de onça-parda flagrado, que está sendo monitorado no momento.

As análises de estimativa populacional apresentadas abaixo foram feitas com o programa Capture. Este programa indica os melhores modelos de análise para estimar a população. O mais indicado foi o M(o) onde a estimativa da população é feita com probabilidade constante de captura, isto é, que o mesmo animal tem a mesma possibilidade de ser flagrado por todas as câmeras. O segundo modelo indicado M(h), que pode ser mais apropriado em grandes áreas de amostragem e pela característica territorial da espécie, avalia a probabilidade variável de captura em diferentes câmeras.

São comparados os resultados de 2005 e 2006 com armadilhamento fotográfico, incluindo-se estimativas de tamanho populacional e densidade.

Mark-recapture population and density estimation program
Program version of 16 May 1994

M(o) - Population estimation with constant probability of capture

2005

Number of trapping occasions was 9
Number of animals captured, M(t+1), was 8
Total number of captures, n., was 22
Estimated probability of capture, p-hat = 0.3056
Population estimate is 8 with standard error 0.6077
Approximate 95 percent confidence interval 8 to 8
Profile likelihood interval 8 to 9

2006

Number of trapping occasions was 9
 Number of animals captured, $M(t+1)$, was 8
 Total number of captures, n ., was 20
 Estimated probability of capture, $p\text{-hat} = 0.2778$
 Population estimate is 8 with standard error 0.7494
 Approximate 95 percent confidence interval 8 to 8
 Profile likelihood interval 8 to 10

M(h) - Population estimation with variable probability of capture by animal.**2005**

Number of trapping occasions was 9
 Number of animals captured, $M(t+1)$, was 8
 Total number of captures, n ., was 22
 Interpolated population estimate is 10 with standard error 1.9165
 Approximate 95 percent confidence interval 9 to 17

2006

Number of trapping occasions was 9
 Number of animals captured, $M(t+1)$, was 8
 Total number of captures, n ., was 20
 Interpolated population estimate is 25 with standard error 9.9230
 Approximate 95 percent confidence interval 14 to 57

O resultado do M(h) de 2006 foi o mais discrepante, provavelmente pelo baixo índice de recaptura dos animais. O número estimado foi de 25 indivíduos mas o erro foi de 9,9 e o intervalo de confiança (95%) foi de 14 a 57 animais. Segundo os outros resultados e o conhecimento da área e da população os resultados de 2005 e do M(o) de 2006 são os mais confiáveis podendo-se assumir o número de 10 indivíduos para o cálculo de densidade para as duas amostragens, mantendo-se a densidade populacional de 0,84 ind./100km². Porém os trabalhos com armadilhamento fotográfico devem continuar para adequarmos as estimativas e prosseguir o monitoramento das populações de predadores e presas.

Futuros levantamentos poderão ser feitos variando a quantidade e tamanho dos quadrantes utilizados na amostragem, dependendo da área de uso utilizada pelas onças. Para as amostragens realizadas usamos a média das áreas utilizadas no tamanho dos quadrantes. Poderá ser usada também a menor área de uso de um indivíduo no parque e mais câmeras para comparações. Também a utilização do método por longos períodos na

mesma área poderá estimar a taxa de sobrevivência anual e taxas de recrutamento da população, informações pouco conhecidas para a espécie e de vital importância para modulações de estratégias conservacionistas.

Referências bibliográficas

Nichols, J. D. & Karanth, K. U. 2002. Population monitoring: a conceptual framework. Pp. 23-28, *In: Monitoring Tigers and their prey: a manual for researchers and conservacionists in Tropical Asia*. Karanth, K. U. & Nichols, J. D. (eds). Center for wildlife studies. Bangalore, India.

Karanth, K. U.; Nichols, J. D. & Cullen Jr, L. 2003. Armadilhamento fotográfico de grandes felinos: algumas considerações importantes. Pp.269-284, *In: Métodos de Estudos em Biologia da Conservação & Manejo da Vida Silvestre*. L. Cullen Jr, R. Rudran & C. Valadares-Padua (orgs). Editora da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

Apresentações em congressos

Foram apresentados trabalhos com os resultados do primeiro estudo com armadilhas fotográficas - para identificação da fauna e estimativa populacional de onça-pintada - no Parque do Ivinhema, nos seguintes congressos:

1 - VII Congresso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre na Amazônia e América Latina, Ilhéus-BA, 3 a 7 de setembro de 2006.

ESTIMATIVA POPULACIONAL DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*) UTILIZANDO ARMADILHAS FOTOGRÁFICAS NO PARQUE ESTADUAL DAS VÁRZEAS DO RIO IVINHEMA, MS. (ANEXO 1 - Resumo);

2 - I Congresso Sul-Americano de Mastozoologia, Gramado, RS, de 5 a 8 de outubro de 2006.

IDENTIFICAÇÃO DA MASTOFAUNA E ÍNDICES DE ABUNDÂNCIA RELATIVA POR ARMADILHAMENTO FOTOGRÁFICO NO PARQUE ESTADUAL DAS VÁRZEAS DO RIO IVINHEMA, MS. (ANEXO 2 - Resumo).

ANEXO 1

ESTIMATIVA POPULACIONAL DE ONÇA-PINTADA (*Panthera onca*) UTILIZANDO ARMADILHAS FOTOGRÁFICAS NO PARQUE ESTADUAL DAS VÁRZEAS DO RIO IVINHEMA, MS. Dênis A. Sana**, Laury Cullen Jr*, Kauê C. Abreu*, Fernando Lima* (**Instituto Pró-carnívoros, *Instituto de Pesquisas Ecológicas-IPÊ)

O P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS, (73.300 ha), está localizado na última área não afetada por barragens no rio Paraná, sendo essencial para a conservação das onças-pintadas na região do Alto Rio Paraná (MS, PR, SP). Nos últimos anos armadilhas fotográficas têm sido utilizadas com maior frequência, auxiliando nos trabalhos de conservação de espécies e planos de manejo de áreas. Com o objetivo de estimar a densidade de onças-pintadas no parque do Ivinhema utilizamos armadilhas fotográficas durante 90 dias. A área foi dividida em cinco quadrantes, sendo seu tamanho baseado nas áreas de vida obtidas com radiotelemetria dos animais no local de estudo. Foram armadas em cada quadrante duas estações com duas armadilhas cada. As análises foram feitas utilizando-se o programa Capture com a premissa de ser uma população fechada, seguindo métodos de captura-recaptura. A população estimada foi de 10 ($EP=1,92$) animais (adultos e subadultos) resultando em uma densidade de 0,84 indivíduos/100km². Comparando-se com outras áreas esta densidade é baixa, reforçando a necessidade de que trabalhos visando a conservação da onça-pintada ao longo prazo no Alto Rio Paraná deverão abranger toda a região incluindo outras unidades de conservação.

Financiador: Companhia Energética de São Paulo - CESP

ANEXO 2

IDENTIFICAÇÃO DA MASTOFAUNA E ÍNDICES DE ABUNDÂNCIA RELATIVA POR ARMADILHAMENTO FOTOGRÁFICO NO PARQUE ESTADUAL DAS VÁRZEAS DO RIO IVINHEMA, MS.

Sana, D. A.¹, Cullen Jr, L.², Abreu, K. C. de².

¹ Instituto Pró-carnívoros, Atibaia, SP, Brasil (denis.sana@uol.com.br); ² Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ, Nazaré Paulista, SP, Brasil.

O P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS, com 73.330 ha, na divisa com o estado do Paraná, está localizado na última área não afetada por barragens da planície de inundação do rio Paraná no Brasil. Esta área remanescente ainda abriga espécies de grande porte da mastofauna, sendo importante na sua conservação. Objetivando identificar as espécies de mamíferos de médio e grande porte, gerando índices de abundância relativa destas, utilizamos armadilhas fotográficas por um período de 96 dias no ano de 2006. A área do parque foi dividida em cinco quadrantes abrangendo diferentes ambientes. Em cada quadrante duas estações foram armadas, resultando num esforço amostral de 960 armadilhas-dia. Foram flagradas 13 espécies de mamíferos silvestres pelas câmeras. Os índices (fotos da espécie/ 100 armadilhas-dia) mais altos obtidos foram para anta (*Tapirus terrestris*): 13,02; cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*): 3,54; onça-pintada (*Panthera onca*): 3,44 e onça-parda (*Puma concolor*): 2,08. Para as espécies cateto (*Pecari tajacu*), queixada (*Tayassu pecari*), paca (*Agouti paca*) e tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), os índices ficaram entre 1,0 e 2,0. Índices abaixo de 1,0 foram detectados para lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), cutia (*Dasypus azarae*), tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e gambá (*Didelphis albiventris*). Outras espécies de mamíferos identificadas no P. E. do Ivinhema entre os anos de 2002 e 2006, não flagradas pelas câmeras foram: ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*), tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*), tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*), cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), veado-mateiro (*Mazama americana*), mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), quati (*Nasua nasua*), furão (*Galictis cuja*), lontra (*Lontra longicaudis*), gato-palheiro (*Leopardus colocolo*) e gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*). A presença da mastofauna identificada e os altos índices para espécies de grande porte e predadores indicam que o ambiente ainda se mantém preservado, apesar da ação antrópica e da presença de gado no interior da unidade. Isto ressalta a importância da área na conservação da fauna para toda a região do Alto Rio Paraná (MS, PR, SP). O monitoramento ao longo do tempo deve ser mantido no P. E. do Ivinhema, visando auxiliar os trabalhos de conservação das espécies e planos de manejo das unidades de conservação da região.

Financiador: Companhia Energética de São Paulo - CESP

CAP. IV

Monitoramento por radiotelemetria

Onça-parda (*Puma concolor*)

Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEIVI)

Metodologia

Os métodos usados para captura e monitoramento das onças-pardas (*Puma concolor*) foram os mesmos que para onça-pintada (*Panthera onca*). Porém as pardas capturadas no parque do Ivinhema foram aparelhadas com colares VHF convencionais sem GPS. Isto resultou num período maior de monitoramento pela durabilidade da bateria do rádio mas com um número menor de localizações. Era feito apenas um registro por animal por cada sobrevôo. As onças capturadas e aparelhadas foram deixadas no mesmo local da captura no interior do parque.

Os animais aparelhados foram monitorados por via aérea, utilizando-se aeronave monomotor experimental, modelo ECHO, com duas antenas direcionais adaptadas aos montantes, conectadas a um receptor.

As áreas de ocupação foram calculadas com o programa Animal Movement (Hooge & Eichenlaub, 2000), uma extensão do Programa Arcview GIS 3.3 (Environmental Systems Research Institute, Inc).

Resultados

A análise da área de uso foi feita utilizando o método de “fixed-kernel”, baseando-se nas áreas mais utilizadas pelas onças com 50, 85 e 95 % das localizações (fig.01). Com 85 % das localizações obtivemos uma área de uso de 112 km² para a fêmea de onça-parda (Pc13) monitorada e uma média de 301 km² para os dois machos (tab.01).

Tabela 1. Áreas de vida (km²) de 1 fêmea e 2 machos de onça-parda no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (2002-2005), usando a análise “fixed-kernel estimator”.

Onças	Anos Mon.	Área de vida total			
		No. loc.	50%	85%	95%
Pc13 F (fig.2)	2,7	49	25	112	264
Pc14 M (fig.3)	2,6	30	16	451	572
Pc16 M (fig.4)	2	39	46	151	293
Média Machos	2,3	34,5	31	301	432,5
Média Total	2,4	39,3	29	238	376,3

* Para os cálculos foram incluídos os animais com ≥ 30 localizações.

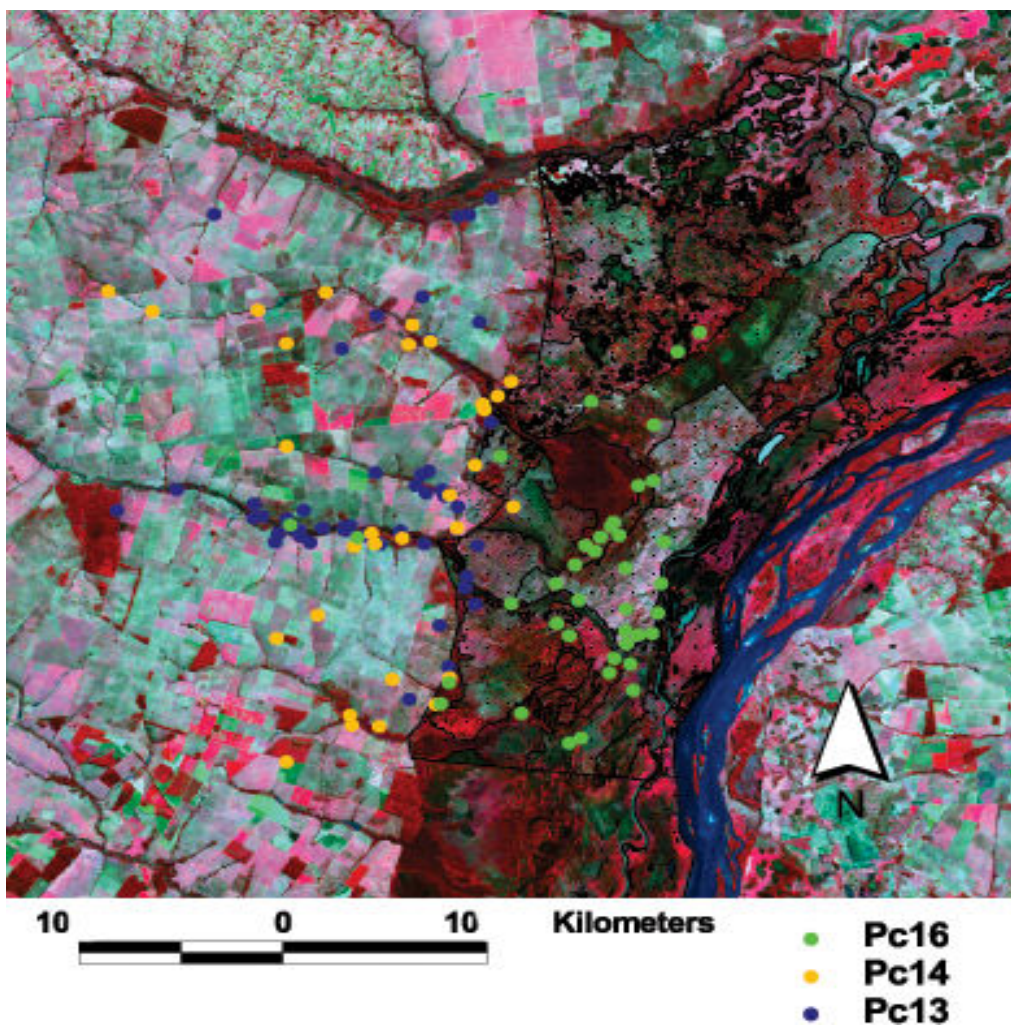


Figura 01. Localizações da onça-parda fêmea (Pc13) e dos machos (Pc 14 e 16) no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

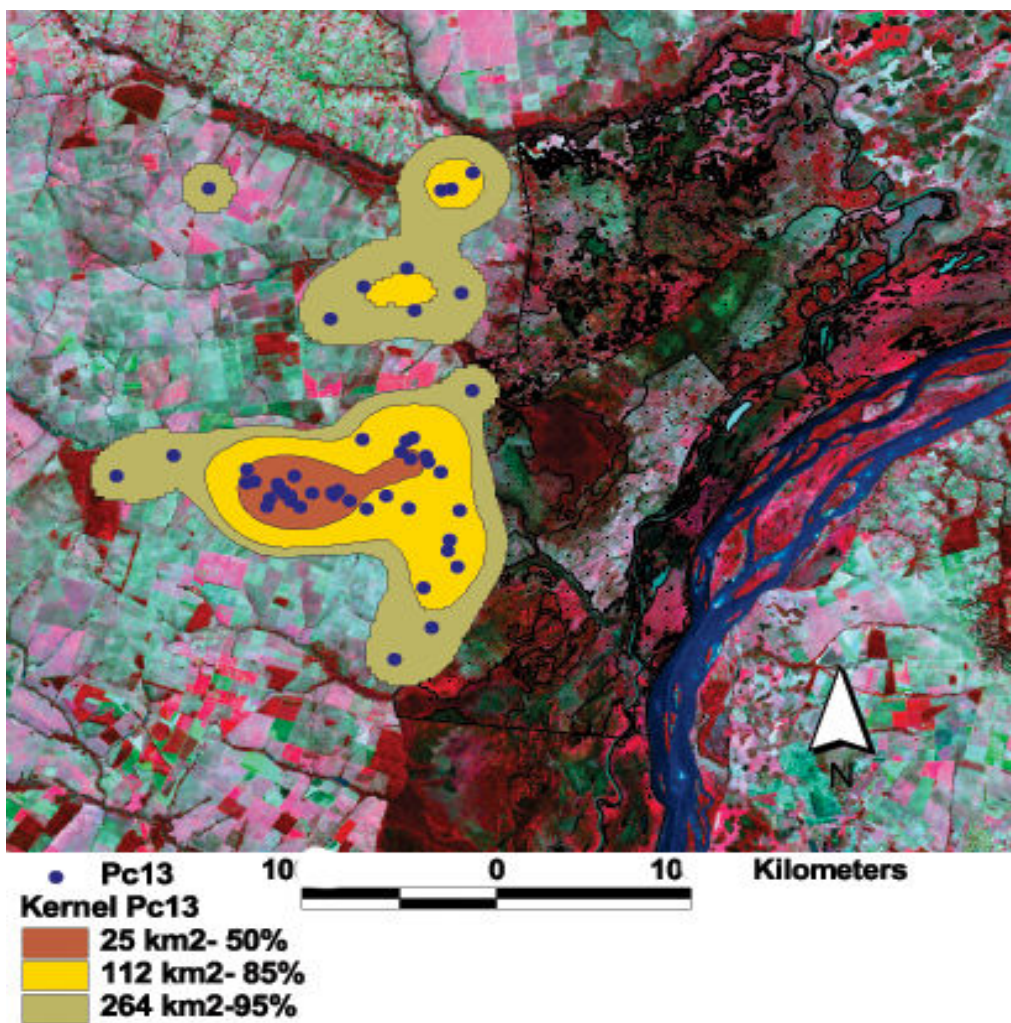


Figura 02. Áreas de uso da fêmea Pc13 (com 50, 85 and 95% dos pontos – fixed kernel) e localizações na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

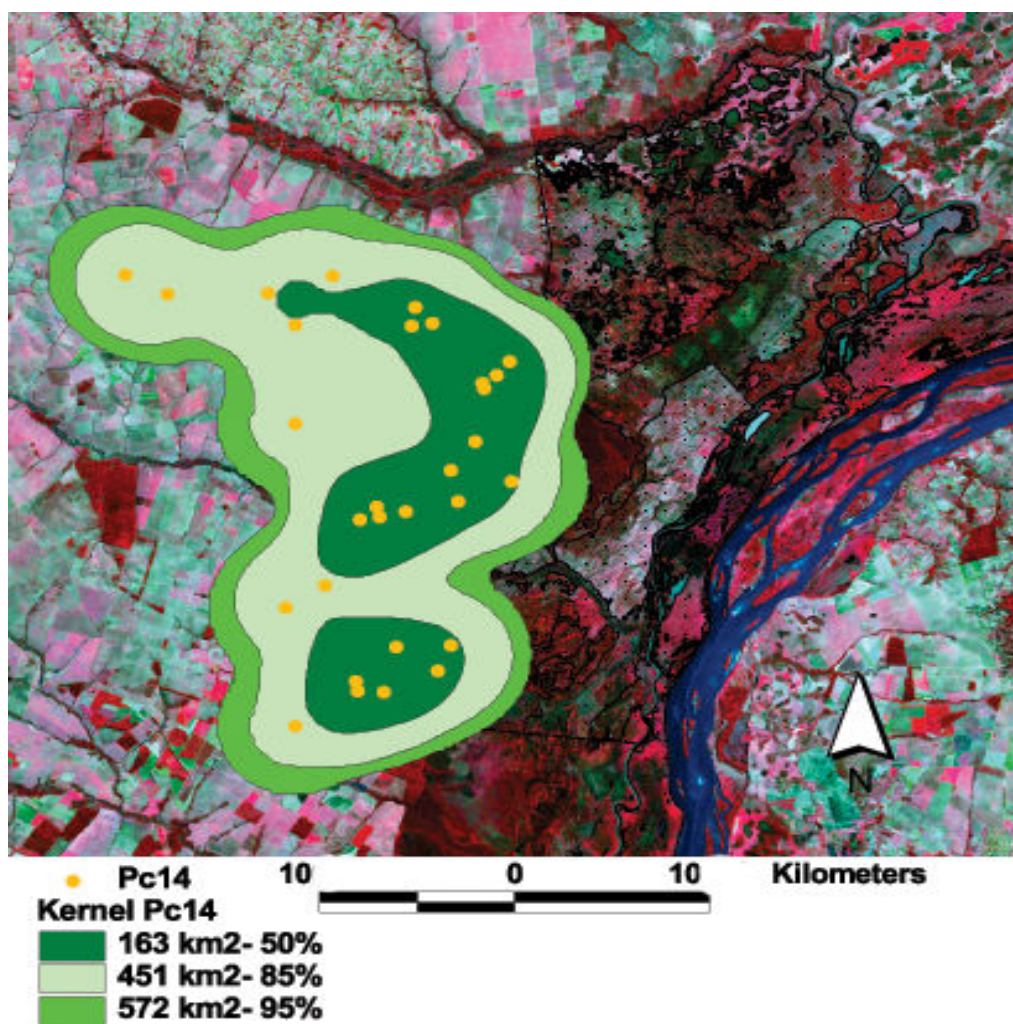


Figura 03. Área de uso anual do macho Pc14 (com 50, 85 and 95% dos pontos - fixed kernel) e localizações na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

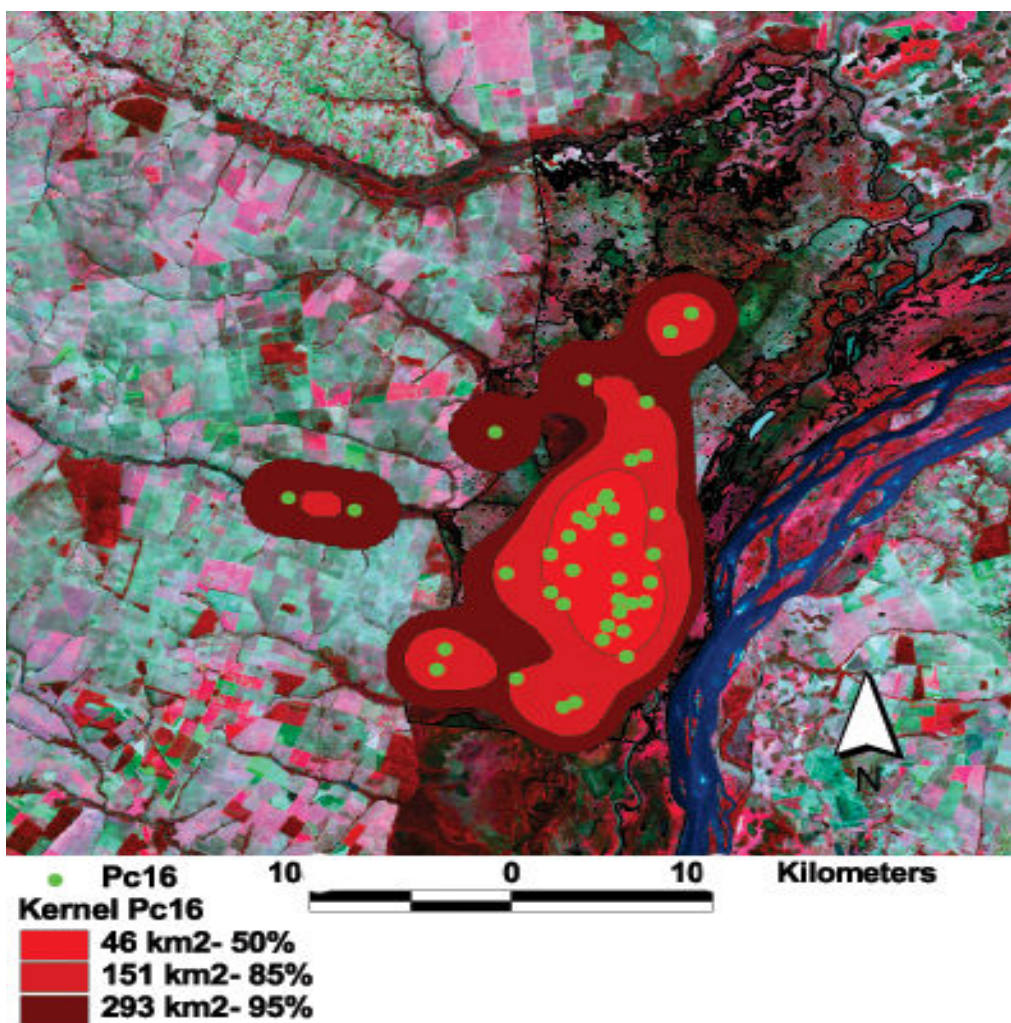


Figura 04. Área de uso do macho Pc16 (com 50, 85 and 95% dos pontos - fixed kernel) e localizações na área do P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema, MS.

Comparando as áreas de ocupação destes animais com as onças-pintadas no parque do Ivinhema, enquanto as pintadas ocupavam quase exclusivamente o interior da unidade um casal de parda, com territórios sobrepostos, ocupava seu entorno, principalmente áreas com vegetação natural nos tributários do Ivinhema como os córregos Curupaí, Fumaça e Guirai. Essa ocupação de áreas mais fragmentadas e antropizadas pode ter influenciado no tamanho de área ocupada, similar ou até maior do que das pintadas (cap.II). Naturalmente as áreas abertas já favorecem o aumento das áreas de uso, pela busca de refúgios e de presas em locais mais distantes, ao contrário de ambientes de mata. As áreas fora do parque, mais degradadas que no interior da unidade, tornam mais relevantes estes fatores para o aumento da área de ocupação.

Comparando-se as áreas dos dois machos o que estava no interior do parque apresentou uma área de uso cerca de 50 % menor do que o que estava no entorno, validando as suposições anteriores. As áreas tiveram cerca de 15% de sobreposição.

A presença de gado na periferia ou no interior da UC, caso do Ivinhema, poderia favorecer a diminuição das áreas de uso, com a oferta de alimento. Apesar de haver predações esporádicas no entorno do parque, as predações em animais domésticos não parecem influenciar negativamente no tamanho da área de uso com sua possível diminuição pela disponibilidade de presas domésticas. Mesmo havendo estas predações as movimentações e áreas foram grandes. Também em relação aos dados de literatura para a espécie, em áreas abertas mas em ambientes distintos, a área de ocupação foi cerca de 50 % maior. No Novo México, EUA, a área de vida média para a espécie foi de 193,4 km² para machos (n=24) e 69,9 km² para fêmeas (n=30) (Logan & Swenar, 2001).

Questões reprodutivas, filhotes no caso de fêmeas e a busca de parceiras pelos machos, além das competições intra e interespecífica, territorialidade, o enfrentamento com o homem na busca de refúgios interferem nos processos de ocupação e tamanho das áreas. Portanto vários fatores podem influenciar nos padrões de uso de área e movimentação.

Referências Bibliográficas

Logan, K. A. & L. L. Swenar. 2001. Desert Puma: evolutionary, ecology and conservation of an enduring carnivore. Washington D.C., Island Press.

ANEXO1

Comparison of the food habits of jaguar, *Panthera onca*, and puma, *Puma concolor*, at the flood plain of Parana River, PR/MS, Brazil.

Kuczach, A. M. ^a, Sana, D. A. ^b, Monteiro-Filho, E. L. A. ^{a,c}

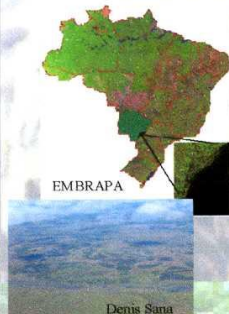
a. Universidade Federal do Paraná

jaguar@ufpr.br

b. Instituto Pró Carnívoros

denis.sana@uol.com.br

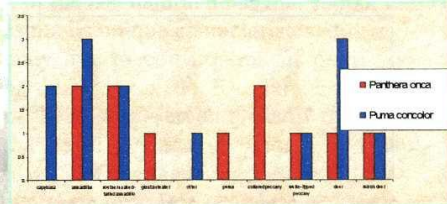
c. Instituto de Pesquisas Cananéia - IPeC



Understand how the neotropics larger felids share the resources, can be an important tool for the conservation of this threatened species, in areas where this felids still coexisted.

Among the last areas of central-south region of Brazil, that support this larger felids, the Varzeas of Rio Ivinhema State Park (VRISP), with 73.300 hectares, is considered one of the best preserved areas of the Flood Plain of the High Parana River.

Since 2002, we collect scats of jaguar (N=11) and puma (N=13) in the VRISP. Both consumed medium and larger mammals, with 50,26% niche overlap. Jaguar present a richer diet.



In VRISP, the richness found in the diet of jaguar and puma may reflect the favorable environment conditions for the support of this top predators. In this conditions, is possible, that the VRISP represent, in long term, a core area in the fragmented landscape of this flood plain, mantaining key species for the mantainance of that ecosystem.

Support : Companhia Energética de São Paulo - CESP

Lisa de Oliveira

CAP.V

Hábitos Alimentares

Onça-pintada (*Panthera onca*)

Onça-parda (*Puma concolor*)

**Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema
(PEIVI)**

Análise da dieta dos grandes felinos

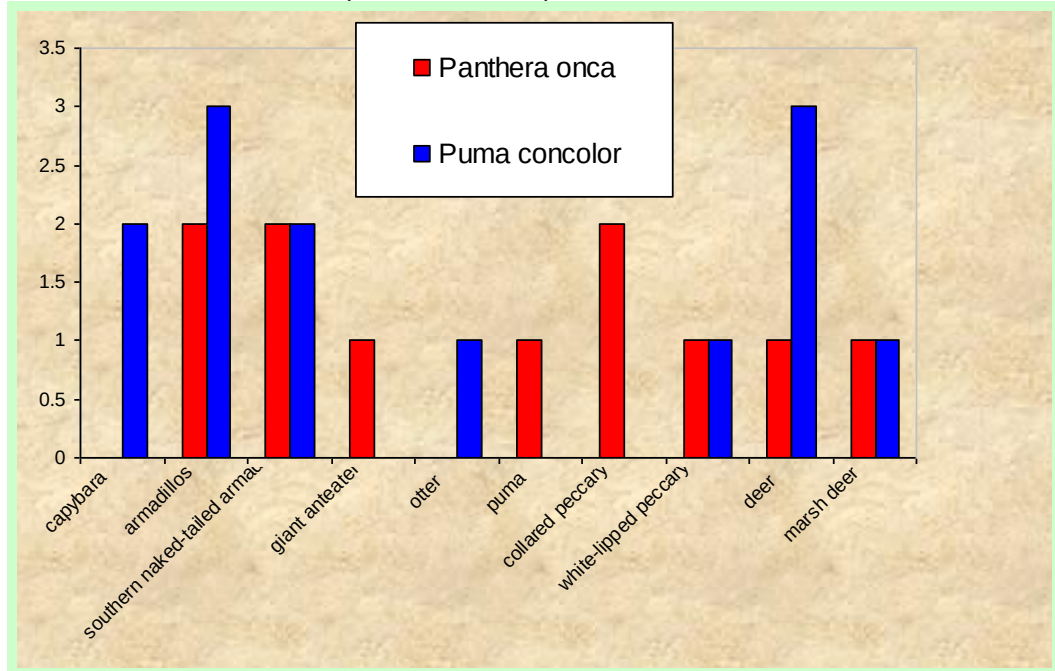
O estudo de dieta pode trazer informações a respeito da disponibilidade de presas, competição interespecífica e seletividade dos predadores, além de possíveis confrontos entre predadores e o homem em áreas antropizadas, refletindo se o ambiente comporta populações de presas naturais e predadores.

Para acessarmos informações sobre os hábitos alimentares das onças parda e pintada coletamos no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema amostras de fezes entre os anos de 2001 e 2006. As amostras eram coletadas nas incursões ao parque em estradas e trilhas. A identificação do predador foi feita pela associação de vestígios com fezes frescas. Outras não eram identificados os predadores, podendo ser feito, se possível, com a análise posterior através da presença de pêlos destes. As fezes eram identificadas, secas e acondicionadas para posterior análise. Entre 2001 e 2006 foram coletadas 13 amostras de onça-pintada, 13 de onça-parda e 12 de grande felino não identificado.

As amostras de fezes coletadas no P.E. do Ivinhema foram enviadas para a bióloga Ângela Kuczach da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, e estão sendo analisadas para os estudos dos hábitos alimentares dos predadores na região do Alto Paraná.

Análises preliminares das amostras do parque do Ivinhema demonstram que a dieta de onça-pintada é mais rica que de onça-parda, havendo uma sobreposição de cerca de 50 % do nicho para as duas espécies, ambas alimentando-se de presas de médio e grande porte (fig. 1). A riqueza da dieta dos grandes felinos reflete as condições ambientais favoráveis para a permanência de predadores de topo na área, salientando a importância do parque na conservação destas espécies(Kuczach *et al.*).

Figura1. Ítems alimentares presentes nas fezes de grandes felinos no P.E. das Várzeas do Rio Ivinhema (Kuczach *et al.*).



Resultados preliminares foram apresentados em dois eventos de divulgação científica:

1. Status and conservation needs of the neotropical Felids International Conference and Workshop, 9-11 de junho de 2005, São Francisco de Paula, RS, BR.

- Comparison of the food habits of jaguar, *Panthera onca*, and puma, *Puma concolor*, at the flood plain of Parana River, PR/MS, Brazil. (ANEXOS 1 - pôster e 2 - resumo).

2. XX Jornadas Argentinas de Mastozoología, dezembro de 2005, Buenos Aires, AR.

- Ecología Alimentar del Jaguar (*Panthera onca*) en la Planicie de Inundación del Alto Rio Paraná (PR/MS), Brasil. (ANEXO 3 – Resumen)

ANEXO 2

COMPARISON OF THE FOOD HABITS OF JAGUAR, *PANTHERA ONCA*, AND PUMA, *PUMA CONCOLOR*, AT THE FLOOD PLAIN OF PARANÁ RIVER, PR/MS, BRAZIL.

Kuczach, Angela M ¹; Sana, Denis A ² and Monteiro-Filho, Emygdio Leite de Araujo ³

¹. Universidade Federal do Paraná. Caixa Postal:19020, CEP.:81.531-980, Curitiba - PR Brazil, angela_felideos@yahoo.com.br

²- Instituto Pró Carnívoros. Rua Floriano Peixoto, 1172, Anaurilândia - MS, CEP: 79770-000 denis.sana@uol.com.br

³- Universidade Federal do Paraná. Caixa Postal:19020, CEP.:81.531-980, Curitiba Paraná Brazil, elamf@ufpr.br

Although the food habits of jaguar and puma, have been relatively well documented in the last years, few researchs focused on the mechanisms that allow these two species to coexist. In the Neotropical region, most of the natural areas were destroyed in the past years, extinguishing areas where these felids coexisted. Thus, understanding how these top predators share the resources at the same area can be an important tool for their conservation, specially in areas where they are threatened. With a single landscape, including flooded areas, semi-deciduous forest and cerrado, the Flood Plain of High Parana River is one of the last natural areas that support these two large felids in the Brazilian central-south region. Despite its unique characteristics, this region was strongly degraded during the past decades, specially due to construction of dams and cattle raising activities. In the north of the flood plain, the Varzeas do Rio Ivinhema State Park (VRISP), with 75,000 hectares, is considered one of the best preserved areas of this ecosystem. At this protected area we have studied the food habits of jaguar and puma, since 2002, and present here our partial results. We have found 24 scats, 13 from jaguar and 11 from puma. There was no difference between the prey sizes of the two predators. Both consumed medium and large preys, varying from 3 to 150 kg. Jaguar presented a richer diet including collared-peccary, white-lipped peccary, armadillo, southern-naked-tailed armadillo, giant-anteater, puma and marsh deer. In the puma diet we registered armadillo, southern-naked-tailed armadillo, otter, deer, marsh deer and capybara. We found 51.7% niche overlap between these two species (Simplified Morisita Index). The richness found in the diet of puma and jaguar may reflect the favorable environment conditions of the VRISP. Also, the consumption of medium and large preys indicates that the felids can find enough energetic resource to survive, despite the niche overlap. Based on these results, the VRISP might be, in a long term, a core area in the fragmented landscape of the Flood Plain of High Paraná River, maintaining key species for the maintenance of that ecosystem.

Support: Companhia Energética de São Paulo - CESP

ANEXO 3



ECOLOGÍA ALIMENTAR DEL JAGUAR (*Panthera onca*) EN LA PLANICIE DE INUNDACIÓN DEL ALTO RÍO PARANÁ (PR/MS), BRASIL.

Kuczach, A.M.¹; D.A.Sana²; K.C. Abreu³; E.L.A. Monteiro-Filho⁴

¹Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR).
angela_felideos@yahoo.com.br

²Biólogo. Instituto Pró Carnívoros

³Biólogo. Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPÊ

⁴Biólogo, Prof. Dr. Universidade Federal do Paraná, Instituto de Pesquisas Cananéia - IPeC

Estudios sobre hábito alimentar dan importantes informaciones sobre la ecología de las especies y en caso de grandes depredadores, como el jaguar, consisten en una importante herramienta de conservación. En la Planicie de Inundación del Alto Río Paraná (PIARPR), en el centro-sur de Brasil, el hábito alimentar del jaguar ha sido estudiado desde mayo de 2004. La región es formada por un archipiélago fluvial y áreas continentales, comprendiendo aproximadamente 200.000 hectáreas de varzeas, bosque atlántico semideciduo y savanas. Es considerado, aún, el último trecho, brasileño, del Río Paraná libre de presas, y un importante refugio para la fauna, incluyendo el jaguar. Fecas de los grandes félidos fueron colectadas y identificadas por medio de la morfología microscópica del pelo. Las 18 muestras del jaguar indicaron el consumo de 8 especies de mamíferos de medio y gran porte (2Kg hasta 120 Kg.), como *Blastocerus dichotomus*, *Mazama* sp., *Dasypus septemcinctus*, *Dasypus unicinctus*, *Tayassu tajacu*, *Pecari tajacu*, *Myrmecophaga tridactyla* y, en dos oportunidades, *Puma concolor*. La amplitud del nicho alimentar es de 0,864 (Índice de Levin's) indicando que en la PIARPR, el jaguar tiene hábito generalista. La mayor riqueza de cazas en la dieta del jaguar ocurre en el norte de la PIARPR, en el Parque Estadual de Várzeas do Rio Ivinhema (PEVRI) con 8 especies, en cuanto en el sur, en el Parque Nacional de Ilha Grande, fueron identificados apenas 3. Esta diferencia en la dieta, así como el mayor número de muestras colectadas en el norte (N=13), refleja la condición ambiental de la PIARPR, que ofrece mayor abundancia de recursos y abarca una mayor población del jaguar en esa región. A largo plazo la PIARPR puede ser considerada un área esencial para el mantenimiento de poblaciones del jaguar en el centro-sur de Brasil, y el PEVRI un área núcleo de ese paisaje.

CAP. VI

Análises sanitárias

Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEIVI)

Área de influência do reservatório da UE “Sérgio Motta” (Porto Primavera)

Análises sorológicas

As doenças da vida selvagem ainda são pouco conhecidas e estão começando a ser tratadas como tema relevante na conservação dos carnívoros, embora a destruição e fragmentação do habitat e a perseguição de predadores e presas serem tratadas como as maiores ameaças às populações de carnívoros. Em uma revisão sobre o assunto, Funk *et al.* (2001) apresenta inúmeros declínios dramáticos em populações de carnívoros que tem sido acompanhados desde o início dos anos 90, como surtos de raiva em canídeos e de cinomose (CDV) em leões (*Panthera leo*) e doninhas (*Mustela nigripes*), salientando a importância destes estudos na conservação das espécies de carnívoros.

No Brasil menos ainda se conhece a respeito das doenças que afetam a vida selvagem, em particular os carnívoros. O contato com animais domésticos no entorno ou mesmo no interior de unidades de conservação pode agravar os problemas pondo em risco a saúde das populações mesmo em áreas protegidas.

Em convênio com o Instituto de Pesquisas Ecológicas, foram coletadas amostras de cães domésticos no entorno e dentro do parque do Ivinhema bem como foram destinadas amostras de grandes felinos para análises laboratoriais no que se refere às doenças. Foi detectado pela primeira vez no Brasil a exposição de felinos de vida livre ao vírus da cinomose (CDV), em duas onças-pintadas e uma onça-parda. Mesmo não havendo manifestação da doença nos animais soropositivos isso deve ser monitorado na população.

Publicações

Um trabalho (First Evidence of Canine Distemper in Brazilian Free-ranging Felids, Nava *et al.*) com os resultados acima, foi submetido à apreciação para publicação em revista científica. (ANEXO 1)

Outra comunicação foi publicada na revista científica Journal of Wildlife Diseases com análises serológicas, trabalho no qual foram utilizadas duas amostras de onça-parda da região do Alto Rio Paraná, uma de Bataguassu e outra de Ilha Solteira: First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus and *Ehrlichia* Exposure in Brazilian Free-ranging Felids, Filoni *et al.* 2006. (ANEXO 2)

Ectoparasitos

Entre 1999 e 2006 foram coletadas 27 amostras de carrapatos dos grandes felinos na área de influência de Porto Primavera e no parque do Ivinhema. Este material foi destinado para análise e conservação na Universidade de São Paulo (USP), aos cuidados do Professor Doutor Marcelo Labruna.

Publicações

Os estudos realizados incluindo este material foram divulgados em duas publicações científicas:

1. Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil - Labruna *et al.*, 2002. (ANEXO 3);
2. Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Carnivores of Brazil - Labruna *et al.*, 2005. (ANEXO 4).

“Short Communications”

First Evidence of Canine Distemper in Brazilian Free-ranging Felids

Alessandra Ferreira Dales Nava^{1,5,6}, Laury Cullen Jr¹, Dênis Aléssio Sana², , Cássio Roberto Leonel Peterka^{1,5}, Débora de Sousa Bandeira¹, Marcello Schiavo Nardi¹, José Domingues de Ramos Filho³, Thiago Ferraz Lima⁴ Kauê Cachuba Abreu¹, Fernando Ferreira⁵. ¹ IPÊ – Instituto de Pesquisas Ecológicas, Rua Ricardo Fogarolli 387, Teodoro Sampaio, SP, 19280-000, Brazil; ² Pro-Carnívoros, Rua Floriano Peixoto 1172, Anaurilândia, MS, 79770-000, Brazil; ³ Biovet, Rua Coronel José Nunes dos Santos 639, Vargem Grande Paulista, SP, 06730-000, Brazil; ⁴ CESP, Rodovia Marechal Rondon Km 667, Castilho, SP, 16920-000, Brazil; ⁵ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, São Paulo, SP, 05508-270, Brazil; ⁶ Corresponding author (email: alenava@stetnet.com.br ; Phone and Fax 55-18-3282 3924)

Keywords: Canine Distemper Virus, Jaguars, Pumas, Atlantic Forest, Brazil.

Infections of non domestic felids with viruses that are common in domestic carnivores have been reported for numerous species worldwide (Mochizuki et al., 1990; Olmsted et al., 1992; Ostrowsky et al., 2003). Data on viral infections in Brazilian felids are sparse and have concentrated on feline retroviruses (Nava et al., 2004; Filoni et al., 2006). To our knowledge, there are no publish reports of canine distemper infections (CDV) in wild felids in Brazil. CDV has become of global concern affecting a wide range of carnivore species. In North America, a jaguar (*Panthera onca*) was infected by CDV during an epizootic event in captive carnivores (Appel et al., 1994; Cleaveland et al., 2003; Funk et al., 2001). In another occasion, the high animal mortality concentrated among large felids such as tigers (*Panthera tigris*), lions (*Panthera leo*), leopards (*Panthera pardus*), and one jaguar (Kennedy-Stoskopf et al., 1999). It was latter demonstrated that the morbilivirus responsible for this deaths were related to other local wild and domestic carnivores (Barret., 1999; Haas et al.,1996).

The aim of this study was to survey wild jaguars (*Panthera onca*), pumas (*Puma concolor*) and ocelots (*Leopardus pardalis*) from the Atlantic forest determining their exposure to CDV. Free-ranging individuals were sampled from two protected forested areas; The Morro do Diabo State Park (MDSP) (22° 30' S, 52° 20' W) (37.000 ha) and the Ivinhema State Park (ISP) (22° 55' S, 53° 39' W) (73.300 ha). These areas are surrounded by small rural settlements and private properties practicing cattle ranching. Between January 1999 and March 2005, 27 blood samples were collected MDSP (Jaguars n=9, Pumas n=2 and Ocelots n=2), and in ISP (Jaguars n=7, Pumas n=7). Animals were captured with either metal box traps or trained hounds and immobilized with the use of darts and a combination of tiletamine HCl and zolazepam HCl (Telazol®, Fort Dodge, Iowa, USA). Samples were sent to Biovet Lab in Vargem Grande Paulista, SP, and analyzed by the CDV serum neutralization method.

Our results bring the first evidence of CDV exposure in Brazilian free-ranging felids. From the 27 studied samples, two jaguars and one puma were positive for CDV. All positive individuals were from ISP, resulting in 28% of the sampled jaguars and 14% of the sampled pumas, or 21% of the sampled individuals in ISP. No evidence of exposure to CDV was found in MDSP (Table 1). Local settlers and other land owners around both Parks no dot conducts vaccination for CDV in their domestic dogs. The higher prevalence for CDV in ISP compared to MDSP could be related to jaguar habitat use in the area. In ISP, in the wet season, jaguars shift their range from marshlands to upland areas such as pastures. It is know, that jaguar PO 18 positive for CDV has a home range of 280 km², overlapping with three nearby cattle ranches (Cullen et al. 2005). Local cowboys have the habit of herding the cattle in companion with their dogs. This type of physical contact provides ideal circumstances for the transmission of infectious diseases (Butler et al., 2004). Alternatively, it is possible that infection is contracted when a susceptible animal consumes virus infected tissue via predation or scavenging (Foggin et al., 1988; Wandeler et al., 1994). Canine distemper is excreted as an airborne aerosolized virus, and is usually contracted by inhalation (Alexander et al., 1994; Appel et al., 1994), but the potential for large carnivores to contract disease via predation of dogs appears to be significant (Butler et al., 2004). In 1994, a CDV epidemic affected lions in Serengeti National Park in Africa. The CDV source was attributed to domestic dogs around the Park (Roelke-Parker et al., 1996). Our results bring evidences of a possible CDV “spill over” from domestic dogs to wild felids in ISP. It’s possible that this occurs from large infected nearby population of domestic dogs to small wild carnivore threatened populations such as jaguars and pumas (Gascoyne et al., 1993). Our findings of CDV antibodies in these species lead to the eminent need of systematic health monitoring in wild carnivores populations and associated domestic carnivores living in and around protected areas, especially where small, fragmented and threatened wild carnivores still roam.

LITERATURE CITED

- ALEXANDER, A. A., P. W. KAT, R. K. WAYNE, AND T. K. FULLER. 1994. Serological survey of selected canine pathogens among free-ranging jackals in Kenya. *Journal of Wildlife Diseases* 30: 486–491.
- APPEL, M. J., R. A. YATES, G. L. FOLEY, J. J. BERNSTEIN, S. SANTINELLI, L.H.SPELMAN, L. D. MILLER, L. H. ARP, M., ANDERSON, AND M. BARR. 1994. Canine distemper epizootic in lions, tigers, and leopards in North America. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 6: 277-278.
- BARRET, T. 1999. Rinderpest and distemper viruses (*Paramyxoviridae*). In *Encyclopedia of Virology*, 2nd Edition, A. Granoff and R.G. Webster (eds). London: Academic press, 3: 1559-1569.
- BUTLER, J. R. A., J. T. DU TOIT, AND J. BINGHAM. 2004. Free-ranging domestic dogs (*Canis familiaris*) as predators and prey in rural Zimbabwe: threats of competition and disease to large wild carnivores *Biological Conservation* 115: 369–378.
- CLEAVELAND, S., G. R. HESS, A. P. DOBSON, M. K. LAURENSEN, H. I. MC CALLUM, M. G. ROBERTS AND R. WOODROFFE. 2003. The role of pathogens in biological conservation. In *The Ecology of Wildlife Diseases*, 2nd Edition, P. J. Hudson, A. Rizzoci, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, and A. P. Dobson (eds). Oxford: Oxford University Press, pp.139-150.

- 99 CULLEN, L., ABREU, K. C., SANNA, D. AND NAVA, A .F. D. 2005. Jaguars as landscape
100 detectives for the upper Paraná River corridor, Brazil. *Natureza e Conservação* 3: 43-58.
101
- 102 FILONI, C., J.L. CATÃO-DIAS, G. BAY, E.L. DURIGON, R. S. P. JORGE, H.LUTZ, AND
103 R. HOFMANN-LEHMANN. 2006. First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus,
104 Parvovirus, and Erlichia Exposure in Brazilian Free-ranging Felids. *Journal of Wildlife*
105 *Diseases* (42) 2 : 470-477.
106
- 107 FOGGIN, C. M. 1988. Rabies and Rabies-related Viruses in Zimbabwe: Historical,
108 Virological and Ecological Aspects. Ph.D Dissertation, University of Zimbabwe, Harare,
109 Zimbabwe, 67 pp.
110
- 111 FUNK, S. M., C. V. FIORELLO,S. CLEAVELAND AND M. E. GOMPPER. 2001. The role
112 of disease in carnivore ecology and conservation. *In: Carnivore Conservation*, 2nd Edition, J.
113 L. Gittleman, S. M. Funk, D. W. MacDonald and R. K.Wayne (eds). London: Cambridge
114 University Press, pp.442-466.
115
- 116 GASCOYNE, S. C., M. K. LAURENSEN, AND M. BORNER.1993. Rabies in African wild
117 dogs (*Lycaon pictus*) in the Serengeti region, Tanzania. *Journal of wildlife disease* 29: 396-
118 402.
119
- 120 HAAS, L., H. HOFER, AND M. EAST .2003. Canine distemper virus in Serengeti spotted
121 hyaenas. *Veterinary Microbiology* 49: 147-152.
122

- 123 KENNEDY-STOSKOPF, S. 1999. Emerging viral infections in large cats. In Zoo and Wild
 124 Animal Medicine, 4th Edition, M. E. Fowler and R. E Miller (eds). W. B. Saunders,
 125 Philadelphia, Pennsylvania, pp.401-410.
 126
- 127 MOCHIZUKI, M., M. AKUZAWA, AND H. NAGATOMO. 1990. Serological survey of the
 128 Iriomote cat (*Felis iriomotensis*) in Japan. Journal of Wildlife Diseases 26: 236–245.
 129
 130
- 131 NAVA, A. F. D., C. R. L. PETERKA, D. S. BANDEIRA, AND L. CULLEN. 2004.
 132 Avaliação da prevalência pelo vírus da infecção por leucemia felina (FELV) e
 133 imunodeficiência felina (FIV) em felinos domésticos e silvestres na região do Parque estadual
 134 Morro do Diabo – SP In Anais do VIII Congresso e XII Encontro da Associação brasileira de
 135 Animais Selvagens-ABRAVAS, Jaboticabal. pp.85.
 136
- 137 OLMSTED, R. A., R. LANGLEY , M. E. ROELKE, R. M. GOEKEN, J. ADGER-
 138 JOHNSON, J. P. GOFF, C. ALBERT, M. K. PACKER, T. M. LAURENSEN, L. CARO, D.E.
 139 SCHEEPERS, M. WILDT, M. BUSH, J. S. MARTENSON, AND S. J. O'BRIEN. 1992.
 140 Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: Epidemiologic and
 141 phylogenetic aspects. Journal of Virology 66: 608–6018.
 142
- 143 ROELKE-PARKER, M.E., L. MUNSON, C. PACKER, R. KOCK, S. CLEVELAND,
 144 M. CARPENTER, S.J. O'BRIEN, A. POSPISCHIL, R. HOFMANN-LEHMANN, H. LUTZ,
 145 G. MWAMENGELE, M.N. MGASA, G.A. MACHANGE, B.A. SUMMERS AND M.J.G.
 146 APPEL. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). Nature
 147 (London) 379 pp. 441–445.
 148

149 WANDELER, A. I., S.A. NADIN-DAVIS, R. R. TINLINE AND, C .E. RUPPRECHT. 1994.
150 Rabies epidemiology: some ecological and evolutionary perspectives. *In* Lyssaviruses, 1rd
151 Edition, C.E. Rupprecht , B. Dietzschold, and A. Koprowski (eds.). Springer-Verlag, Berlin,
152 pp. 297–324.
153

Table 1. Titles of positive felids for CDV at 100TCID50.

Specie	Animal ID	CDV Title
<i>Panthera onca</i>	Po18	1:64
<i>Panthera onca</i>	Po19	1:64
<i>Puma concolor</i>	Pc 15	1:12

SHORT COMMUNICATIONS

Journal of Wildlife Diseases, 42(2), 2006, pp. 000–000
© Wildlife Disease Association 2006

First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus, and

1 *Ehrlichia* Exposure in Brazilian Free-ranging Felids

Claudia Filoni,^{1,6} José Luiz Catão-Dias,^{1,2} Gert Bay,³ Edison Luiz Durigon,⁴ Rodrigo Silva Pinto Jorge,⁵ Hans Lutz,³ and Regina Hofmann-Lehmann^{3,1} Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, 05508-270, São Paulo, SP, Brazil; ² Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Avenida Miguel Stéfano 4241, 04301-905, São Paulo, SP, Brazil; ³ Clinical Laboratory, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Wintherturerstrasse 260, CH-8057 Zurich, Switzerland; ⁴ Laboratório de Virologia Clínica e Molecular, Departamento de Microbiologia, Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Edifício Biomédicas II, Avenida Prof. Lineu Prestes, 1374, 05508-900, São Paulo, SP, Brazil; ⁵ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, 05508-270, São Paulo, SP, Brazil; ⁶ Corresponding author (email: cfiloni@usp.br)

2 ABSTRACT: Serum samples from 18 pumas (*Puma concolor*), one ocelot (*Leopardus pardalis*), and two little spotted cats (*Leopardus tigrinus*) collected from free-ranging animals in Brazil between 1998 and 2004 were tested by indirect immunofluorescence (IFA) for antibodies to feline herpesvirus 1 (FHV 1), calicivirus (FCV), coronavirus (FCoV), parvovirus (FPV), *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Bartonella henselae*. Serum samples also were tested, by Western blot and ELISA, for feline leukemia virus (FeLV) specific antibodies and antigen, respectively, by Western blot for antibodies to feline immunodeficiency virus (FIV), and by indirect ELISA for antibodies to puma lentivirus (PLV). Antibodies to FHV 1, FCV, FCoV, FPV, FeLV, FIV, PLV or related viruses, and to *B. henselae* were detected. Furthermore, high-titered antibodies to *E. canis* or a closely related agent were detected in a puma for the first time.

Key words: *Anaplasma*, *Bartonella*, *Ehrlichia*, feline viruses, free-ranging felids, *Leopardus tigrinus*, *Leopardus pardalis*, *Puma concolor*, serology.

Infections of nondomestic felids with viruses that are common in domestic carnivores have been reported for numerous species worldwide (Mochizuki et al., 1990; Olmsted et al., 1992; Paul-Murphy et al., 1994; Hofmann-Lehmann et al., 1996; Daniels et al., 1999; Leutenegger et al., 1999a; Fromont et al., 2000; Ostrowski et al., 2003). Although the implications of these infections on wild felid conservation are usually difficult to assess, it is broadly accepted that monitoring these infections is an important component for the man-

agement of endangered populations (Murray et al., 1999; Daszak et al., 2000).

Data regarding viral infections in neotropical Brazilian felids are sparse and have concentrated primarily on feline retroviruses. A feline immunodeficiency virus (FIV) *pol* gene from a Brazilian zoo puma (*Puma concolor*) has been sequenced (Carpenter et al., 1996) and antibodies to FIV have been reported from a Brazilian free-ranging puma (Brown et al., 1993). Additionally, FIV provirus has been reportedly detected in Brazilian jaguars (*Panthera onca*), pumas, jaguarundis (*Herpailurus yagouarondi*), ocelots (*Leopardus pardalis*), margays (*Leopardus wiedii*), pampas cat (*Oncifelis colocolo*), and little spotted cats (*Leopardus tigrinus*) (Leal and Ravazzolo, 1998). Although evidence of exposure to feline leukemia virus (FeLV) and FIV was not detected in a captive small neotropical felid population from São Paulo state in Brazil (Filoni et al., 2003), three captive neotropical felids were found to be FeLV viremic (one margay and two pampas cats) in a survey conducted in North American zoos (Kennedy-Stoskopf, 1999). Captive jaguars, pumas, margays, a pampas cat, and a free-ranging ocelot in Brazil were found FeLV positive on indirect immunofluorescence assays (IFA) (Schmitt et al., 2003).

In Brazil, antibodies to feline coronavirus (FCoV) were reported in captive

jaguars, pumas, margays, a pampas cat, and a free-ranging ocelot (Schmitt et al., 2003). To the best of our knowledge, there are no published reports of FHV 1, FCV, and FPV infections in wild felids in Brazil. Studies have demonstrated the exposure of a variety of free-ranging and captive felids to *Bartonella henselae*, including neotropic felids from North American zoos (Kelly et al., 1998; Yamamoto et al., 1998; Rotstein et al., 2000; Molia et al., 2004; Pretorius et al., 2004). An extensive serosurvey of pumas reported seropositive animals throughout most of the geographical range of the species (Chomel et al., 2004a); the overall seroprevalence in South American pumas was found to be 22.4%. To our knowledge, there is no previous report of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* infections in captive or free-ranging neotropic Brazilian felids.

The aim of this study was to serologically survey free-ranging felids from Brazil to determine the extent of exposure to selected viruses (FHV 1, FCV, FCoV, FPV, FeLV, FIV, and the puma lentivirus, PLV) and hemoparasites (*E. canis*, *A. phagocytophilum*, and *B. henselae*).

The Genome Resource Bank from National Research Center for Carnivores Conservation—CENAP, unity of National Environmental Agency—IBAMA in Brazil provided serum samples, which were transported to Switzerland in full compliance with specific federal permits like Convention on International Trade in Endangered Species—CITES (Permit Numbers 0112928BR and 1562/04), Genetic Heritage Management Council—CGEN and Agriculture Ministry (CSI 1530/2004), on dry ice as diagnostic specimens packed in compliance with IATA Packing Instruction 650. Samples were stored at CENAP at -80°C or in liquid nitrogen.

Blood samples were collected from 18 free-ranging pumas, one ocelot, and two little spotted cats between 1998 and 2004 from four biomes (Amazon Forest, Atlan-

tic Forest, Cerrado, and Pantanal) that included 13 municipalities in the states of Rondônia, Acre, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro (Fig. 1, Table 1). Animals were captured with the use of trained dogs (for large felids) or live traps (small felids) and immobilized with the use of darts and a combination of tiletamine HCl and zolazepam HCl (Telazol®, Fort Dodge, Fort Dodge, Iowa, USA). At the time of sample collection, a complete physical examination was performed; animals were radio-instrumented and were released at the place of capture for further monitoring. One of the samples (serum from heart clot) was obtained from a necropsy performed on the little spotted cat from Ubatuba, São Paulo (Table 1, Fig. 1).

Antibody titers to FHV 1, FCV, FCoV, and FPV were determined in 21 serum samples by IFA as described (Hofmann-Lehmann et al., 1996). All sera were screened at a dilution of 1:20. For FHV 1, FCV, and FPV, positive and questionable results were titrated in a two-fold serial dilution starting at 1:20 until endpoint. For FCoV, positive samples were titrated using 1:25, 1:100, 1:400, and 1:1600 dilutions.

Exposure to *E. canis* and *A. phagocytophilum* or closely related agents was evaluated by IFA with the use of 1:80 dilutions of the serum samples and Mega Screen Fluoehrlichia c. slides (MegaCor Diagnostik GmbH, 6912 Hörbranz, Austria) or *E. equi* slides (VMRD, Inc. Pulman, WA, USA). Serum samples from 20 animals were assayed for antibodies to *B. henselae* by IFA (Glaus et al., 1997). All sera were screened at dilutions of 1:64 and 1:128. Titers of ≥ 64 were considered positive. Positive serum samples were titrated until endpoint by twofold serial dilutions.

For quality control of the IFA slides, aliquots of the cell cultures (140 μl) or scrapings from the slides were tested for presence of unwanted antigens. Samples were incubated at 40°C for 10 min in 300 μl lysis buffer and total nucleic acid

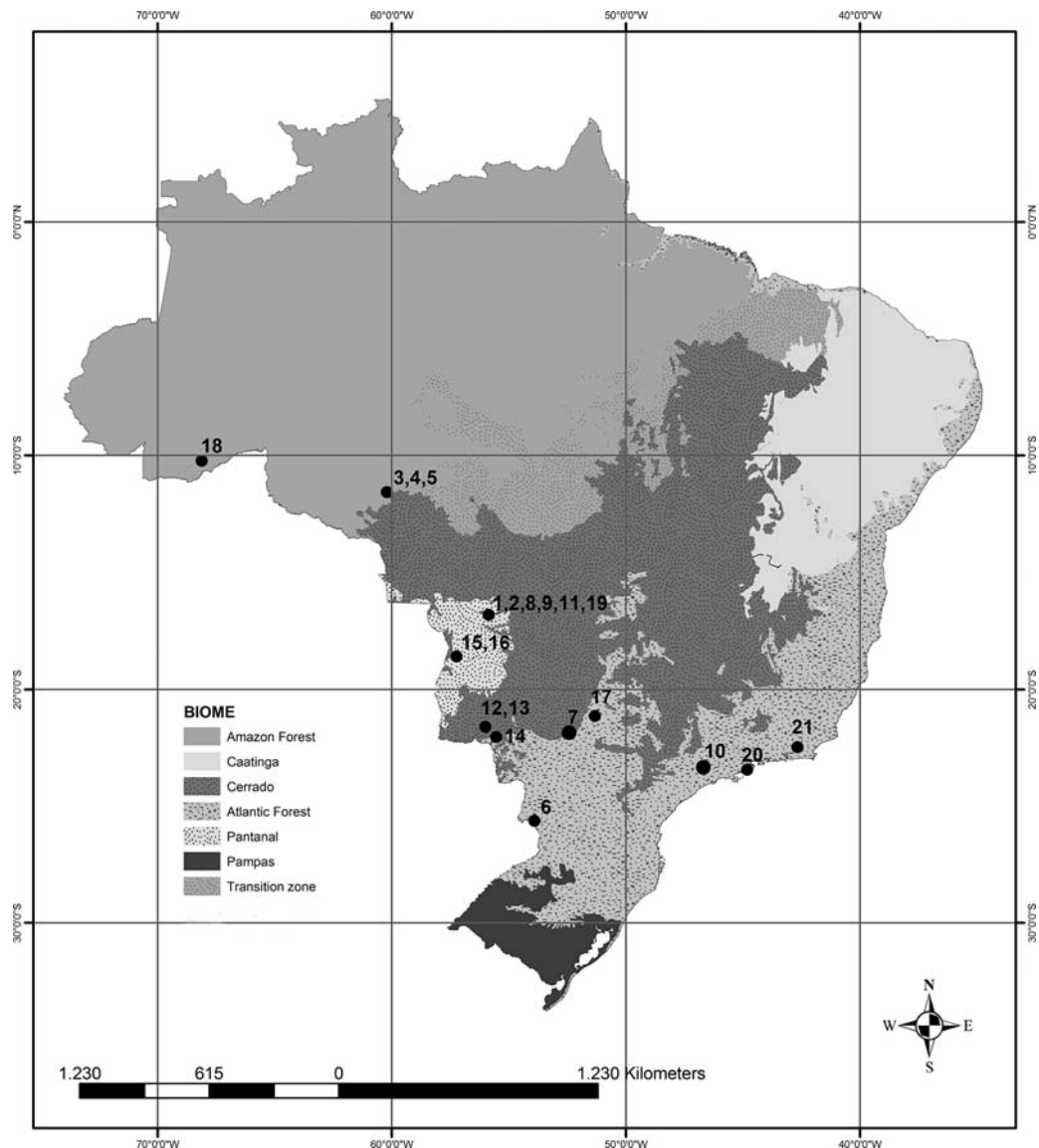


FIGURE 1. Map depicting the geographic areas within Brazil from which samples from 21 free-ranging felids were collected.

(TNA) was extracted with the use of the MagNA Pure LC instrument (Roche, Rotkreuz, Switzerland). TNA samples were analyzed by real-time TaqMan polymerase chain reaction (PCR) or reverse transcriptase (RT) PCR on an ABI Prism 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) for the presence of the agents of interest:

FIV (Leutenegger et al., 1999b), FeLV (Hofmann-Lehmann et al., 2001), FCoV (Gut et al., 1999), FHV 1 (Vogtlin et al., 2002), FPV (Meli et al., 2004), and FCV (Kummrow et al., 2005). No unwanted agents were detected in any antigen preparations.

All sera were examined for the presence of antibodies to FeLV by Western blot

TABLE 1. Serologic test results for free-ranging *Puma concolor*, *Felis pardalis*, and *Felis tigrinus* in Brazil.

Biome	Location ^a	Species ^b	n	Indirect fluorescent antibody test							Western blot		
				Serologic results ^c									
				FHV-1	FCV	FCoV	FPV	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Bartonella henselae</i>	FeLV	FTV	ELISA Indirect PLV	
Amazon Forest	VR	<i>P. concolor</i> (3,4,5)	3	2	N ^d	N	3	N	3	N	N	N	N
Pantanal	RA	<i>L. pardalis</i> (18)	1	1	1	1	1	N	1	N	N	N	N
	BM	<i>P. concolor</i> (1,2,8,9,11, 19)	6	N	2	N	N	1	5 ^e	1	1	2	2
Cerrado	CM	<i>P. concolor</i> (15,16)	2	N	N	N	2	N	1	N	N	N	N
	BaM	<i>P. concolor</i> (7)	1	N	N	N	N	N	1	N	N	N	N
	JM	<i>P. concolor</i> (12,13)	2	N	N	N	2	N	2	N	N	N	N
	PM	<i>P. concolor</i> (14)	1	1	N	N	N	N	1	N	N	N	N
Atlantic Forest	PP	<i>P. concolor</i> (6)	1	1	1	N	N	N	1	N	N	N	N
	SS	<i>P. concolor</i> (10)	1	N	N	N	N	N	1	1	N	N	N
	IS	<i>P. concolor</i> (17)	1	1	N	N	1	N	1	N	N	N	N
	UP	<i>L. tigrinus</i> (20)	1	N	1	N	1	N	1	N	N	N	N
	NR	<i>L. tigrinus</i> (21)	1	N	1	N	N	N	1	N	N	N	N
TOTAL			21	6	6	1	10	1	19	2	1	2	2
Antibody titer (range)				20–160	20–40	100	40–640	20,480	64–1024				

^a VR = Vilhena/ Rondônia (12°37'S, 60°07'W); RA = Rio Branco/Acre (09°52'S, 67°52'W); BM = Barão de Melgao/ Mato Grosso (16°07'S, 55°52'W); CM = Corumbá/ Mato Grosso do Sul (19°03'S, 57°41'W); BaM = Bataguassu/Mato Grosso do Sul (21°41'S, 52°26'W); JM = Jardim/Mato Grosso do Sul (21°26'S, 56°11'W); PM = Ponta Porã/Mato Grosso do Sul (22°33'S, 55°41'W); PP = Parque Nacional do Iguaçu/Paraná (25°33'S, 54°33'W); SS = Serra da Cantareira/São Paulo (23°33'S, 46°41'W); IS = Ilha Solteira/São Paulo (20°26'S, 51°18'W); UP = Ubatuba/São Paulo (23°26'S, 45°03'W); Nova Friburgo/Rio de Janeiro (22°18'S 42°33'W).

^b Individual animal identification number.

^c Number of animals positive. All animals tested negative for antibodies to Anaplasma phagocytophium on IFA; all animals tested negative of Direct FeLV p27 ELISA.

^d N = negative.

^e No material was available from one puma for the *B. henselae* IFA.

(Hofmann-Lehmann et al., 1995). Samples containing antibodies to gp70, p58, p27, p15, and p12 were judged positive. Additionally, the serum samples were tested for the presence of FeLV p27 as a measure for viremia by a sandwich ELISA (Lutz et al., 1983). One sample tested positive. However, upon retesting in the presence of mouse serum, it was determined that this represented a false positive; the positive reaction resulted from cross-linking of the monoclonal mouse anti-FeLV antibodies by feline antimouse antibodies and not by binding of the FeLV antigen. Antibodies to FIV were detected by Western blot (Lutz et al., 1980, 1988). Samples with antibodies to p24 and p15 were considered positive. Antibodies reactive to a specific puma lentivirus peptide were detected by an indirect ELISA (Van Vuuren et al., 2003).

Results of the serosurvey are summarized in Table 1. This is the first reported serologic evidence that FHV 1, FCV, FPV, and the obligate intracellular bacterium *E. canis* (or antigenically related agents) are present among free-ranging felids in Brazil. Antibodies to FCoV in a free-ranging ocelot, antibodies to FeLV, FIV, and PLV (or related lentiviruses) in free-ranging pumas, and antibodies to *B. henselae* in all three feline species also were detected. Antibody prevalence rates based on all 21 animals were as follows: *B. henselae* (95%); FPV (48%); FHV 1 and FCV (29%); FeLV and PLV (10%); and FCoV, FIV, and *E. canis* (5%). Antibodies to *A. phagocytophilum* were not detectable.

Our results indicate that co-infection with the studied viral pathogens is not common in the Brazilian neotropical felids: most animals (76%) were seropositive for only one or two of the selected viruses. An exception was one Amazonian ocelot seropositive for four of the selected viruses. The high prevalence of antibodies to parvoviruses (48%) may relate to the environmental stability of these nonenveloped viruses; free-ranging wild felids may

be exposed in areas contaminated by feces, even if they are solitary, widely dispersed, and at low density (Barker and Parish, 2001). In contrast, FCoV do not persist in the environment and this may explain the single FCoV antibody positive animal that was detected in this study. However, even though FHV 1 and FCV do not persist well in the environment and require close contact to be transmitted, seropositive results to both of these viruses were relatively common (29%) in this survey. This situation is similar to that of free-ranging lions in Africa, where high antibody prevalence rates to FHV 1 have been reported (Hofmann-Lehmann et al., 1996).

The finding of antibodies to retroviruses addresses the need for additional monitoring. Two animals had antibodies to FeLV, but FeLV antigen was not detected. It is possible that these animals probably had undergone regressive FeLV infection and mounted specific immune responses. The finding of seropositive animals nonetheless may be of concern, because FeLV is potentially pathogenic (Jessup et al., 1993; Fromont et al., 2000; Sleeman et al., 2001) and domestic cats (*Felis catus*) have been implicated as a source of FeLV infection to nondomestic felids (Jessup et al., 1993; Sleeman et al., 2001). One puma was found to be FIV seropositive. This animal and a second puma also had antibodies to PLV (Table 1). To determine the nature and origin of these viruses, sequence analysis would be necessary; however, material suitable for these analyses was unavailable.

Antibodies to *E. canis* were detected in one puma. Although the titer was high, interpretation of this single positive is difficult. It could represent evidence of an *E. canis* infection or antibodies could have resulted from an infection with a related *Ehrlichia* species, such as *E. chaffeensis* or *E. ewingii*. Ticks are common in the area (Barão de Melgao, Mato Grosso) where this animal was sampled and numerous tick species including

Amblyomma ovale, *A. parvum*, *A. cajennense*, *Boophilus microplus*, and *Ixodes aragaoi* have been reported from pumas (Labruna et al., 2005).

A very high prevalence of antibodies to *B. henselae* (95%), which causes cat scratch disease in humans (Chomel et al., 2004b) was detected. Brazilian free-ranging felids may be a reservoir for *B. henselae*, and zoo guidelines and wildlife management programs in Brazil should further emphasize recommendations for safe handling of animals. *B. henselae* is mainly transmitted via cat fleas (*Ctenocephalides felis*) in domestic cats (Chomel et al., 1996) and is potentially transmissible among domestic cats and wild felids (Chomel et al., 2004a). In addition to fleas, ticks from the genus *Ixodes* have been suggested as potential vectors for *Bartonella* spp. (Schouls et al., 1999; Chang et al., 2001; Chomel et al., 2004b). Free-ranging felids are considered as hosts for *C. felis* (Linardi and Guimarães, 2000) and ticks such as *Ixodes aragaoi* have been collected and identified parasitizing a puma (Labruna et al., 2005).

According to the physical examinations at the moment of sampling there were no signs of the infections or related diseases in the animals. The single necropsied little spotted cat was in very good body condition with the exception of heavy parasitosis, including *Dirofilaria immitis*. At present the significance of these pathogens to the overall health of these wild felid populations is unknown. Since the infectious agents investigated in the present study are common domestic carnivore's pathogens, it is not possible to determine whether these agents have been historically associated with neotropic felid populations or have been introduced by interactions with domestic carnivores. Isolation and molecular characterization of these pathogens, both in domestic and wild carnivores, would be helpful to answer this question and may provide important baseline data to develop effective programs aimed at in-

fectious disease prevention and mitigation.

The authors express their sincere appreciation to CENAP-IBAMA for the samples as well as to all the researchers that collected them during their field projects throughout the country. We especially thank Rose Lilian Gasparini Morato and Otávio Borges Maia for having always been promptly helpful in conducting all legal paperwork requested, and Ronaldo Goncalves Morato and Rogério Cunha de Paula for reporting sample origins and help in map figure preparation. We thank Dr. M. Meli, Dr. V. Cattori, Y. Ahmed, E. Gönczi, T. Meili Prodan, B. Weibel, and N. Tschopp, Clinical Laboratory, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, for excellent technical assistance. Laboratory work was performed using the logistics of the Centre for Clinical Studies at the Vetsuisse Faculty, University of Zurich. We are also indebted to Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES, Pró-Reitoria de Pós-Graduação from Universidade de São Paulo and the International Relations Office, University of Zurich, Switzerland. Regina Hofmann-Lehmann is the recipient of a professorship by the Swiss National Science Foundation (PP00B-102866). This study was conducted by Claudia Filoni as partial fulfillment of the requirements for a doctorate degree at Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

LITERATURE CITED

- BARKER, I. K., AND C. R. PARISH. 2001. Parvovirus infections. In *Infectious diseases of wild animals*, 3rd Edition, E. S. Williams and I. A. Barker (eds.), Iowa State University Press, Iowa, pp. 131–146.
- BROWN, E. W., S. MITHTHAPALA, AND S. J. O'BRIEN. 1993. Prevalence of exposure to feline immunodeficiency virus in exotic felid species. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24: 357–364.
- CARPENTER, M. A., E. W. BROWN, M. CULVER, W. E. JOHNSON, J. PECON-SLATTERY, D. BROUSSET, AND S. J. O'BRIEN. 1996. Genetic and phylogenetic

- divergence of feline immunodeficiency virus in the puma (*Puma concolor*). *Journal of Virology* 70: 6682–6693.
- CHANG, C. C., B. B. CHOMEL, R. W. KASTEN, V. ROMANO, AND N. TIETZE. 2001. Molecular evidence of *Bartonella* spp. in questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 1221–1226.
- CHOMEL, B. B., R. W. KASTEN, K. FLOYD-HAWKINS, B. CHI, K. YAMAMOTO, J. ROBERTS-WILSON, A. N. GURFIELD, R. C. ABBOTT, N. C. PEDERSEN, AND J. E. KOEHLER. 1996. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *Journal of Clinical Microbiology* 34: 1952–1956.
- , Y. KIKUCHI, J. S. MARTENSON, M. E. ROELKE-PARKER, C. CHANG, R. W. KASTEN, J. E. FOLEY, J. LAUDRE, K. MURPHY, P. K. SWIFT, V. L. KRAMER, AND S. J. O'BRIEN. 2004a. Seroprevalence of *Bartonella* infection in American free-ranging and captive pumas (*Felis concolor*) and bobcats (*Lynx rufus*). *Veterinary Research* 35: 233–241.
- , H. J. BOULOUIS, AND E. B. BREITSCHWERDT. 2004b. Cat scratch and other zoonotic *Bartonella* infections. *Journal of American Veterinarian Medical Association* 224: 1270–1279.
- DANIELS, M. J., M. C. GOLDER, O. JARRETT, AND D. W. MACDONALD. 1999. Feline viruses in wildcats from Scotland. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 121–124.
- DASZAK, P., A. A. CUNNINGHAM, AND A. D. HYATT. 2000. Emerging infectious diseases on wildlife threats to biodiversity and human health. *Science* 287: 443–449.
- FILONI, C. F., C. H. ADANIA, E. L. DURIGON, AND J. L. CATÃO-DIAS. 2003. Serosurvey for feline leukemia virus and lentiviruses in captive small neotropical felids in São Paulo state, Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34: 65–68.
- FROMONT, E., A. SAGER, F. LÉGER, F. BOURGUEMESTRE, E. JOUQUELET, P. STAHK, D. PONTIER, AND M. ARTOIS. 2000. Prevalence and pathogenicity of retroviruses in wildcats in France. *The Veterinary Record* 146: 317–319.
- GLAUS, T., R. OFMANN-LEHMANN, C. GREENE, B. GLAUS, C. WOLFENBERGER, AND H. LUTZ. 1997. Seroprevalence of *Bartonella henselae* infection and correlation with disease status in cats in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 35: 2883–2885.
- GUT, M., C. M. LEUTENEGGER, J. B. HUDER, N. C. PEDERSEN, AND H. LUTZ. 1999. One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantification of feline coronaviruses. *Journal of Virological Methods* 77: 37–46.
- HOFMANN-LEHMANN, R., E. HOLZNAGEL, A. AUBERT, P. OSSENT, M. REINACHER, AND H. LUTZ. 1995. Recombinant FeLV vaccine: Long-term protection and effect on course and outcome of FIV infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 46: 127–137.
- , D. FEHR, M. GROB, M. ELGIZOLI, C. PACKER, J. MARTENSON, S. J. O'BRIEN, AND H. LUTZ. 1996. Prevalence of antibodies to feline parvovirus, calicivirus, herpesvirus, coronavirus, and immunodeficiency virus and of feline leukemia virus antigen and the interrelationship of these viral infections in free-ranging lions in East Africa. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 3: 554–562.
- , J. B. HUDER, S. GRUBER, F. BORETTI, B. SIGRIST, AND H. LUTZ. 2001. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *Journal of General Virology* 82: 1589–1596.
- JESSUP, D. A., K. C. PETTAN, L. J. LOWENSTINE, AND N. C. PEDERSEN. 1993. Feline leukemia virus infection and renal spirochetosis in a free-ranging cougar (*Felis concolor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24: 73–79.
- KELLY, P. J., J. J. ROONEY, E. I. MARSTON, D. C. JONES, AND R. L. REGNER. 1998. *Bartonella henselae* isolated from cats in Zimbabwe. *Lancet* 351: 1706.
- KENNEDY-STOSKOPF, S. 1999. Emerging viral infections in large cats. In *Zoo and Wild Animal Medicine*, 4th Edition, M. E. Fowler and R. E. Miller (eds.). W. B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, pp. 401–410.
- KUMMROW, M., M. L. MELI, M. HAESSIG, E. GOENCZI, A. POLAND, N. C. PEDERSEN, R. HOFMANN-LEHMANN, AND H. LUTZ. 2005. Feline coronavirus serotypes 1 and 2: Seroprevalence and association with disease in Switzerland. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12: 1209–1215.
- LABRUNA, M. B., R. S. P. JORGE, D. A. SANA, A. T. A. JÁCOMO, C. K. KASHIVAKURA, M. M. FURTADO, C. FERRO, S. A. PEREZ, L. SILVEIRA, T. S. SANTOS, JR., S. R. MARQUES, R. G. MORATO, A. NAVA, C. H. ADANIA, R. H. F. TEIXEIRA, A. A. B. GOMES, V. CONFORTI, F. C. C. AZEVEDO, C. S. PRADA, J. C. R. SILVA, A. F. BATISTA, M. F. V. MARVULO, R. L. G. MORATO, C. J. R. ALHO, A. PINTER, P. M. FERREIRA, F. FERREIRA, AND D. M. BARROS-BATTESTI. 2005. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. *Experimental and Applied Acarology* 36: 149–163.
- LEAL, E. S., AND A. P. RAVAZZOLO. 1998. Detecção do vírus da imunodeficiência felina (FIV) em felídeos selvagens pertencentes à Região Neotropical, através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). *A Hora Veterinária* 17: 57–60.
- LEUTENEGGER, C. M., R. HOFMANN-LEHMANN, C. RIOLS, M. LIBEREK, G. WOREL, P. LUPS, D. FEHR, M. HARTMANN, P. WEILENMANN, AND H. LUTZ. 1999a. Viral infections in free-living populations

- of the European wildcat. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 678–686.
- , D. KLEIN, R. HOFMANN-LEHMANN, C. MISLIN, U. HUMMEL, J. BÖNI, F. BORETTI, W. H. GUENZBURG, AND H. LUTZ. 1999b. Rapid feline immunodeficiency virus provirus quantitation by polymerase chain reaction using the TaqMan® fluorogenic real-time detection system. *Journal of Virological Methods* 78: 105–116.
- LINARDI, P. M., AND L. R. GUIMARÃES. 2000. Sifonápteros do Brasil. Museu de Zoologia USP/FAPESP, São Paulo, São Paulo, Brasil, 291 pp.
- LUTZ, H., N. PEDERSEN, J. HIGGINS, U. HÜBSCHER, F. A. TROY, AND G. H. THEILEN. 1980. Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigens in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Cancer Research* 40: 3642–3651.
- , ———, R. DURBIN, AND G. H. THEILEN. 1983. Monoclonal antibodies to three epitopic regions of feline leukemia virus p27 and their use in enzyme-linked immunosorbent assay of p27. *Journal of Immunological Methods* 56: 209–220.
- , P. ARNOLD, U. HUBSCHER, H. EGGERINK, N. PEDERSEN, AND M. C. HORZINEK. 1988. Specificity assessment of feline T-lymphotropic lentivirus serology. *Zentralblatt Veterinarmedizin Riehe B* 35: 773–778.
- MELI, M., A. KIPAR, C. MULLER, K. JENAL, E. GONCZI, N. BOREL, D. GUNN-MOORE, S. CHALMERS, F. LIN, M. REINACHER, AND H. LUTZ. 2004. High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 6: 69–81.
- MOCHIZUKI, M., M. AKUZAWA, AND H. NAGATOMO. 1990. Serological survey of the Iriomote cat (*Felis iriomotensis*) in Japan. *Journal of Wildlife Diseases* 26: 236–245.
- MOLIA, S., B. B. CHOMEL, R. W. KASTEN, C. LEUTENEGGER, B. R. STEELE, L. MARKER, J. S. MARTENSON, D. F. KEET, R. G. BENGIS, R. P. PETERSON, L. MUNSON, AND S. J. O'BRIEN. 2004. Prevalence of *Bartonella* infection in wild African lions (*Panthera leo*) and cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Veterinary Microbiology* 100: 31–41.
- MURRAY, D. L., C. A. KAPKE, J. F. EVERMANN, AND T. K. FULLER. 1999. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. *Animal Conservation* 2: 241–254.
- OLMSTED, R. A., R. LANGLEY, M. E. ROELKE, R. M. GOEKEN, D. ADGER-JOHNSON, J. GOFF, J. P. ALBERT, C. PACKER, M. K. LAURENSEN, T. M. CARO, L. SCHEEPERS, D. E. WILDT, M. BUSH, J. S. MARTENSON, AND S. J. O'BRIEN. 1992. Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: Epidemiologic and phylogenetic aspects. *Journal of Virology* 66: 608–6018.
- OSTROWSKI, S., M. VAN VUUREN, D. M. LENAIN, AND A. DURAND. 2003. A serologic survey of wild felids from Central West Saudi Arabia. *Journal of Wildlife Diseases* 39: 696–701.
- PAUL-MURPHY, J., T. WORK, D. HUNTER, E. MCFIE, AND D. FJELLINE. 1994. Serologic survey and serum biochemical reference ranges of the free-ranging mountain lion (*Felis concolor*) in California. *Journal of Wildlife Diseases* 30: 205–215.
- PRETORIUS, A. M., J. M. KUYL, D. R. ISHERWOOD, AND R. J. BIRTLES. 2004. *Bartonella henselae* in African Lion, South Africa. *Emerging Infectious Diseases* 10: 2257–2258.
- ROTSTEIN, D. S., S. K. TAYLOR, J. BRADLEY, AND E. B. BREITSCHWERDT. 2000. Prevalence of *Bartonella henselae* antibody in Florida panther. *Journal of Wildlife Diseases* 36: 157–160.
- SCHMITT, A. C., D. REISCHAK, C. L. CAVLAC, C. H. L. MONFORTE, F. T. COUTO, A. B. P. F. ALMEIDA, D. G. G. SANTOS, L. SOUZA, C. ALVES, AND K. VECCHI. 2003. Infecção pelos vírus da leucemia felina e da peritonite infecciosa felina em felídeo selvagem de vida livre e de cativeiro da região do Pantanal matogrossense. *Acta Scientiae Veterinariae* 31: 185–188.
- SCHOULS, L., I. VAN DE POL, S. G. T. RIJPKEMA, AND C. S. SCHOT. 1999. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 2215–2222.
- SLEEMAN, J. M., J. M. KEANE, J. S. JOHNSON, R. J. BROWN, AND S. VANDE WOUDE. 2001. Feline leukemia in a captive bobcat. *Journal of Wildlife Diseases* 37: 194–200.
- VAN VUUREN, M., E. STYLIANIDES, S. A. KANIA, E. E. ZUCKERMAN, AND W. D. HARDY, JR. 2003. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of feline lentivirus-reactive antibodies in wild felids, employing a puma lentivirus-derived synthetic peptide antigen. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 70: 1–6.
- VOGTLIN, A., C. FRAEFEL, S. ALBINI, C. M. LEUTENEGGER, E. SCHRANER, B. SPIESS, H. LUTZ, AND M. ACKERMANN. 2002. Quantification of feline herpesvirus 1 DNA in ocular fluid samples of clinically diseased cats by real-time Taqman PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 40: 519–523.
- YAMAMOTO, K., B. B. CHOMEL, L. J. LOWENSTINE, Y. KIKUCHI, L. G. PHILIPS, B. C. BARR, P. K. SWIFT, K. R. JONES, S. P. RILEY, R. W. KASTEN, J. E. FOLEY, AND N. C. PEDERSEN. 1998. *Bartonella henselae* antibody prevalence in free-ranging and captive wild felids from California. *Journal of Wildlife Diseases* 34: 56–63.

Authors QueriesJournal: **Journal of Wildlife Diseases**Paper: **jwdi-42-02-14**

1 Title: **First Evidence of Feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus, and *Ehrlichia* Exposure in Brazilian Free-ranging Felids**

Dear Author

During the preparation of your manuscript for publication, the questions listed below have arisen. Please attend to these matters and return this form with your proof. Many thanks for your assistance

Query Reference	Query	Remarks
1	no received date given	
2	Author: This article has been lightly edited for grammar, style, and usage. Please compare it with your original document and make corrections on these pages. Please limit your corrections to substantive changes that affect meaning. If no change is required in response to a question, please write "OK as set" in the margin. Copy editor	

Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil

Marcelo B Labruna⁺, Cátia D de Paula*, Thiago F Lima**, Dênis A Sana***

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Cidade Universitária, Av. Prof. Orlando Marques de Paiva 87, 05508-000 São Paulo, SP, Brasil *Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira **Unidade de Manejo de Fauna Silvestre de Presidente Epitácio, Companhia Energética de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil ***Associação para a Conservação dos Carnívoros Neotropicalais, São Paulo, SP, Brasil

From June 2000 to June 2001, a total of 741 ticks were collected from 51 free-living wild animals captured at the Porto-Primavera Hydroelectric power station area, located alongside an approximately 180 km course of the Paraná river, between the states of São Paulo and Mato Grosso do Sul, comprising 9 species of 3 genera: Amblyomma (7 species), Boophilus (1) and Anocentor (1). A total of 421 immature Amblyomma ticks were reared in laboratory until the adult stage, allowing identification of the species. A. cajennense was the most frequent tick species (mostly immature stages) collected on 9 host species: Myrmecophaga tridactyla, Tamandua tetradactyla, Cerdocyon thous, Puma concolor, Tayassu tajacu, Mazama gouazoubira, Hydrochaeris hydrochaeris, Alouatta caraya, Cebus apella. Other tick species were less common, generally restricted to certain host taxa.

Key words: ticks - wildlife - Amblyomma - Boophilus - Anocentor - Brazil

Ticks are obligate blood feeders that parasitize a wide variety of terrestrial and flying vertebrates and a few marine snakes and lizards (Hoogstraal 1985). More than 800 tick species have been described in the world (Keirans 1992, Camicas et al. 1998). Ticks are vectors of more kinds of microorganisms than any other arthropod taxon, including mosquitoes (Hoogstraal 1985, Oliver 1989). The vast literature regarding ticks has centered mostly around 10% of the world tick fauna, which have been well recognized for their medical and veterinary significance. However, a comprehensive knowledge of the ecology of "important" ticks and tick borne-diseases are best achieved by knowing the biological and physiological similarities and differences between all species, in relation to their hosts and to the environment. Knowledge of biological models of tick parasitism of wildlife is very useful to clarify factors that have permitted a few tick species to become economically important pests and vectors of disease agents to man and animals (Hoogstraal 1985).

There are 54 valid tick species in Brazil, of which 32 belong to the genus *Amblyomma* (Guimarães et al. 2001). Although more than half of the 102 known *Amblyomma* species in the World are endemic to the New World (Keirans 1992), they have been poorly studied. For many Brazilian species, geographic and host records are scarce and new tick species have recently been discovered (Barros Battesti et al. 1999, Labruna et al. 2002a). Although all tick species reported in Brazil have been properly described in the adult stage, immature stages (larvae and nymphs) of most of them are still unknown. Thus, host records for immature stages of the majority of the *Amblyomma* species from Brazil are even more scarce. This

situation is linked to the lack of a taxonomic keys for identification of *Amblyomma* immature stages in Latin America. Currently, the only conclusive means of identifying species of *Amblyomma* immature stages from Brazil are by rearing these ticks until the adult stage, or by the use of specific molecular markers (Marrelli et al. 2001).

The present study reports ticks infesting several wildlife species captured alongside the Paraná river, Brazil. Several *Amblyomma* immature stages were collected and reared until the adult stage in the laboratory, allowing conclusive identification of the species.

MATERIALS AND METHODS

Porto-Primavera Hydroelectric power station is located in Brazil between the southwest of the state of São Paulo and the east of the state of Mato Grosso do Sul. Its water reservoir, filled up by the Paraná river, flooded an area of 2,200 km² at the São Paulo and Mato-Grosso do Sul border (Szabó et al. 2002). During the flooding, some free-living wild animals were rescued for an extensive research program with the financial support of the São Paulo State Energy Company (Cesp). The flooded area was composed of an extensive flat swamp, interposed by areas of dense forest above high-water level. Altitude ranged from 276 to 328 m above sea level.

For the present study, a total of 51 animals was sampled, comprising 15 different species (Table) from the following municipalities: Anaurilândia, Bataguassu, Bataiporã, Brasilândia, Santa Rita Pardo in Mato Grosso do Sul; Presidente Epitácio, Primavera and Rosana in São Paulo. All these municipalities are contiguously located alongside an approximately 180 km course of the Paraná river, between Brasilândia (21°15'S, 52°01'W) and Rosana (22°33'S, 53°01'W). Captures were carried out at irregular intervals from June 2000 to June 2001, a period when flooding procedures were divided into stages.

Captured animals were restrained with or without anesthesia (depending on animal species), and given a thor-

⁺Corresponding author. Fax: +55-11-3091.7928. E-mail: labruna@usp.br

Received 16 April 2002

Accepted 26 August 2002

ough physical examination. As other biological samples were taken for other research projects, tick sampling was performed on a limited period of 3 min/host. After this procedure, animals were taken to several Brazilian zoos, authorized breeders, or experimental reintroduction areas.

Ticks collected on the animals were immediately placed in dry plastic vials containing few fresh grass leaves, and covered by a cork containing several minute holes. Vials were properly identified and conditioned under room temperatures for few days or weeks, and then they were sent to the laboratory. The purpose of this procedure was to try to maintain ticks alive inside the vials until arriving at the laboratory for taxonomic identification.

Engorged larvae or nymphs that arrived alive at the laboratory were immediately placed in an incubator at 25°C and RH 85%, to allow them to molt to nymphs and adults, respectively. Nymphs obtained from the engorged larvae were infested on naive rabbits according to Pinter et al. (2002). Adults obtained from the engorged nymphs were used for identification of the species of the former immature ticks collected on the animals.

RESULTS

A total of 741 ticks were collected from the 51 animals (Table). Nine tick species were identified, comprising 3 genera: *Amblyomma* (7 species), *Boophilus* (1) and *Anocentor* (1). From 495 nymphs and 77 larvae of the genus *Amblyomma* collected from the animals, a total of 413 and 8, respectively, were successfully reared until the adult stage in the laboratory, allowing identification of the species. The remaining 82 nymphs and 69 larvae died before reaching the adult stage, and were identified only to their generic level (*Amblyomma* sp.).

A. cajennense was the most frequent tick species, collected on 9 host species of different mammal taxa (Edentata, Carnivora, Artiodactyla, Rodentia and Primates). All these hosts harbored only immature stages of *A. cajennense*, except for one Edentata species (*Myrmecophaga tridactyla*) and one Artiodactyla (*Tayassu tajacu*), on which adults of *A. cajennense* were additionally found. Other *Amblyomma* species were generally found in the adult stage, restricted to certain host taxa: *A. rotundatum* on snakes (*Bothrops moojeni* and *Boa constrictor*), *A. nodosum* on anteaters (*M. tridactyla* and *Tamandua tetractyla*), *A. cooperi* on capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) and *A. longirostre* on porcupine (*Coendou prehensilis*). Representative specimens of all ticks species of the present study have been deposited in the National Tick Collection of Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (nos: 302, 326, 327, 329, 332-349, 351, 352, 447, 448, 462, 463, 475-477, 488, 489, 575).

DISCUSSION

Our results showed that *A. cajennense* was the most common tick species in the studied area. This species is endemic to the Neotropical region, where it seems to be primarily a parasite of large wild mammals, especially tapirs (*Tapirus terrestris*), capybaras (*H. hydrochaeris*), peccaries (*Tayassu* spp.) (Aragão 1911, 1936). Horses, which were introduced into New World during colonization, have been showed to act as primary hosts for all

parasitic stages of *A. cajennense* (Oliveira 1998, Labruna et al. 2002b). Cattle, another introduced host, was also showed to be a suitable host for *A. cajennense* (Fairchild et al. 1966, Serra-Freire 1982). During the present study, many farms alongside the Paraná river were visited and those provided shared areas by horses, cattle and wild animals. In addition, tapirs were also present in these areas (unpublished data). We believe that our results of *A. cajennense* on a great variety of wild animals (Table) can be linked to the availability of several primary hosts for *A. cajennense* (horse, cattle, tapir, capybara, peccary). Although a variety of animal species and also humans can be infested by *A. cajennense* (Aragão 1936, Lopes et al. 1998, Pereira et al. 2000, present study), the abundance of the infestations will depend on the availability of the primary hosts for the tick. In addition, environmental conditions of the area must have been favorable for the free-living stages of *A. cajennense* in the present study. It has been shown that this tick is very sensitive to vegetation cover (Labruna et al. 2001a).

The cattle tick, *B. microplus*, was collected from marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) and jaguar (*Panthera onca*). This tick is highly prevalent on cattle in almost all of Brazil (Horn 1983). It is an Old World tick that was probably introduced in Brazil with cattle (Aragão 1911). Several studies have reported infestations by *B. microplus* on wild and domestic hosts other than cattle, but in all cases these hosts have a history of sharing the same area with cattle (Labruna et al. 2001a,b). Another study, conducted simultaneously on the same area of the present study, showed that *B. microplus* was the main tick species infesting four populations of marsh deers (Szabó et al. 2002). So far, cattle is the only known primary host for *B. microplus* in Brazil and should be viewed as the main source of *B. microplus* for any other host species. Similarly, horses are primary hosts for *A. nitens* over Northern, Central and Southeastern Brazil (Aragão & Fonseca 1953, Labruna et al. 2001a) and the finding of this tick on marsh deer in the present study should be linked to the presence of infested horses in the studied area.

A. nodosum was the most common adult tick on both anteaters species, *M. tridactyla* and *T. tetractyla*. To our knowledge, adults of this species have been reported exclusively on anteaters (Aragão 1936, Fairchild et al. 1966, Jones et al. 1972, Guimarães et al. 2001). In the present study, all 304 adult ticks that molted from engorged nymphs collected on anteaters were identified as *A. cajennense*. Thus, information about hosts for *A. nodosum* immature stages remains lacking.

The present record of *A. triste* on *M. tridactyla* (Table) is the first of this tick on an Edentata. It should not be considered unusual as the adult stage of *A. triste* has shown a broad host range in Uruguay (Sampaio et al. 1992). However, marsh deer seem to be the primary hosts for the adult stage of *A. triste* in Brazil (Szabó et al. 2002). The taxonomic position of *A. triste* was formerly confused with *A. tigrinum* and *A. maculatum* in South America (Kohls 1956). It is probable that *A. maculatum* does not exist in Brazil and adults of *A. tigrinum* parasitize almost exclusively Carnivora hosts (Guglielmone et al. 2000). As this last species is morphologically very similar to *A. triste*, previous reports of *A. tigrinum* on marsh deer in Brazil

TABLE
Ticks collected from wild animals in the Primavera hydroelectric power station area, Brazil

Name (n)	Host	Tick species	Number of ticks				Total	Mean no. of ticks ± SE (range)
	No. infested/No. non-infested host		Males	Females	Nymphs	Larvae		
REPTILA								
<i>Bothrops moojeni</i> (1)	1/0	<i>Amblyomma rotundatum</i>	-	1	-	-	1	1 ± 0.0 (1)
<i>Boa constrictor</i> (1)	1/0	<i>A. rotundatum</i>	-	1	-	-	1	1 ± 0.0 (1)
	1/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	7	2	9	9 ± 0.0 (9)
EDENTATA								
<i>Myrmecophaga tridactyla</i> (20)	18/2	<i>A. cajennense</i>	24	12	270 ^a	-	306	15.3 ± 14.2 (0-54)
	12/8	<i>A. nodosum</i>	45	7	-	-	52	2.6 ± 4.4 (0-18)
	1/19	<i>A. triste</i>	-	1	-	-	1	0.05± 0.2 (0-1)
	11/9	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	30	-	30	1.5 ± 2.2 (0-6)
<i>Tamandua tetradactyla</i> (5)	4/1	<i>A. cajennense</i>	-	-	34 ^a	-	34	6.8 ± 7.6 (0-18)
	4/1	<i>A. nodosum</i>	21	7	-	-	28	5.6 ± 9.2 (0-22)
	1/4	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	1	-	1	0.2 ± 0.4 (0-1)
CARNIVORA								
<i>Cerdocyon thous</i> (1)	1/0	<i>A. cajennense</i>	-	-	3 ^a	-	3	3 ± 0.0 (3)
<i>Puma concolor</i> (2)	1/1	<i>A. cajennense</i>	-	-	-	8 ^b	8	4 ± 5.6 (0-8)
	1/1	<i>A. coelebs</i>	-	-	1 ^a	-	1	0.5 ± 0.7 (0-1)
	2/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	-	63	63	31.5 ± 19.0 (18-45)
<i>Panthera onca</i> (2)	2/0	<i>Boophilus microplus</i>	-	-	8	-	8	4 ± 4.2 (1-7)
	2/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	1	2	3	1.5 ± 0.7 (1-2)
ARTIODACTYLA								
<i>Tayassu tajacu</i> (5)	5/0	<i>A. cajennense</i>	6	1	23 ^a	-	30	6 ± 5.7 (1-15)
	3/2	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	10	-	10	2 ± 2.5 (0-6)
<i>Mazama gouazoubira</i> (1)	1/0	<i>A. cajennense</i>	-	-	5 ^a	-	5	5 ± 0.0 (5)
	1/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	3	-	3	3 ± 0.0 (3)
<i>Blastocerus dichotomus</i> (1)	1/0	<i>B. microplus</i>	-	4	-	-	4	4 ± 0.0 (4)
	1/0	<i>Anocentor nitens</i>	1	1	-	-	2	2 ± 0.0 (2)
RODENTIA								
<i>Coendou prehensilis</i> (3)	3/0	<i>A. longirostre</i>	5	-	-	-	5	1.6 ± 0.5 (1-2)
<i>Hydrochaeris hydrochoeris</i> (3)	3/0	<i>A. cooperi</i>	14	10	39 ^a	-	63	21 ± 13.1 (7-33)
	1/2	<i>A. cajennense</i>	-	-	1 ^a	-	1	0.3 ± 0.6 (0-1)
	3/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	3	1	4	1.3 ± 0.5 (1-2)
PRIMATES								
<i>Alouatta caraya</i> (3)	3/0	<i>A. cajennense</i>	-	-	18 ^a	-	18	6 ± 5.6 (1-12)
	2/1	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	20	1	21	7 ± 10.4 (0-19)
<i>Cebus apella</i> (3)	3/0	<i>A. cajennense</i>	-	-	19 ^a	-	19	6.3 ± 7.6 (1-15)
	3/0	<i>Amblyomma</i> sp.	-	-	7	-	7	2.3 ± 1.1 (1-3)

a: species identification was carried out after nymphs had molted to the adult stage in the laboratory; b: species identification was carried out after larvae had molted to nymphs that engorged on rabbits and molted to the adult stage in the laboratory.

(Serra-Freire et al. 1996, Sinkoc et al. 1998, Pereira et al. 2000) should be re-evaluated.

The present records of adults of *A. longirostre* on porcupine, *A. rotundatum* on cold blooded hosts (snakes), and *A. cooperi* on capybaras are in agreement with the literature that reports these ticks, almost exclusively on these hosts (Aragão 1936, Jones et al. 1972, Evans et al. 2000, Guimarães et al. 2001). The finding of an *A. coelebs* nymph on puma (*P. concolor*) is the first host record concerning an immature stage of this species. Adults of *A. coelebs* have been found on a variety of medium and large mammals, but tapirs seem to be its primary hosts (Fairchild et al. 1966, Jones et al. 1972, Guimarães et al. 2001).

Our findings reinforce previous studies, which showed the genus *Amblyomma* comprising the largest number of species parasitizing wildlife in Brazil (Aragão 1936, Sinkoc et al. 1998, Evans et al. 2000, Pereira et al. 2000, Guimarães et al. 2001, Labruna et al. 2002a). In addition, we found a variety of host records for immature stages of *A. cajennense*, much broader than for the adult stage. Further studies should emphasize host usage by *Amblyomma* immature stages, contributing to a better knowledge of life history of the New World *Amblyomma* fauna.

ACKNOWLEDGMENTS

To Companhia Energética de São Paulo for the field work support and to Ibama for permission to capture wild animals in the studied area.

REFERENCES

- Aragão H 1911. Notas sobre ixódidas brasileiros. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 3: 145-195.
- Aragão H 1936. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 31: 759-843.
- Aragão H, Fonseca F 1953. Notas de Ixodologia. VII *Otocentor nitens* (Neumann 1897) versus *Anocentor columbianus* Schulze 1937 e comentários sobre a rápida disseminação desse ixodídeo no Brasil (Acari: Ixodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 51: 499-501.
- Barros-Battesti DM, Arzua M, Pichorim M. 1999. Registro de ocorrência de uma espécie nova de carrapato do gênero *Ixodes* Latreille (Acari: Ixodidae) para o Brasil. XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Salvador, p.103
- Camicas JL, Hervy JP, Adam F, Morel PC 1998. *Les Tiques du Monde. Nomenclature, Stades Décrits, Hôtes, Répartition* (Acarida, Ixodida), Orstom, Paris, 233 pp.
- Evans DE, Martins JR, Guglielmone AA 2000. A review of the ticks (Acari: Ixodidae) of Brazil, their hosts and geographic distribution - 1. The state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 453-470.
- Fairchild GB, Kohls GM, Tipton V 1966. The ticks of Panama. In RL Wenzel, VJ Tipton (eds), *Ectoparasites of Panama*, Field Museum Nat Hist, Chicago, p. 167-219.
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Luciani CE, Viñabal AE 2000. *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in relation to phyto-geography of central-northern Argentina with notes on hosts and seasonal distribution. *Exp App Acarol* 24: 983-989.
- Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM 2001. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*, Plêiade, São Paulo, 213 pp.
- Horn SC 1983. *Prováveis Prejuízos Causados pelos Carrapatos*, 2 ed., Boletim de Defesa Sanitária Animal, Ministério da Agricultura, Brasília, 79 pp.
- Hoogstraal H 1985. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol* 24: 135-238.
- Jones EK, Clifford CM, Keirans JE, Kohls GM 1972. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western hemisphere. *Brigham Young Univ Sci Bull Biol Ser* 17: 1-40.
- Keirans JE 1992. Systematic of the Ixodida (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae): an overview and some problems. In B Fivaz, T Petney, I Horak (eds), *Tick Vector Biology. Medical and Veterinary Aspects*, Springer-Verlag, Berlin, p. 1-21.
- Kohls GM 1956. Concerning the identity of *Amblyomma maculatum*, *A. tigrinum*, *A. triste* and *A. ovatum* of Koch, 1844. *Proc Ent Soc Wash* 58: 143-147.
- Labruna MB, Basano AS, Schumaker TTS, Camargo LMA, Camargo EP 2002a. Fauna de carrapatos de Rondônia: Resultados parciais. XXXVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Foz do Iguaçu, p. 149.
- Labruna MB, Kasai N, Ferreira F, Faccini JLH, Gennari SM 2002b. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* 105: 65-77.
- Labruna MB, Kerber CE, Ferreira F, Faccini JLH, De Waal DT, Gennari SM 2001a. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the State of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* 97: 51-64.
- Labruna MB, Souza SLP, Guimarães Jr JS, Pacheco RC, Pinter A, Gennari SM 2001b. Prevalência de carrapatos em cães de áreas rurais da região norte do Estado do Paraná. *Arq Bras Med Vet Zootec* 53: 553-556.
- Lopes CML, Linardi PM, Botelho JR 1998. Ectoparasitos de roedores do município de Tiradentes, Minas Gerais. I. Ectoparasito fauna. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84: 333-334.
- Marrelli MT, Marques RC, Souza LF, Labruna MB, Marinotti O, Schumaker TTS 2001. Utilização do segundo espaçador interno transcrito (ITS2) do DNA ribossômico no diagnóstico molecular de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Fabricius, 1787). *J Bras Patologia* 37 (Supl. 4): 65.
- Oliveira PR 1998. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae): Avaliação de Técnicas para o Estudo de Dinâmica Populacional e Biotecnologia, PhD Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 97 pp.
- Oliver Jr JH 1989. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annu Rev Ecol Syst* 20: 397-430.
- Pereira MC, Szabó MJP, Bechara GH, Matushima ER, Duarte JMB, Rechav Y, Fielden L, Keirans JE 2000. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. *J Med Entomol* 37: 979-983.
- Pinter AS, Labruna MB, Faccini JLH 2002. Feeding period of males and females of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions, with special reference to sex ratio. *Vet Parasitol* 104: 79-88.
- Sampaio I, Carballo M, Parietti S 1992. Comprobación de la presencia de *Amblyomma triste* (Acari, Ixodidae) en Uruguay. *Bol Soc Zool Uruguay* 7: 75-76.
- Serra-Freire NM 1982. Ixodídeos parasitas de bovinos leiteiros na zona fisiográfica de Resende, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras Med Vet* 5: 18-20.
- Serra-Freire NM, Amorim M, Gazêta GS, Guerim L, Desidério MHG 1996. Ixodofauna de cervídeos no Brasil. *Rev Bras Ciên Vet* 3: 51-54.
- Sinkoc AL, Brum JGW, Moraes W, Crawshaw P 1998. Ixodidae parasitos de animais silvestres na região de Foz do Iguaçu, Brasil e Argentina. *Arq Inst Biol* 65: 29-33.
- Szabó MPJ, Labruna MB, Pereira MC, Duarte JMB 2002. Ticks (Acari: Ixodidae) on free-living Marsh-deer (*Blastocerus dichotomus*) populations from Southeast of Brazil: infestations prior and after environmental shrinkage by the dam from a hydroelectric power station. IV International Conference on Ticks and Tick-borne Pathogens, Baniff, Alberta, Canada, p. 62-63.

Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil

MARCELO B. LABRUNA^{1,*}, RODRIGO S.P. JORGE¹, DÊNIS A. SANA², ANAH TEREZA A. JÁCOMO², CYNTIA K. KASHIVAKURA², MARIANA M. FURTADO², CLAUDIA FERRO², SAMUEL A. PEREZ², LEANDRO SILVEIRA², TARCÍSIO S. SANTOS JR³, SAMUEL R. MARQUES³, RONALDO G. MORATO², ALESSANDRA NAVA⁴, CRISTINA H. ADANIA⁵, RODRIGO H.F. TEIXEIRA⁶, ALBÉRIO A.B. GOMES⁷, VALÉRIA A. CONFORTI², FERNANDO C.C. AZEVEDO², CRISTIANA S. PRADA², JEAN C.R. SILVA¹, ADRIANA F. BATISTA⁸, MARIA FERNANDA V. MARVULO¹, ROSE L.G. MORATO³, CLEBER J.R. ALHO⁹, ADRIANO PINTER¹, PATRÍCIA M. FERREIRA¹, FERNADO FERREIRA¹ and DARCI M. BARROS-BATTESTI¹⁰

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil 05508-000; ²Associação para a Conservação dos Carnívoros Neotrópicos - Pró-Carnívoros, Atibaia, SP, Brazil; ³Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brazil; ⁴Institutos de Pesquisas Ecológicas, Base Pontal, Teodoro Sampaio, SP, Brazil; ⁵Associação Mata Ciliar, Jundiaí, SP, Brazil; ⁶Parque Zoológico Municipal 'Quinzinho de Barros', Sorocaba, SP, Brazil; ⁷Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brazil; ⁸Floresteca Agroflorestal Ltda, Jangada, MT, Brazil; ⁹Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, Campo Grande, MS, Brazil; ¹⁰Laboratório de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil; *Author for correspondence (e-mail: labruna@usp.br; phone: +55-11-3091-1394; fax: +55-11-3091 7928)

Received 19 August 2004; accepted in revised form 12 February 2005

Key words: Brazil, Carnivora, Ixodida, Ticks

Abstract. The present study reports field data of ticks infesting wild carnivores captured from July 1998 to September 2004 in Brazil. Additional data were obtained from one tick collection and from previous published data of ticks on carnivores in Brazil. During field work, a total of 3437 ticks were collected from 89 *Cerdocyon thous* (crab-eating fox), 58 *Chrysocyon brachyurus* (maned wolf), 30 *Puma concolor* (puma), 26 *Panthera onca* (jaguar), 12 *Procyon cancrivorus* (crab-eating raccoon), 4 *Speothos venaticus* (bush dog), 6 *Pseudalopex vetulus* (hoary fox), 6 *Nasua nasua* (coati), 6 *Leopardus pardalis* (ocelot), 2 *Leopardus tigrinus* (oncilla), 1 *Leopardus wiedii* (margay), 1 *Herpailurus yagouaroundi* (jaguarundi), 1 *Oncifelis colocolo* (pampas cat), 1 *Eira barbara* (tayara), 1 *Galictis vittata* (grison), 1 *Lontra longicaudis* (neotropical otter), and 1 *Potus flavus* (kinkajou). Data obtained from the Acari Collection IBSP included a total of 381 tick specimens collected on 13 *C. thous*, 8 *C. brachyurus*, 3 *P. concolor*, 10 *P. onca*, 3 *P. cancrivorus*, 4 *N. nasua*, 1 *L. pardalis*, 1 *L. wiedii*, 4 *H. yagouaroundi*, 1 *Galictis cuja* (lesser grison), and 1 *L. longicaudis*. The only tick-infested carnivore species previously reported in Brazil, for which we do not present any field data are *Pseudalopex gymnocercus* (pampas fox), *Conepatus chinga* (Molina's hog-nosed skunk), and *Conepatus semistriatus* (striped hog-nosed skunk). We report the first tick records in Brazil on two Felidae species (*O. colocolo*, *H. yagouaroundi*), two Canidae species (*P. vetulus*, *S. venaticus*), one Procyonidae species (*P. flavus*) and one Mustelidae (*E. barbara*). Tick infestation remains

unreported for 5 of the 26 Carnivora species native in Brazil: *Oncifelis geoffroyi* (Geoffroy's cat), *Atelocynus microtis* (short-eared dog), *Pteronura brasiliensis* (giant otter), *Mustela africana* (Amazon weasel), and *Bassaricyon gabbii* (olingo). Our field data comprise 16 tick species represented by the genera *Amblyomma* (12 species), *Ixodes* (1 species), *Dermacentor* (1 species), *Rhipicephalus* (1 species), and *Boophilus* (1 species). Additional 5 tick species (3 *Amblyomma* species and 1 species from each of the genera *Ixodes* and *Ornithodoros*) were reported in the literature. The most common ticks on Carnivora hosts were *Amblyomma ovale* (found on 14 host species), *Amblyomma cajennense* (10 species), *Amblyomma aureolatum* (10 species), *Amblyomma tigrinum* (7 species), *Amblyomma parvum* (7 species), and *Boophilus microplus* (7 species).

Introduction

Ticks are ectoparasites of terrestrial, flying and semi-aquatic vertebrate animals on all continents of the world. In general, ticks have a unique life cycle with each post embryonic life stage feeding for several days on a vertebrate host. Ticks generally spend more than 90% of their lifetime in off-host conditions, making them very vulnerable to environment modifications. In nature, some vertebrate species are more continually exposed to ticks than others. The longer a tick and a host taxon have coevolved, the more they are likely to coexist in a given area. In this context, a successful coevolution process means that a tick species usually depends on the presence of one or more vertebrate host species for its establishment within a specific ecosystem; in this case, the vertebrate animal is the primary host for that tick species. However, solely the presence of primary host is not sufficient for the establishment of a given tick species. Abiotic factors (latitude, altitude, and vegetation type) are crucial to determine tick survival and development in the environment and also the availability of primary hosts. For this reason, environmental changes can affect populations of both vertebrates and their natural parasites. Although these changes can result in the extinction of some parasites, which participate in the natural dynamics of host populations, it can also make the vertebrate more vulnerable to parasites, which it has never experienced in its life before. The surveillance of parasites on wildlife is always useful to detect any new host–parasite interaction that has emerged. Thus, the study of the ectoparasite fauna of terrestrial wildlife can be indicative of environment changes in a temporal scale.

In general, carnivores are adapted to find, catch, and kill animal prey, although they have other ecological roles that are all beneficial and important in the ecosystems (Emmons 1997). Predator carnivores usually have a large home range, and are frequently in close contact with several other vertebrate species (the prey). In addition, a larger proportion of the prey of carnivore tend to be the weakest individuals within a specific prey population, which tend to have high tick burdens (Samish and Rehacek 1999). These factors could increase the exposure of carnivores to different tick species.

The native Brazilian wildlife encompasses four Carnivora families: Felidae (8 species), Canidae (6 species), Mustelidae (8 species), and Procyonidae (4 species) (Brasil 2004). The present study reports field data of naturally

tick-infested carnivores from different regions of Brazil. Additional data were obtained from one tick collection and from previous published data of ticks on carnivores in Brazil. The results were grouped to form a database of ticks on carnivores in Brazil. Possible tick–primary host interactions or new tick–host associations are inferred.

Material and methods

From July 1998 to September 2004, ticks were collected from field-captured wild carnivores in different regions of Brazil, as part of different projects sponsored by several institutions (see Acknowledgments). The collected ticks were transported alive or preserved in 70% alcohol to the laboratory for taxonomic identification. When possible, live immature specimens of the genus *Amblyomma* were reared to the adult stage in the laboratory for identification of the tick species (Labruna et al. 2002a). The collected ticks were deposited in the tick collection Coleção Nacional de Carrapatos (CNC) of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of São Paulo, São Paulo, SP. Additional data of ticks on carnivores in Brazil were obtained from the Acari Collection of the Instituto Butantan (IBSP). Published records of ticks on carnivores in Brazil were extracted from the literature and presented according to the location, when available.

Results

During the field work from 1998 to 2004, ticks were collected from 246 wild carnivores as follows: 89 *Cerdocyon thous* (crab-eating fox), 58 *Chrysocyon brachyurus* (maned wolf), 30 *Puma concolor* (puma), 26 *Panthera onca* (jaguar), 12 *Procyon cancrivorus* (crab-eating raccoon), 6 *Pseudalopex vetulus* (hoary fox), 6 *Nasua nasua* (coati), 6 *Leopardus pardalis* (ocelot), 4 *Speothos venaticus* (bush dog), 2 *Leopardus tigrinus* (oncilla), 1 *Leopardus wiedii* (margay), 1 *Herpailurus yagouaroundi* (jaguarundi), 1 *Oncifelis colocolo* (pampas cat), 1 *Eira barbara* (tayara), 1 *Galictis vittata* (grison), 1 *Lontra longicaudis* (neotropical otter), and 1 *Potus flavus* (kinkajou). All animals were captured in wild life except for 1 *C. brachyurus*, 1 *P. vetulus*, and 1 *L. wiedii*. A total of 3437 ticks were collected and identified.

Data obtained from the Acari Collection IBSP included a total of 381 tick specimens collected on the following host species: 13 *C. thous*, 8 *C. brachyurus*, 3 *P. concolor*, 10 *P. onca*, 3 *P. cancrivorus*, 4 *N. nasua*, 1 *L. pardalis*, 1 *L. wiedii*, 4 *H. yagouaroundi*, 1 *Galictis cuja* (lesser grison), and 1 *L. longicaudis*. The tick species found infesting each host species from our field work and the IBSP data were grouped and presented in Tables 1–3. The locations of the tick records are indicated in Table 4.

Table 1. Ticks on Felidae species from different locations in Brazil.

Ticks ^a	Host species [Number of examined individuals]						
	<i>Puma concolor</i> [33]	<i>Panthera onca</i> [36]	<i>Leopardus pardalis</i> [7]	<i>Leopardus tigrinus</i> [2]	<i>Leopardus wiedii</i> [2]	<i>Oncifelis colocolo</i> [1]	<i>Herpailurus yagouaroundi</i> [5]
<i>Ixodes aragaoi</i>							
Adult	1 (13)						
<i>Amblyomma aureolatum</i>							
Adult	3 (47,58,68)						2 (32,68)
<i>A. brasiliense</i>							
Nymph ^b		1 (70)					
<i>A. cajemense</i>							
Adult	3 (7,13)	8 (4,5,7,17)		1 (60)			
Nymph ^b		2 (7,70)	2 (13)				
Larva ^b	1 (7)	1 (70)	1 (13)				
<i>A. coelebs</i>							
Nymph ^b	1 (9)	4 (70)					
<i>A. oblongoguttatum</i>							
Adult		1 (34)					
<i>A. ovale</i>							
Adult	13 (4,7,11,13,17,27)	11 (2,5,7,20,21,34,59,70)	2 (27,61)		1 (1)		
<i>A. parvum</i>							
Adult	7 (3,13)	3 (2,4,59)	1 (13)				1 (18)
<i>A. tigrinum</i>							
Adult	3 (3,4)	4 (4,5)					
<i>A. triste</i>							
Adult	1 (4)	2 (4,59)					1 (18)
Larva ^b		1 (11)					
<i>Amblyomma</i> sp.							
Nymph	6 (7,9,11)	13 (2,4,7,11,59,70)	2 (4,13)			1 (4)	1 (4)
Larva	5 (7,11,13)	4 (7,11)	1 (4)				

<i>Demacenter nitens</i>			
Adult	4 (7,66)	1 (59)	
Nymph		1 (59)	1 (69)
<i>Boophilus microplus</i>			
Adult	5 (7,11,13)	6 (7,8,70)	1 (4)
Nymph	2 (7,11)	5 (4,7,57)	1 (4)
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>			
Adult			1 (35)

^aNumber of infested animals (location code in parentheses see Table 4).

^bSpecies identification were made after rearing the tick to the adult stage in the laboratory.

Table 2. Ticks on Canidae species from different locations in Brazil.

Ticks ^a	Host species [number of examined individuals]			
	<i>Cerdocyon thous</i> [102]	<i>Chrysocyon brachyurus</i> [66]	<i>Pseudalopex vetulus</i> [6]	<i>Speothos venaticus</i> [4]
<i>Amblyomma aureolatum</i>				
Adult	5 (45,53,58,68)	1 (56)		
<i>A. brasiliense</i>				
Nymph ^b		1 (55)		
<i>A. cajennense</i>				
Adult	7 (13,14,29,68)	5 (4,10,13,51,69)		2 (4,13)
Nymph ^b	31 (13,14)	9 (13,65)	1 (14)	1 (13)
Larva ^b	6 (13)			
<i>A. dubitatum</i>				
Adult	1 (54)			
<i>A. fuscum</i>				
Adult	1 (50)			
<i>A. ovale</i>				
Adult	10 (13,14,16,29,50,52)	4 (13,15,65)		3 (4,13)
<i>A. parvum</i>				
Adult	6 (13,16)	3 (13,14)		
<i>A. tigrinum</i>				
Adult	20 (4,18)	47 (13,14,15,46,49,67)	1 (4)	
<i>A. triste</i>				
Adult		1 (13)	1 (4)	
<i>Amblyomma</i> sp.				
Nymph	67 (4,13,14,16,55)	18 (4,13)	1 (14)	3 (4)
Larva	22 (4,13,14,16,69)	2 (4)		
<i>Dermacentor nitens</i>				
Adult	1 (13)			
<i>Boophilus microplus</i>				
Adult	1 (16)			
Nymph	2 (14,16)	1 (13)		
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>				
Adult		1 (55)	4 (22,24)	
Nymph	1 (65)			

^aNumber of infested animals (location code in parentheses see Table 4).

^bspecies identification were made after rearing the tick to the adult stage in the laboratory.

Table 5 summarizes the literature records of the tick species that have been found on carnivores in Brazil, prior to the present study. All records refer to the tick adult stage except for one nymphal record of *Ixodes loricatus* on *N. nasua*. The only carnivore species cited in the literature (Table 5), for which we do not present any field data (Tables 1–3) are *Pseudalopex gymnocercus* (pampas fox), *Conepatus chinga* (Molina's hog-nosed skunk), and *Conepatus semistriatus* (striped hog-nosed skunk).

We report the first tick records in Brazil on two Felidae species (*O. colocolo*, *H. yagouaroundi*), two Canidae species (*P. vetulus*, *S. venaticus*), one Procyonidae species (*P. flavus*) and one Mustelidae (*E. barbara*). Tick infestation

Table 3. Ticks on Procyonidae and Mustelidae species from different locations in Brazil.

Ticks ^a	Host species [number of examined individuals]						
	<i>Procyon cancrivorus</i> [15]	<i>Nasua nasua</i> [10]	<i>Potus flavus</i> [1]	<i>Galictis vittata</i> [1]	<i>Galictis cuja</i> [1]	<i>Lontra longicaudis</i> [2]	<i>Eira barbara</i> [1]
<i>Amblyomma aureolatum</i>							
Adult	4 (27,39,55,68)						
<i>A. brasiliense</i>							
Nymph ^b		1 (27)					
<i>A. cajennense</i>							
Adult	1 (13)						
Nymph ^b	9 (13,14,55)						
<i>A. ovale</i>							
Adult	4 (13,68)	7 (17,27,62,64)		1 (63)	1 (68)	2 (48,50)	1 (35)
<i>A. rotundatum</i>							
Adult		1 (19)					
<i>Amblyomma</i> sp.							
Nymph	10 (13,14,55)	4 (17,62,64)					
Larva		1 (4)					
<i>Ornithodoros</i> sp.							
Larva			1 (35)				

^aNumber of infested animals (location code in parentheses see Table 4).

^bspecies identification were made after rearing the tick to the adult stage in the laboratory.

remains unreported for 5 of the 26 Carnivora species native to Brazil: *Oncifelis geoffroyi* (Geoffroy's cat), *Atelocynus microtis* (short-eared dog), *Pteronura brasiliensis* (giant otter), *Mustela africana* (Amazon weasel), and *Bassaricyon gabbii* (olingo).

Our field data comprise 16 tick species represented by the genera *Amblyomma* (12 species), *Ixodes* (1 species), *Dermacentor* (1 species), *Rhipicephalus* (1 species), and *Boophilus* (1 species) (Tables 1–3). Additional 5 tick species (3 *Amblyomma* species and 1 species from each of the genera *Ixodes* and *Ornithodoros*) were reported in the literature (Table 5). The distribution of the most frequent tick species found on carnivores in Brazil are presented in the Figure 1, according to the six major biomes of this country.

Discussion

The most common ticks on Carnivora hosts were *Amblyomma ovale* (found on 14 host species), *Amblyomma cajennense* (10 species), *Amblyomma aureolatum* (10 species), *Amblyomma tigrinum* (7 species), *Amblyomma parvum* (7 species), and *Boophilus microplus* (7 species). It is noteworthy that all records of *A. aureolatum*, *A. ovale*, *A. parvum* and *A. tigrinum* refer to the tick adult stage whereas most of the records of *A. cajennense* refer to the immature stages (nymphs and larvae). These findings are supported by other studies that

Table 4. Locations of the present study where ticks were collected on Carnivora.

Code	Municipality	State	Longitude	Latitude
1	Macapá	AP	−51.06	0.03
2	Brasília	DF	−47.93	−15.78
3	Chapadão do Céu	GO	−52.54	−18.40
4	Mineiros	GO	−52.75	−18.32
5	Mato Verde	MG	−42.86	−15.39
6	São Roque de Minas	MG	−46.36	−20.24
7	Anaurilândia	MS	−52.71	−22.18
8	Bataguassu	MS	−52.42	−21.71
9	Bataiporã	MS	−53.27	−22.29
10	Bonito	MS	−56.48	−21.12
11	Navirai	MS	−54.19	−23.06
12	Tula	MS	−56.76	−19.13
13	Barão de Melgaço	MT	−55.95	−16.27
14	Chap. dos Guimarães	MT	−55.75	−15.46
15	Cuiabá	MT	−56.09	−15.59
16	Jangada	MT	−56.48	−15.23
17	Poconé	MT	−56.62	−16.25
18	Rio Branco	MT	−58.11	−15.24
19	Belém	PA	−48.50	−1.45
20	Monte Alegre	PA	−54.06	−2.00
21	Santana do Araguaia	PA	−50.62	−9.50
22	São José do Bonfim	PB	−37.30	−7.16
23	Caracol	PI	−43.33	−9.27
24	Teresina	PI	−42.80	−5.08
25	Almirante Tamandaré	PR	−49.31	−25.32
26	Caiobá	PR	−48.54	−25.81
27	Foz do Iguaçu	PR	−54.58	−25.54
28	Guaratuba	PR	−48.57	−25.88
29	Japurá	PR	−52.55	−23.47
30	Morretes	PR	−48.83	−25.47
31	Paranaguá	PR	−48.50	−25.52
32	Piraído Sul	PR	−49.94	−24.52
33	Ponta Grossa	PR	−56.62	−16.25
34	Gov. Jorge Teixeira	RO	−62.64	−10.52
35	Monte Negro	RO	−63.32	−10.29
36	Arroio Grande	RS	−53.08	−32.23
37	Encruzilhada do Sul	RS	−52.52	−30.54
38	Guaíba	RS	−51.32	−30.11
39	Herval	RS	−53.39	−32.02
40	Jaguarão	RS	−53.37	−32.56
41	Pedro Osório	RS	−52.82	−31.86
42	São Franc. de Paula	RS	−50.58	−29.44
43	Três Passos	RS	−53.93	−27.45
44	Vacaria	RS	−50.93	−28.51
45	Rio Vermelho (?)	SC	?	?
46	Altinópolis	SP	−47.37	−21.02
47	Arujá	SP	−46.32	−23.39
48	Bertioga	SP	−46.13	−23.85
49	Brotas	SP	−48.12	−22.28

Table 4. Continued.

Code	Municipality	State	Longitude	Latitude
50	Cananéia	SP	−47.92	−25.01
51	Franca	SP	−47.40	−20.53
52	Iguape	SP	−47.55	−24.70
53	Itapecerica da Serra	SP	−46.84	−23.71
54	Jordanésia	SP	−46.87	−23.35
55	Jundiaí	SP	−46.88	−23.18
56	Luís Antônio	SP	−47.70	−21.55
57	Marabá Paulista	SP	−51.96	−22.10
58	Mogi das Cruzes	SP	−46.18	−23.52
59	Paulicéia	SP	−51.83	−21.31
60	Pedreira	SP	−46.90	−22.74
61	Pereira Barreto	SP	−51.10	−20.63
62	Piedade	SP	−47.42	−23.71
63	Pirassununga	SP	−47.42	−21.99
64	Presidente Venceslau	SP	−51.84	−21.87
65	Ribeirão Preto	SP	−47.81	−21.17
66	Rosana	SP	−53.05	−22.58
67	São Carlos	SP	−47.89	−22.01
68	São Paulo	SP	−46.63	−23.54
69	Sorocaba	SP	−47.45	−23.50
70	Teodoro Sampaio	SP	−52.16	−22.53

appointed Carnivora to be primary hosts for the adult stages and other animal taxa (birds or small rodents) as hosts for the immature stages of *A. aureolatum*, *A. ovale*, and *A. tigrinum* (Labruna et al. 2002b; Arzua et al. 2003; Guglielmone et al. 2003; Pinter et al. 2004). On the other hand, herbivorous hosts such as tapirs, horses and capybaras are considered primary hosts for all stages of *A. cajennense* but its immature stages have shown a much broader host range than the adult stage (Lopes et al. 1998; Labruna et al. 2002a,c). Primary hosts for *A. parvum* ticks have not been appointed in the literature although this tick has been collected on hosts of several mammalian orders (including Carnivora) (Guglielmone et al. 1990). Cattle have been considered the only primary host for the tick *B. microplus* (both were introduced in Brazil during European colonization). Thus, infestation by Carnivora hosts by *B. microplus* indicate habitat sharing by these Carnivora and cattle, or even a predator–prey relation (see below). In fact, most of the individuals infested by *B. microplus* in the present study were *P. onca* or *P. concolor*, which are the main predators of cattle in Brazil (Cullen et al. 2003).

The remaining tick species shown in Tables 1–3 were less commonly recorded, each found on 1 to 4 different host species. Several different hosts species other than Carnivora are considered the main primary hosts for the adult stage of these tick species in Brazil; i.e. deer are primary hosts for adults of *Ixodes aragaoi* and *Amblyomma triste* (Barros-Battesti and Knysak 1999; Szabo et al. 2003), capybaras for *Amblyomma dubitatum* (Labruna et al. 2004),

Table 5. Literature records for ticks on wild carnivores in Brazil.

Host species	Tick species (location code in parentheses) ^a	References
<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Amblyomma aureolatum</i> (26,32,36,37,38,44) <i>A. cajennense</i> ^b <i>A. longirostre</i> ^b <i>A. tigrinum</i> (38,44)	Aragão (1936), Guimarães (1945), Barros and Baggio (1992), Evans et al. (2000)
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	<i>A. ovale</i> ^b <i>A. tigrinum</i>	Aragão (1936), Whitaker and Dietz (1987)
<i>Pseudalopex gymnocercus</i>	<i>A. aureolatum</i> (36,37) <i>A. tigrinum</i> (33,37,40,41)	Barros and Baggio (1992), Evans et al. (2000)
<i>Panthera onca</i>	<i>A. cajennense</i> ^b <i>A. ovale</i> (27) <i>Boophilus microplus</i> ^b	Aragão (1936), Sinkoc et al. (1998)
<i>Puma concolor</i>	<i>A. aureolatum</i> ^b <i>A. cajennense</i> ^b <i>A. ovale</i> ^b	Aragão (1936), Araújo and Fonseca (1961)
<i>Leopardus pardalis</i>	<i>A. ovale</i> (27) <i>B. microplus</i> ^b	Aragão (1936), Sinkoc et al. (1998)
<i>Leopardus tigrinus</i>	<i>A. longirostre</i> (30)	Barros and Baggio (1992)
<i>Leopardus wiedii</i>	<i>A. aureolatum</i> ^b	Aragão and Fonseca (1961)
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	<i>A. ovale</i> (25)	Barros and Baggio (1992)
<i>Procyon cancrivorus</i>	<i>A. aureolatum</i> (43) <i>A. calcaratum</i> ^b <i>A. ovale</i> ^b	Aragão (1936), Jones et al. (1972), Evans et al. (2000)
<i>Nasua nasua</i>	<i>A. aureolatum</i> ^b <i>A. cajennense</i> (12) <i>A. ovale</i> (12,33) <i>A. parvum</i> (12) <i>A. tigrinum</i> (12) <i>Ixodes loricatus</i> (nymph) (33)	Aragão (1936), Barros and Baggio (1992), Campos Pereira et al. (2000)
<i>Conepatus chinga</i>	<i>Ornithodoros brasiliensis</i> (42)	Aragão (1936)
<i>Conepatus semistriatus</i>	<i>A. auricularium</i> (as <i>A. concolor</i> (23)	Aragão (1913)
<i>Galictis cuja</i>	<i>A. aureolatum</i> (31) <i>A. ovale</i> (27,31)	Barros and Baggio (1992), Sinkoc et al. (1998)
<i>Galictis vittata</i>	<i>A. aureolatum</i> ^b	Aragão and Fonseca (1961)
<i>Lontra longicaudis</i>	<i>A. ovale</i> (28)	Aragão and Fonseca (1961), Barros and Baggio (1992)

All records refer to the tick adult stage except when stated.

^asee Table 3.

^bReferences did not specify the location of the host species in Brazil.

reptilia for *Amblyomma fuscum* (Barros-Battesti et al. 2004), tapirs for *Amblyomma oblongoguttatum* (Labruna et al. 2000), horses for *Dermacentor nitens*, amphibia and snakes for *A. rotundatum*, porcupines for *Amblyomma longirostre*, anteater for *Amblyomma calcaratum*, armadillos for *A. auricularium*, and small rodents for *I. loricatus* nymphs (Guimarães et al. 2001). The fact that these other animals are the primary hosts for these tick species means that

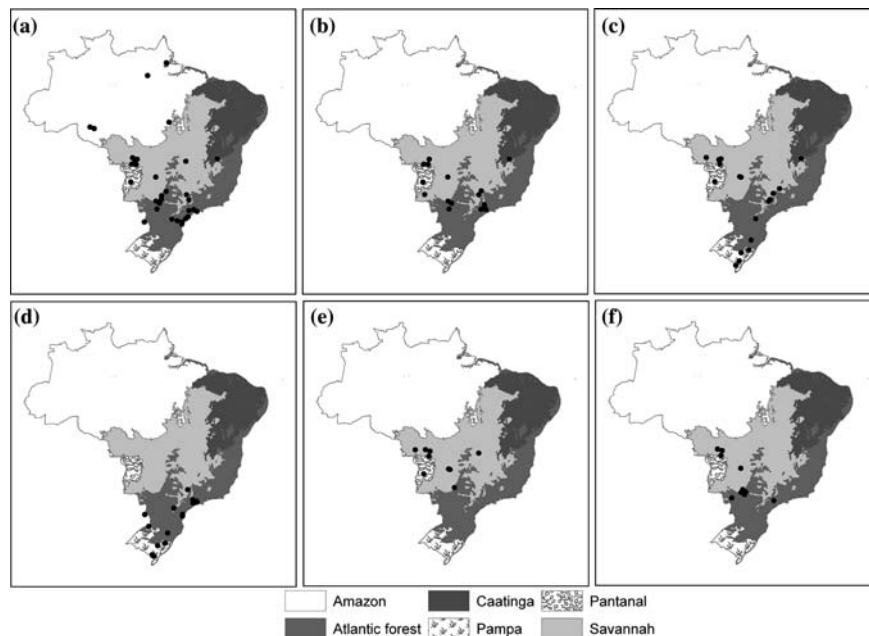


Figure 1. Collection sites (●) for the most frequent tick species found on carnivores in Brazil, according to the six major biomes. (a) *Amblyomma ovale*, (b) *Amblyomma cajennense*, (c) *Amblyomma tigrinum*, (d) *Amblyomma aureolatum*, (e) *Amblyomma parvum*, (f) *Boophilus microplus*.

the majority of their host records have been on these animal hosts and that the establishment of each of these tick species in a given area will depend on the presence of its corresponding primary host. On the other hand, these tick species tend to parasitize hosts other than their primary hosts (i.e. Carnivora) in situations of high tick burdens in the environment (Labruna et al. 2002a), when host specificity tends to decrease. In addition, the parasitism of Carnivora hosts by unusual tick species could also be a result of predatory or scavenger habits such as when a tick has its normal feeding process on a primary host (the prey) interrupted by any reason (i.e. the death of the host prey). In this case, this tick tends to lose host specificity and will reassume the feeding process on the closest available host species (i.e. the predator or scavenger Carnivora) (Hoogstraal and Aeschlimann 1982).

It is noteworthy our findings of *Rhipicephalus sanguineus* on the Canidae species *P. vetulus* (4 individuals), *C. brachyurus* (1), *C. thous* (1) and on the Felidae *L. wiedii* (1). The domestic dog is considered the single primary host for *R. sanguineus* in the New World, although the tick has occasionally been reported on domestic cats and rabbits in Brazil (Aragão 1936; Evans et al. 2000). The strong tick–host interaction between *R. sanguineus* and dogs is reflected by the absence of an effective immune response of dogs against repeated infestations by this tick (Szabó et al. 1995). Interestingly, similar

immune responses were observed for *C. thous* against experimental infestations by *R. sanguineus* (Ferreira and Bechara 1995). Furthermore, our records of this tick on *C. brachyurus*, *L. wiedii*, and one *P. vetulus* individual were on captive animals. Indeed, the captive environment is very similar to the ideal conditions for the establishment of *R. sanguineus* in restrained dogs in the cities (Labruna and Pereira 2001). The other three records on *P. vetulus* were on free-living animals that had close contact with domestic dogs in the rural area of the state of Paraíba. The possibility of Brazilian native Carnivora (especially Canidae) to act as primary hosts for *R. sanguineus* requires further investigations.

Our findings of *A. triste* larvae on *P. onca* (5 ticks on a host), *A. brasiliense* nymphs on *P. onca*, *C. brachyurus*, and *N. nasua* (1 nymph on each host), *A. coelebs* nymphs on *P. concolor* and *P. onca* (1 to 2 nymphs per host), and *I. aragaoi* adults (1 male and 1 female) on a *P. concolor* deserve special consideration because host associations of these tick species have been scarcely reported, especially for immature stages.

The Brazilian land is basically composed by six major biomes (Figure 1): 1 – Amazon forest, in the north. 2 – Atlantic rain forest, throughout the east coast entering the land towards the southeast. 3 – Savannah, in the central. 4 – Caatinga (semi-desert), in the northeast between the Atlantic rain forest and the Savannah. 5 – Pantanal, a smaller biome located in the central-western area surrounded by the Savannah in the east. 6 – Pampa, a small biome in the extreme south of the country (Ab'Saber 1977). The fauna composition tends to be distinct between these biomes although some Carnivora species are present in two or more biomes (Emmons 1997). Similarly, some tick species are restricted to a single biome whereas others are established among different biomes. In this regard, the present study allowed us to conclude that the tick species *A. ovale* and *A. oblongoguttatum* are the main species infesting Carnivora in the Amazon; *A. cajennense*, *A. ovale*, *A. tigrinum*, and *A. parvum* were the dominant species in the Savannah and Pantanal; *A. aureolatum*, *A. ovale*, and *A. tigrinum* predominate in the Atlantic rain forest; and *A. aureolatum* and *A. tigrinum* predominate in the Pampa. The Atlantic rain forest biome has been massively degraded and the secondary biome that has formed (resembling the Savannah) has turned a highly suitable area for *A. cajennense*. The species *D. nitens* and *B. microplus* are primarily associated with horses and cattle, respectively, and were found on Carnivora from different biomes in areas where cultured pastures have replaced the original biome vegetation. Generally, the tick species found on Carnivora in these different biomes follow the known geographic distribution of these tick species in Brazil (Aragão 1936; Guimarães et al. 2001; Guglielmone et al. 2003). The only tick species found on Carnivora from the Caatinga were *R. sanguineus* and *A. auricularium*. However, this is a poorly studied biome and it is possible that other tick species would have major importance on Carnivora from that area.

In the present study, we considered the foxes captured in the state of Paraíba (Caatinga biome) as belonging to the species *P. vetulus*. We are aware that the taxonomic status of the Caatinga fox has been a controversial subject. As long

as this taxonomic problem remains unsolved, we are adopting the species name *P. vetulus*.

Finally, even that we evaluated a limited number of host records for some biomes, it was possible to conclude that the ticks infesting wild Carnivora in Brazil are the result of the main tick species established in each area, as a result of particular faunal and environmental characteristics.

Acknowledgements

Field work of the present study was sponsored by the following institutions (office location in parentheses): Associação para a Conservação dos Carnívoros Neotropicais – Pro-Carnívoros (Atibaia, SP), Companhia Energética de São Paulo CESP (São Paulo, SP), Reserva Particular de Patrimônio Natural SESC Pantanal (Cuiabá, MT), Furnas Centrais Elétricas S.A (Chapada dos Guimarães, MT), Floresteca Agroflorestal Ltda (Jangada, MT), Associação Mata Ciliar (Jundiaí, SP), and Parque Zoológico Municipal ‘Quinzinho de Barros’. All captures of wild animals were previously approved by the Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

References

- Ab'Saber A. Nacib 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Geomorfologia São Paulo 52: 1–22.
- Aragão H. 1913. Nota sobre algumas coleções de carrapatos brasileiros. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 5: 263–270.
- Aragão H. 1936. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 31: 759–843.
- Aragão H. and Fonseca F. 1961. Notas de Ixodologia. IX. O complexo *ovale* do genero *Amblyomma*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 59: 132–1148.
- Arzua M., Navarroda Silva M.A., Famadas K.M., Beati L. and Barros-Battesti D.M. 2003. *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) on birds in Southern Brazil, with notes on their ecology. Exp. Appl. Acarol. 31: 283–296.
- Barros D.M. and Baggio D. 1992. Ectoparasites Ixodida Leach, 1817 on wild mammals in the State of Paraná, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 87: 291–296.
- Barros-Battesti D.M. and Knysak I. 1999. Catalogue of the Brazilian *Ixodes* (Acari: Ixodidae) material in the mite collection of the Instituto Butantan, São Paulo, Brazil. Pap. Avulsos Zool. 41: 49–57.
- Barros-Battesti D.M., Onofrio V.C., Labruna M.B., Martins J.R. and Guglielmone A.A. 2004. Redescription of *Amblyomma fuscum* Neumann, 1907 (Acari: Ixodidae), a rare tick in South America Brazil. Systematic Parasitology (in press).
- Brasil 2004. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Plano de Ação: Pesquisa e conservação de mamíferos carnívoros do Brasil. IBAMA, São Paulo, 52 pp.
- Cullen L.Jr., Rudran R. and Valladares-Padua C. 2003. Métodos de estudos em biologia da conservação e Manejo da vida silvestre. Editora da UFPR Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Curitiba, 667 pp.

- Emmons H. 1997. Neotropical rainforest mammals, A field guide (2nd ed). University of Chicago Press, Chicago, 307 pp.
- Evans D.E., Martins J.R. and Guglielmone A.A. 2000. A review of the ticks (Acari: Ixodidae) of Brazil, their hosts and geographic distribution. 1. The state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 95: 453–470.
- Guimarães L.R. 1945. Sobre alguns ectoparasitas de aves e mamíferos do litoral paranaense. Arquivos do Museu Paranaense 4: 179–190.
- Guimarães J.H., Tucci E.C. and Barros-Battesti D.M. 2001. Ectoparasitos de importância veterinária. Editora Plêiade, São Paulo, 213 pp.
- Guglielmone A.A., Mangold A.J. and Keirans J.E. 1990. Redescription of the male and female of *Amblyomma parvum* Aragão, 1908, and description of the nymph and larva, and redescription of all stages of *Amblyomma pseudoparvum* sp. n. (Acari: Ixodida: Ixodidae). Acarologia 31: 143–159.
- Guglielmone A.A., Estrada-Peña A., Mangold A.J., Barros-Battesti D.M., Labruna M.B., Martins J.R., Venzal J.M., Arzua M. and Keirans J.E. 2003. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Kock, 1844: hosts, distribution and 16S rDNA sequences. Vet. Parasitol. 113: 273–288.
- Ferreira B.R. and Bechara G.H. 1995. Imunidade a carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Acarina: Ixodidae) em cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus) e no cão doméstico. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 32: 232–237.
- Hoogstraal H. and Aeschlimann A. 1982. Tick-host specificity. Bull. Soc. Entomol. Suisse 55: 5–32.
- Jones E.K., Clifford C.M., Keirans J.E. and Kohls G.M. 1972. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western hemisphere. Brigham Young Univ. Sci. Bull., Biol. Ser. 17: 1–40.
- Labruna M.B. and Pereira M.C. 2001. Carrapatos em cães no Brasil. Clínica Veterinária 30: 24–32.
- Labruna M.B., Homem V.S., Heinemann M.B. and Ferreira Neto J.S. 2000. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Uruara, eastern Amazon, Brazil. J. Med. Entomol. 37: 774–776.
- Labruna M.B., Paula C.D., Lima T.F. and Sana D.A. 2002a. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild animals from the Porto-Primavera hydroelectric power station area, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 97: 1133–1136.
- Labruna M.B., Souza S.L.P., Menezes A.C., Horta M.C., Pinter A., Gennari and S.M. 2002b. Life-cycle and host specificity of *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. Exp. Appl. Acarol. 26: 115–125.
- Labruna M.B., Kasai N., Ferreira F., Faccini J.L.H. and Gennari S.M. 2002c. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo Brazil. Vet. Parasitol. 105: 65–77.
- Labruna M.B., Pinter A. and Teixeira R.H.F. 2004. Life cycle of *Amblyomma cooperi* (Acari: Ixodidae) using capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as hosts. Exp. Appl. Acarol. 32: 79–88.
- Lopes C.M.L., Leite R.C., Labruna M.B., Oliveira P.R., Borges L.M.F., Rodrigues Z.B., Carvalho H.A., Freitas C.M.V. and Vieira C.R.Jr 1998. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 93: 347–351.
- Pereira M.C., Szabó M.P.J., Bechara G.H., Matushima E.R., Duarte J.M.B., Rechav Y., Fielden L. and Keirans J.E. 2000. Ticks on wild animals from the Pantanal region of Brazil. J. Med. Entomol. 37: 979–983.
- Pinter A., Dias R.C., Gennari S.M. and Labruna M.B. 2004. Study of the seasonal dynamics, life-cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol. 41: 533–537.
- Samish M. and Rehacek J. 1999. Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. Annu. Rev. Entomol. 44: 159–182.
- Sinkoc A.L., Brum J.G.W., Moraes W. and Crawshaw P. 1998. Ixodidae parasitos de animais silvestres na região de Foz do Iguaçu, Brasil e Argentina. Arq. Inst. Biol. 65: 29–33.

- Szabó M.P.J., Mukai L.S, Rosa P.C.S. and Bechara G.H. 1995. Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters and guinea pigs to infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acarina: Ixodidae). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 32: 43–50.
- Szabo M.P., Labruna M.B., Pereira M.C. and Duarte J.M. 2003. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast Brazil: infestations before and after habitat loss. *J. Med. Entomol.* 40: 268–274.
- Whitaker J.O. and Dietz J.M. 1987. Ectoparasites and other associates of some mammals from Minas Gerais, Brazil. *Entomol. News* 98: 189–197.

CAP.VII

Análises genéticas

Onça-pintada (*Panthera onca*)

Alto Rio Paraná, MS/SP

Análise Genética Molecular da População de Onça-Pintada (*Panthera onca*) do Alto Rio Paraná, MS/SP.

Prof. Eduardo Eizirik, Ph.D. (PUCRS/Instituto Pró-Carnívoros)

Email: eduardo.eizirik@pucrs.br

M. Sc. Taiana Haag (UFRGS / PUCRS)

Email: taiahaag@yahoo.com.br

Endereço: Faculdade de Biociências-PUCRS

Av. Ipiranga, 6681, prédio 12C. Sala 172

Porto Alegre, RS 90619-900

Introdução e Objetivos

A onça-pintada (*Panthera onca*) é a maior espécie de felídeo das Américas e está atualmente ameaçada principalmente por perda de habitat e perseguição humana. Desde meados de 1900 tem sido extinta em várias regiões, ocorrendo hoje em cerca de 50% da distribuição original, sob forma de fragmentos populacionais de vários tamanhos. Para desenvolver estratégias adequadas de conservação e manejo é importante incorporar um entendimento confiável da estrutura populacional desta espécie, assim como a caracterização da distribuição de sua diversidade genética. Estudos ecológicos vêm sendo realizados na Mata Atlântica e são de importância fundamental para o desenvolvimento de planos de conservação para a espécie. No entanto, em todos estes estudos há o reconhecimento da necessidade de análises genéticas complementares às abordagens ecológicas. O presente relatório tem por objetivo sintetizar o estudo que vem sendo realizado para investigar a diversidade genética e os padrões de diferenciação geográfica entre populações brasileiras de onça-pintada provenientes de áreas do Alto Rio Paraná (área de influência da UE Porto Primavera, SP/MS e P.E. das Várzeas do rio Ivinhema, MS). Os níveis de diversidade genética de onças-pintadas provenientes destas áreas serão

comparados com aqueles encontrados em outros remanescentes de Mata Atlântica de Interior próximos, como por exemplo, a população de onças-pintadas do Morro do Diabo/SP (em colaboração com M.Sc. Laury Cullen Jr. do Instituto de Pesquisas Ecológicas) e a distribuição geográfica desta variabilidade será analisada. A realização de estudos como este é de extrema importância para uma melhor compreensão da diversidade genética e estrutura populacional deste felino além da implementação de medidas viáveis para sua conservação e manejo.

Métodos utilizados

A extração de DNA a partir de amostras de sangue e tecido foi realizada segundo protocolo modificado de Sambrook *et al.* 1989.

Para estimar a diversidade genética e estrutura populacional de onças-pintadas, provenientes da área em estudo, comparando também com outras populações remanescentes deste felino, estamos utilizando entre 10-15 locos de microssatélites. Estes marcadores moleculares estão presentes no genoma nuclear (sendo transmitidos aos descendentes por machos e fêmeas) e consistem de segmentos de DNA contendo uma série de repetições curtas. Os ‘alelos’ neste tipo de marcador consistem de um número variável destas repetições em um dado segmento. As altas taxas de adição e deleção de repetições conferem a estes locos uma grande variabilidade a nível populacional, fazendo destes os mais indicados para estudos detalhados de demografia atual, estrutura social e análise de genealogias familiares (Awise e Hamrick, 1996).

Os locos da região de interesse (microssatélites) são amplificados por PCR (*Polimerase chain Reaction*) e os produtos lidos em um ensaio padrão de fluorescência no seqüenciador automático MegaBACE 1000 e analisados através do software GENETIC PROFILER, permitindo a genotipagem dos indivíduos para posterior análise de diversidade genética e estrutura populacional.

As análises estatísticas foram realizadas com os programas Genepop 3.2, Arlequin 3.01 e Cervus 2.0.

Amostras Recebidas

Até o momento, foram obtidas 33 amostras de indivíduos de onça-pintada coletadas entre os anos de 1998 e 2006 na região do Alto Rio Paraná. As amostras são provenientes de duas áreas (Tabela 1):

- área de influência da UE Porto Primavera (Sérgio Motta) SP/MS, sendo que algumas destas amostras já haviam sido previamente coletadas em 1993 e 1994 nesta mesma área;

- Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema, MS, à jusante da barragem de Porto Primavera.

Foram recebidas também nove amostras da região do Alto Rio Paraná provenientes do Parque Estadual do Morro do Diabo, SP. Estas serão analisadas em conjunto com as demais amostras, totalizando um total de 42 indivíduos diferentes para toda a região, do P.E. das Várzeas do Rio Ivinhema até o município de Bataguassu e Anaurilândia, no Mato Grosso do Sul e até o P.E. do Morro do Diabo em São Paulo. As amostras foram cedidas pelo pesquisador Laury Cullen Jr., do Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ, que desenvolveu trabalho naquela unidade de conservação e é pesquisador associado do projeto “Ecologia, conservação e manejo de grandes felinos do Alto Rio Paraná - 2004/2006” (Tabela 2).

Também foram incluídas nas análises três amostras de onça-pintada provenientes de um outro fragmento da Mata Atlântica de Interior, região do Parque Nacional de Iguaçu/PR, cedidas pelo Projeto Carnívoros em 1993 (Tabela 3).

Resultados preliminares

Das amostras obtidas, 35 indivíduos de onças-pintadas provenientes de quatro remanescentes da Mata Atlântica de Interior (17 indivíduos da área de influência da Usina Hidrelétrica de Porto Primavera, SP/MS, seis do Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema/MS, nove do Parque Estadual Morro do Diabo/SP e três do Parque Nacional do Iguaçu/PR) foram estudados através de 12 locos de microsatélites, dos quais apenas um foi monomórfico (FCA424). O número de alelos por loco variou de três a 10, com uma média

de 5,75. A heterozigozidade observada por loco variou de 0,483 a 0,906 com uma média de 0,641 (Tabela 4). Uma AMOVA foi realizada para investigar a diferenciação genética entre estas populações. Os resultados obtidos entre Ivinhema e Morro do Diabo ($F_{st} = 0,077$; $P = 0,020$) e deste com Porto Primavera ($F_{st} = 0,063$; $P = 0,0009$), foram moderados. Entre a população de Porto Primavera e Ivinhema ($F_{st} = 0,035$; $P = 0,030$) a diferenciação foi baixa. A maior diferenciação ocorreu entre Iguaçu e Morro do Diabo ($F_{st} = 0,197$; $P = 0,003$) seguido de Iguaçu e Ivinhema ($F_{st} = 0,138$; $P = 0,012$). Estes resultados indicam a existência de uma diferenciação genética entre estes fragmentos, porém, entre a população de Porto Primavera e Iguaçu esta diferenciação ($F_{st} = 0,038$) não foi significativa ($P = 0,094$). Deve-se ter cautela na interpretação destes resultados, pois o tamanho amostral pode estar influenciando a análise.

Também foi investigado um caso forense com duas das amostras de onça-pintada obtidas da região do Alto Rio Paraná. Um indivíduo macho da espécie, de coloração preta, capturado em setembro/2002 no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema/MS pelo biólogo Dênis Sana, vinha sendo monitorado através da rádio telemetria. Após um período de seis meses, esse animal não foi mais localizado, desaparecendo supostamente por caça. Em dezembro de 2004, no município de Nova Andradina/MS, foi apreendido pelo IBAMA um material de caçadores que atuavam na região, incluída uma pata de um indivíduo melânico. Para verificar se este material apreendido não era pertencente ao mesmo animal que fora monitorado no parque, análises genéticas para a identificação individual foram realizadas. Para isso foram utilizados os mesmos 12 locos de microssatélites e, destes, sete locos eliminaram a possibilidade de o material apreendido pelo IBAMA ser pertencente ao indivíduo que havia desaparecido.

Referências Bibliográficas

- Awise JC, Hamrick JL (eds.) (1996) *Conservation genetics: case histories from nature*. Chapman & Hall, New York.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Tabelas:

Tabela 1. Amostras recebidas da região do Alto rio Paraná, MS/SP para análises de genética molecular.

Nº DA AMOSTRA	SEXO	NºRG	Nº COLETOR	LOCAL	MATERIAL
bPon03	F			Fazenda Ariranha	Sangue
bPon11	F			Anaurilândia/MS	Sangue
bPon15	F	Po08	DS(T)018	Anaurilândia/MS	Sangue
bPon16	M	Po09	DS(T)023	Bataguassú/MS	Sangue
bPon17	M	Po05		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon18	M	Po06		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon19	F	Po07		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon20	F	Po03		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon21	F	Po04		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon22	F	Po02		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon23	M	Po01		Anaurilândia/MS	Sangue
bPon27	M	Po13	DS(T)022	Anaurilândia/MS	Sangue
bPon28	F		DS(T)041	Zoo Ilha Cesp	Sangue
bPon29	M		DS(T)001	Anaurilândia/MS	Músculo
bPon30	F	Po 10	DS(T)006	Anaurilândia/MS	Sangue
bPon31	M	Po11	DS(T)020	Anaurilândia/MS	Sangue
bPon32	F	Po12	DS(T)021	Anaurilândia/MS	Sangue
bPon35	F	Po17	DS(T)092	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon36	M?	Po16?	DS(T)100	N. Andradina /MS	Músculo (Pata)
bPon37	F	Po15 2ª captura	DS(T)101	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon38	?		DS(T)104	N. Andradina -MS	Pele (restos)
bPon39	?		DS(T)105	N. Andradina -MS	Pele (restos)
bPon40	M	Po18	DS(T)106	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon41	F	Po19	DS(T)107	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon45	F	Po14	DS(T)089	Faz.S. Carlos	Sangue
bPon46	F	Po15	DS(T)090	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon47	M	Po16	DS(T)091	P.E.Ivinhema	Sangue
bPon78	F	Po20	DS(T)115	P.E.Ivinhema	Sangue
Pon39	M			Zoo Ilha Solteira, norte P. Primavera	Sangue
Pon40	F			Bataguassu, MS	Sangue
Pon41	F			Ilha do Jazão	Sangue
Pon42	F			Fazenda Ariranha	Sangue
Pon44	F			Fazenda Ariranha	Sangue

Tabela 2. Amostras recebidas do Parque Estadual do Morro do Diabo, SP, para análises de genética molecular.

Nº DA AMOSTRA	SEXO	COLETOR	LOCAL	MATERIAL
bPon24*	M	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon25*	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon48	M	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon49*	M	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon50	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon51	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon52	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon53*	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue
bPon54	F	Laury Cullen	Morro do Diabo	Sangue

*animais melânicos

Tabela 3. Amostras da região do Parque Nacional de Iguaçu/PR incluídas nas análises de genética molecular.

Nº DA AMOSTRA	SEXO	COLETOR	LOCAL	MATERIAL
bPon01=Pon43	M	Projeto Carnívoros	Iguaçu/PR	Sangue
bPon02	?	Projeto Carnívoros	Iguaçu/PR	Sangue
bPon04	?	Projeto Felinos	Turvo/RS	Tecido: orelha
bPon12	?	Projeto Carnívoros	Iguazu Argentina	Sangue

Tabela 4. Número e tamanho dos alelos, heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He) para cada loco estudado.

Loco	Nº indivíduos	Nº alelos	Faixa alélica	HO	HE
FCA740	35	5	300-312	0,686	0,631
FCA723	35	6	220-258	0,571	0,622
FCA742	35	10	142-188	0,771	0,818
FCA441	35	4	157-173	0,571	0,603
FCA391	35	7	215-239	0,829	0,735
F146	35	4	170-179	0,629	0,625
F124	33	7	199-223	0,818	0,784
F98	33	3	189-195	0,758	0,615
F85	29	6	147-171	0,483	0,681
F53	32	9	176-204	0,906	0,815
F42	34	7	247-275	0,676	0,693

Apresentações em congressos

Resultados preliminares deste trabalho foram divulgados em duas oportunidades:

1. Status and conservation needs of the neotropical Felids International Conference and Workshop, 9-11 de junho de 2005, São Francisco de Paula, RS, Brasil.

- CONSERVATION GENETICS OF JAGUARS (*PANTHERA ONCA* : MAMMALIA, FELIDAE). (ANEXO 1 - Resumo);

2. I Congresso Sul-americano de Mastozoologia, 05-08 de outubro de 2006, Gramado, RS, Brasil.

- DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA DE POPULAÇÕES DE ONÇA-PINTADA (*PANTHERA ONCA*) NA MATA ATLÂNTICA DE INTERIOR. (ANEXO 2 - Resumo).

Publicações

Em 2001 Eduardo Eizirik e demais autores publicaram : Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguar (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae) na Molecular Ecology. Das amostras de 44 indivíduos de onça-pintada utilizadas, de diversos pontos de toda distribuição da espécie nas Américas, quatro indivíduos foram capturados no projeto em Porto Primavera. (ANEXO3).

ANEXO 1

CONSERVATION GENETICS OF JAGUARS (*PANTHERA ONCA* : MAMMALIA, FELIDAE)

Taiana Haag¹, Dênis A. Sana², Laury Cullen Jr.³, Ronaldo G. Morato², Peter G. Crawshaw Jr.⁴, Francisco M. Salzano¹, Eduardo Eizirik^{2,5}

¹Departamento de Genética - UFRGS, Av. Bento Gonçalves 9500, Prédio-43323, Porto Alegre, RS 91501-970, Brazil; ²Instituto Pró-Carnívoros, Brazil; ³Instituto de Pesquisas Ecológicas, Brazil; ⁴IBAMA, Brazil; ⁵Faculdade de Biociências - PUCRS, Av. Ipiranga 6681, Prédio-12C, Porto Alegre, RS 90619-900, Brazil.

E-mail: taiahaag@yahoo.com.br

Keywords: conservation, microsatellites, *Panthera onca*

Panthera onca is the largest Neotropical felid and is currently threatened mainly by habitat loss and human persecution. Since the mid-1900s it has been extirpated from broad portions of its original distribution and currently subsists in fragmented populations of variable size. In order to develop adequate conservation and management strategies it is important to incorporate a reliable understanding of its population structure, as well as a characterization of the distribution of its genetic diversity. Ecological studies investigating this species are ongoing in several areas, including the Brazilian Pantanal, Cerrado and Inland Atlantic Forest fragments. These studies are critical for the development of conservation plans for jaguars, and would benefit significantly from the input of complementary genetic analyses. Large-scale phylogeographic analyses have been performed for jaguars, however detailed studies of population genetics on a regional scale are still lacking. This study aims to fill this gap, by investigating the genetic diversity and patterns of geographic differentiation among Brazilian populations of jaguars. We will estimate genetic diversity and population structure using 10-15 microsatellite loci, selected from a panel of candidate markers designed for the domestic cat. So far, samples of 34 jaguars were obtained from fragmented areas of Inland Atlantic Forest (P. E. Turvo, P. N. Ivinhema, P. N. Iguaçu, P. E. Morro do Diabo and the region flooded by the Porto Primavera dam). DNA extraction was carried out using 15 of these samples, resulting in high-quality DNA that was used in a pilot study of the Porto Primavera population. Moderate levels of genetic diversity were estimated using six microsatellite loci and nine individuals. Ongoing tests include analyses of pooled jaguar DNA samples to assess variability at additional candidate loci. Recently, six new tetranucleotide loci were found to be polymorphic for the species, and will likely be included in this study.

DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA DE POPULAÇÕES DE ONÇA-PINTADA (*PANTHERA ONCA*) NA MATA ATLÂNTICA DE INTERIOR

Haag, T.¹; Santos, A. S.²; Sana, D. A.³; Cullen, L.⁴; Morato, R. G.³; Crawshaw, P. G.⁵; Salzano, F. M.⁶ & Eizirik, E.^{2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (taiahaag@yahoo.com.br); ²Faculdade de Biociências, PUCRS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil; ³Instituto Pró-Carnívoros, Atibaia, São Paulo, Brasil; ⁴Instituto de Pesquisas Ecológicas, Teodoro Sampaio, São Paulo, Brasil; ⁵IBAMA, Brasil; ⁶Departamento de Genética, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

A onça-pintada (*Panthera onca*) vem sendo ameaçada principalmente pela retaliação ou perseguição direta por pecuaristas, em conjunto com a acentuada perda e fragmentação de seus habitats remanescentes. Ocorre hoje em cerca de 50% da sua distribuição original sob forma de fragmentos populacionais de vários tamanhos. Para a implementação de medidas viáveis para a conservação e manejo desta espécie é importante obter informações a respeito de sua diversidade genética e estrutura populacional. No presente trabalho, 35 indivíduos de onças-pintadas provenientes de quatro remanescentes da Mata Atlântica de Interior (17 indivíduos da área de influência da Usina Hidrelétrica de Porto Primavera, SP/MS, seis do Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema/MS, nove do Parque Estadual Morro do Diabo/SP e três do Parque Nacional do Iguaçu/PR) foram estudados através de 12 locos de microssatélites, dos quais apenas um foi monomórfico. As análises estatísticas foram realizadas com os programas Genepop 3.2, Arlequin 3.01 e Cervus 2.0. O número de alelos por loco variou de três a 10, com uma média de 5,75. A heterozigotidade observada por loco variou de 0,483 a 0,906 com uma média de 0,641. Todos os locos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg e não houve evidência de desequilíbrio de ligação entre os locos após a correção de Bonferroni. Um teste de AMOVA foi realizado para investigar a diferenciação genética entre estas populações. Os resultados obtidos entre Ivinhema e Morro do Diabo ($F_{st} = 0,077$; $P = 0,020$) e deste com Porto Primavera ($F_{st} = 0,063$; $P = 0,0009$), foram moderados. Entre a população de Porto Primavera e Ivinhema ($F_{st} = 0,035$; $P = 0,030$) o índice de fixação foi baixo. A maior diferenciação ocorreu entre Iguaçu e Morro do Diabo ($F_{st} = 0,197$; $P = 0,003$) seguido de Iguaçu e Ivinhema ($F_{st} = 0,138$; $P = 0,012$). Estes resultados indicam a existência de uma diferenciação genética entre estes fragmentos, porém, entre a população de Porto Primavera e Iguaçu esta diferenciação ($F_{st} = 0,038$) não foi significativa ($P = 0,094$), sugerindo que o tamanho amostral pode estar influenciando esta análise.

Apoio: CAPES, CESP (Companhia Energética de São Paulo), Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ), Instituto Pró-Carnívoros, CENAP/IBAMA.

Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae)

EDUARDO EIZIRIK,*† JAE-HEUP KIM,* MARILYN MENOTTI-RAYMOND,*
PETER G. CRAWSHAW JR.,‡ STEPHEN J. O'BRIEN* and WARREN E. JOHNSON*

*Laboratory of Genomic Diversity, National Cancer Institute—FCRDC, Frederick, MD 21702–1201, USA, †Department of Biology, University of Maryland at College Park, USA, ‡CENAP/IBAMA, C.P. 295, Araçoiaba da Serra, SP 18190–000, Brazil

Abstract

The jaguar (*Panthera onca*), the largest felid in the American Continent, is currently threatened by habitat loss, fragmentation and human persecution. We have investigated the genetic diversity, population structure and demographic history of jaguars across their geographical range by analysing 715 base pairs of the mitochondrial DNA (mtDNA) control region and 29 microsatellite loci in ≈40 individuals sampled from Mexico to southern Brazil. Jaguars display low to moderate levels of mtDNA diversity and medium to high levels of microsatellite size variation, and show evidence of a recent demographic expansion. We estimate that extant jaguar mtDNA lineages arose 280 000–510 000 years ago (95% CI 137 000–830 000 years ago), a younger date than suggested by available fossil data. No strong geographical structure was observed, in contrast to previously proposed subspecific partitions. However, major geographical barriers such as the Amazon river and the Darien straits between northern South America and Central America appear to have restricted historical gene flow in this species, producing measurable genetic differentiation. Jaguars could be divided into four incompletely isolated phylogeographic groups, and further sampling may reveal a finer pattern of subdivision or isolation by distance on a regional level. Operational conservation units for this species can be defined on a biome or ecosystem scale, but should take into account the historical barriers to dispersal identified here. Conservation strategies for jaguars should aim to maintain high levels of gene flow over broad geographical areas, possibly through active management of disconnected populations on a regional scale.

Keywords: conservation, evolution, microsatellites, mitochondrial DNA, *Panthera onca*

Received 23 March 2000; revision received 16 August 2000; accepted 16 August 2000

Introduction

The jaguar (*Panthera onca*) is the largest Neotropical felid, measuring up to 2 m in total length and weighing up to 120 kg (Kitchener 1991). It is closely related to the other four big cats in the genus *Panthera* (Salles 1992; Johnson & O'Brien 1997), and is the only extant representative of this genus in the Americas. It appears to have diverged from a common ancestor with the other *Panthera* species at least 1.5 million years ago (Ma) and entered the American continent through Beringia in the early Pleistocene (Turner & Antón 1997). Jaguar fossils have been reported in North America as far north as Nebraska and Washington

(Seymour 1989; Turner & Antón 1997), the oldest definitive specimens dating from approximately 850 000 years ago (K. Seymour, personal communication).

In historical times jaguars ranged from the southern USA throughout Central and South America to the Argentinean Patagonia. Since the mid-1900s, however, they have been extirpated from broad portions of their original distribution and currently subsist in fragmented populations of variable size (Nowell & Jackson 1996). Jaguars occur in habitats ranging from dense rainforest to more open scrubland and seasonally flooded marshes, and prey mainly on large mammals such as peccary, deer, tapir, and capybara, and in some areas also on reptiles such as turtles and caiman (Oliveira 1994). Around human agricultural lands they often prey on livestock, which generates chronic conflicts with ranchers and widespread

Correspondence: Warren E. Johnson. Fax: (1301) 846 6327; E-mail: johnsonw@mail.ncifcrf.gov

persecution of this species in many regions. Although jaguars have been heavily hunted in the past as a trophy or for their pelts, their survival is currently threatened mostly by severe loss and fragmentation of habitat and direct persecution by ranchers (Nowell & Jackson 1996). The species as a whole is currently listed in Appendix I (endangered species) of the Convention on International Trade of Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), and is considered to be vulnerable by IUCN (Wozencraft 1993). Some remnant populations, however, are known to be small and isolated, and can be considered to be severely endangered (Medellín *et al.*, in press).

In order to devise adequate conservation and management strategies for an endangered species, it is important to incorporate a reliable understanding of its population structure and history, the existence of demographic partitions throughout its geographical range, and a characterization of the distribution of its genetic diversity (Avisé 1989;

O'Brien 1994). Jaguars are currently divided into eight subspecies based on classical studies of morphology (reviewed by Seymour 1989), but a recent revision of skull characters found no significant geographical differentiation in these traits (Larson 1997). However, there has been no comparable attempt to describe the geographical distribution of genetic diversity in jaguars, nor to use molecular markers to clarify its population structure and evolutionary history.

In the present paper, we report a study of genetic variation in jaguars sampled throughout their geographical range, applying mitochondrial DNA (mtDNA) control region sequences and microsatellite loci size variation to address issues of phylogeography and population history in this species. Results from phylogenetic and population genetic analyses of these data are used to draw inferences on past demographic processes, clarify taxonomic issues, and provide insight relevant for conservation efforts.

Table 1 Samples of *Panthera onca* analysed in the present study

ID	Geographic Origin	Institution/Contact
Pon16	Guatemala	ARCAS
Pon20	Chepo, Panama Prov., Panama	Summit Zoo
Pon21	Upala, Alajuela Prov., Costa Rica	Las Pumas
Pon22	Puerto Limon Prov., Costa Rica	Simon Bolivar Zoo
Pon23	Atlantico Sur Department, Nicaragua	Juigalpa Zoo
Pon24	Nicaragua	Radio Antenna, Managua
Pon25	Rio San Juan Department, Nicaragua	Managua Zoo
Pon26	Guatemala	Aurora Zoo
Pon28	Peru (Probably)	Mendoza Zoo
Pon29	Southern South America (Probably)	Montevideo Zoo
Pon30	Yucatan State, Mexico	Proyecto Balam
Pon31	San Luis Potosi State, Mexico	Leon Zoo
Pon34●, 35●	Mexico, unknown State	Cd. Victoria Zoo, Aragon Zoo
Pon37	Yucatan State, Mexico	Zoologico Centenario
Pon40*, 41, 42, 44	Mato Grosso do Sul State, SW Brazil	Proj. Carnívoros, CENAP/IBAMA
Pon43	P.N. Iguacu, Paraná State, S Brazil	Proj. Carnívoros, CENAP/IBAMA
Pon46	Goiás State, Brazil	Zoológico de Goiânia
Pon47	Pará State, N Brazil	Zoológico de Goiânia
Pon48●	Brazil, unknown State	Zoológico de Goiânia
Pon49, 50●	Chaco, Paraguay	Itaipu, Paraguay
Pon51, 52	Jalisco State, Mexico	Idaho State University
Pon54●	Amazonas State, Venezuela	Las Delicias
Pon56*, 58	Falcon State, Venezuela	Las Delicias
Pon59	Barinas State, Venezuela	Asociacion Ganaderas
Pon60	Bolivar State, Venezuela	Merida
Pon61	Venezuela, unknown State	Barquisimeto
Pon62●, 63	Bolivar State, Venezuela	Valencia Castellito
Pon64	Sta. Cruz Department, Bolivia	Zoologico de Santa Cruz
Pon65, 66	N. Bolivia	Zoologico de Santa Cruz
Pon67●	Venezuela, unknown State	PROFAUNA
Pon68	French Guiana	Prog. Faune Sauvage/J.C. Vié
Pon71	Brazil, unknown State	Zoológico de Paranaíba/R.N.Morais
Pon72	Brazil, unknown State	CENAP/IBAMA
Pon73	Brazil, unknown State	CENAP/IBAMA
Pon75	Sinaloa State, Mexico	Brian Miller

●, samples typed only for microsatellites; *, samples typed only for mtDNA.

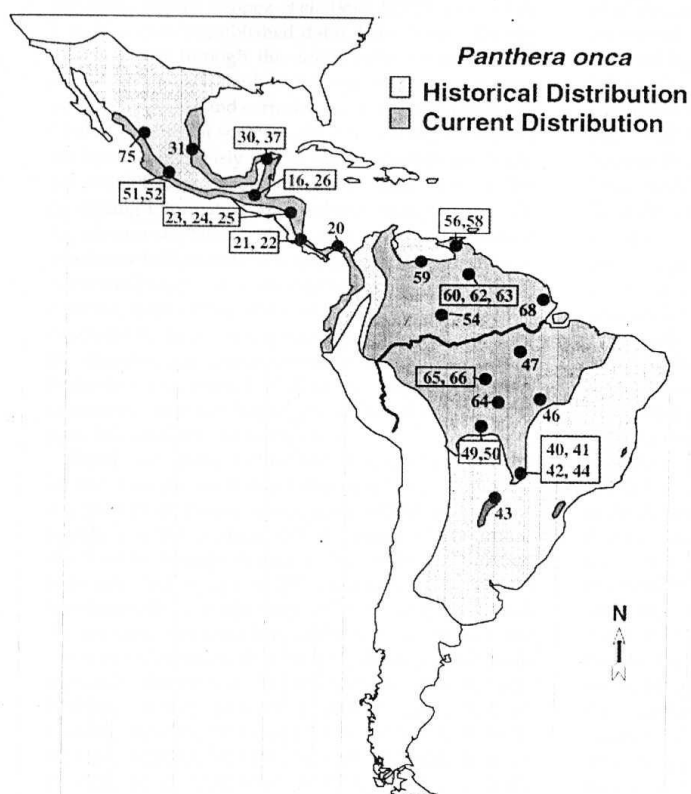


Fig. 1 Map showing historical and current geographical distribution of jaguars (modified from Oliveira 1994), approximate sample collection sites (black circles), and the location of the Amazon river. Numbers next to circles are sample identification labels of jaguar individuals (number after Pon in Table 1) from each area. Boxes indicate individuals from the same region. Only individuals with known regional origin are shown.

Materials and methods

Sample collection and laboratory procedures

Samples of 44 jaguar individuals were obtained from across most of the species' range (Table 1, Fig. 1). Whole blood preserved in a saturated salt solution (100 mM Tris, 100 mM EDTA, 2% SDS) was collected from wild-caught individuals captured in field ecology projects; blood (separated into plasma, red blood cell and leucocyte phases) and skin biopsies were obtained from animals kept in captive breeding Institutions, most of which had known geographical origin; and skin fragments were collected from a museum pelt (sample Pon67). DNA extraction was performed using standard techniques: salt precipitation (Montgomery & Sise 1990) was used for leucocyte pellets; phenol/chloroform (Sambrook *et al.* 1989) was used for whole blood and primary fibroblast cultures; and a silica-guanidium technique (Pääbo *et al.* 1988; Boom *et al.* 1990) was employed with the museum material.

The 5' portion (including the First Hypervariable Segment, HVS-I) and the central conserved portion of the mtDNA control region (the structure of the felid mtDNA control region is described elsewhere: Lopez *et al.* 1996; Eizirik *et al.* 1998; J.-H. Kim *et al.* unpublished) were amplified by polymerase chain reaction (PCR) (Saiki *et al.* 1985) from genomic DNA. For the 5' segment, human primers L15997 [modified to match the domestic cat reference sequence (Lopez *et al.* 1996)] and H16498 (Ward *et al.* 1991) were used, and for the central portion primers PAN-CCR-F (CTCAACTGTCCGAAAGTGCTT) and PAN-CCR-R (CCTGTGGAAGCAATAGGAATT) (J.-H. Kim *et al.* unpublished data) were employed. PCR reactions were performed using standard buffer conditions, 1.5 mM MgCl₂, and 33–36 cycles of the following steps: 94 °C for 45 s, 53 °C for 45 s, and 72 °C for 1 min, preceded by 3 min of initial denaturing, and followed by 10 min of final extension. PCR products were purified using CENTRICON-100 (Amicon), and cycle-sequenced from both ends, using either ABI FS Dye Primer kits (in which case PCR primers

had been engineered to contain M13 tails) or ABI Big Dye Terminator kits; resulting fragments were analysed in an ABI 373 A automated sequencer.

The 5' portion of the mtDNA control region of felids contains a rather long tandem repetitive series, which leads to size variation and heteroplasmy in several species, including jaguars (Lopez *et al.* 1996; Eizirik *et al.* 1998; J.-H. Kim *et al.* unpublished data). Due to the difficulty in sequencing through this array, only one strand was sequenced on each flank of the repeats. Sequences were visually inspected and corrected using SEQUENCHER (Gene Codes Co.); sites or segments from which sequence could not be unambiguously scored after three attempts (independent PCR and sequencing reactions) were treated as missing information and excluded from the analysis. Similar care was taken with the central segment, although in this case both strands were available for analysis. As part of the mtDNA of cats of the *Panthera* genus is included in a nuclear transposition (Johnson *et al.* 1996), our data were compared to reference sequences obtained from isolated mitochondrial and nuclear extracts (which exhibited several nucleotide differences; J.-H. Kim *et al.* unpublished data) to ascertain that the haplotypes included in this study were indeed of mitochondrial origin.

Thirty-five microsatellite loci developed originally for the domestic cat (Menotti-Raymond *et al.* 1999) were amplified by PCR from jaguar genomic DNA using fluorescently labelled primers and the standard conditions described by Menotti-Raymond *et al.* (1999). The products were analysed in an ABI 310 automated sequencer. To assess amplification efficiency and yield, and to establish the size range for each microsatellite in the jaguar, an initial run was performed with three individuals for each locus separately. Twenty-nine loci (FCA005, FCA008, FCA026, FCA043, FCA075, FCA077, FCA90, FCA091, FCA094, FCA096, FCA097, FCA098, FCA105, FCA126, FCA139, FCA161, FCA193, FCA201, FCA211, FCA220, FCA224, FCA229, FCA247, FCA290, FCA293, FCA310, FCA441, FCA453 and FCA678 — Menotti-Raymond *et al.* 1999) were selected for use in this study. PCR reactions were carried out for each locus separately, and products from 3 to 5 loci were diluted and pooled together based on yield, size range and fluorescent dye, and subsequently analysed in an ABI 310 or ABI 377 automated sequencer. Resulting patterns were scored and analysed using the ABI computer programs GENESCAN 2.1 and GENOTYPER 2.1.

Data analysis

mtDNA control region sequences were aligned using CLUSTALX (Thompson *et al.* 1997) and visually checked. Initial sequence comparisons and measures of variability were performed using MEGA (Kumar *et al.* 1993). Transition/transversion ratios and the α parameter of the gamma

distribution of rate variation among sites (method of Yang & Kumar 1996) were estimated using PAMP (included in the package PAML 2.0 — Yang 1999). Phylogenetic analyses of the identified sequences were performed using three approaches: (i) minimum evolution (ME) heuristic search as implemented in PAUP*4.0b2 (Swofford 1998), consisting of a distance-based (Tamura-Nei model with gamma correction) neighbour-joining (Saitou & Nei 1987) tree followed by branch-swapping; (ii) maximum parsimony (MP) using PAUP*, with a heuristic search and random addition of taxa; and (iii) maximum likelihood (ML) using PAUP* and PUZZLE 4.0 (Strimmer & Von Haeseler 1996), incorporating a gamma-corrected HKY (Hasegawa-Kishino-Yano) model with parameters estimated from the data set. Reliability of nodes defined by the phylogenetic trees was assessed using 100 bootstrap replications (Felsenstein 1985; Hillis & Bull 1993) in the ME and MP analyses, and with the quartet puzzling method in the PUZZLE ML analysis. Minimum-spanning networks (Excoffier & Smouse 1994) were constructed using MINSPNET (by L. Excoffier, <http://anthropologie.unige.ch/LGB/software/win/>) to depict phylogenetic, geographical, and potential ancestor-descendent relationships among the identified sequences.

Measures of population genetic parameters such as gene diversity (the probability that two randomly chosen mtDNA sequences are different in the sample) and nucleotide diversity (π per nucleotide site, i.e. the probability that two randomly chosen homologous nucleotides are different in the sample) (Nei 1987) were estimated from the mtDNA data set using ARLEQUIN 1.1 (Schneider *et al.* 1997) and SENDBS (by N. Takezaki, methods described in Nei & Jin 1989; Jin & Nei 1990; <http://www.bio.psu.edu/People/Faculty/Nei/Lab/Programs.html>). SENDBS was applied to derive measures of nucleotide diversity (π) and their confidence intervals (using a bootstrap approach), which were used to date the origin of extant mtDNA lineages of jaguars. Dating of the origin of jaguar mtDNA haplotypes was also performed using the linearized tree method with the program LINTREE (Takezaki *et al.* 1995), that incorporates two tests for the assumption of a molecular clock. Inference of past population expansion events was performed using mismatch distribution analyses (Rogers & Harpending 1992) as implemented in ARLEQUIN, and lineages-through-time plots (Nee *et al.* 1994) as implemented in END-EPI (Rambaut *et al.* 1997). To assess the extent of differentiation among populations an Analysis of Molecular Variance (AMOVA) (Excoffier *et al.* 1992) was used to estimate F_{ST} values, whose statistical significance was tested using 10 000 permutations as implemented in ARLEQUIN. We also applied the nested cladistic analysis proposed by Templeton *et al.* (1995) to make phylogeographic inferences with our mtDNA data set, using GEODIS 2.0 (Posada *et al.* 2000) and 10 000 permutations to test the significance of alternative historical scenarios.

Microsatellite data was analysed with **microSAT** (Minch 1997) for general estimates of diversity and calculation of several measures of genetic distance among individuals. Resulting distance matrices were used to construct neighbour-joining phylogenetic trees with the program **NEIGHBOR** [included in the package **PHYLIP** 3.5. (Felsenstein 1993)]. **ARLEQUIN** 1.1 was used to test for deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (using an exact test based on the procedure described by Guo & Thompson 1992) and to derive estimates of population subdivision (using F_{ST} and R_{ST} analogs; Weir & Cockerham 1984; Slatkin 1995; Michalakis & Excoffier 1996). The statistical significance of F_{ST} and R_{ST} values was tested using 10 000 permutations as implemented in **ARLEQUIN**. To evaluate if there is support from microsatellite data to the inference of a population expansion in jaguars, the shape of the distribution of allele frequencies in each locus was inspected, and two statistical approaches were applied: (i) the P_k distribution method of pairwise comparisons suggested by Shriver *et al.* (1997); and (ii) the interlocus g -test proposed by Reich & Goldstein (1998) and Goldstein *et al.* (1999). The former is based on the shape of the distribution of pairwise differences in repeat number among all alleles of each locus, averaged across loci. We have performed a weighted average in which loci with the most complete data sets are proportionally more represented. The second approach (g -test) compares the observed variance across loci of the variance in repeat scores to that expected in a population of constant size. We obtained the observed variance of the variance ($V_r[V_r]$) empirically, based on the output of **microSAT** (using the total variance in repeat number per locus as V_r). The expected value under constant population size ($V_e[V_r]$) was derived using the method suggested by Reich & Goldstein (1998) and Goldstein *et al.* (1999), with the formula $V_e[V_r] = 4/3 E[V_r]^2 + 1/6 E[V_r]$, in which the average variance across loci is substituted for $E[V_r]$.

Results

mtDNA sequences

mtDNA control region PCR products from 37 jaguar individuals (Table 1) were sequenced in three separate units. Fragment A was sequenced with primer L15997, and consisted of 183 bp at the 5' flank of the repetitive array. Fragment B was sequenced with primer H16498 and contained ≈ 240 bp at the 3' flank of the repetitive region, including the first (3' side) 80-bp repeat (all repeats but the first were excluded from the data set). Fragment C spanned the central conserved portion of the mtDNA control region, containing ≈ 390 bp sequenced for both strands using primers PAN-CCR-F and PAN-CCR-R, and

overlapping with ≈ 100 bp of fragment B. Fragment A sequences were concatenated with the contigs generated from fragments B and C, producing a complete aligned data set of 715 bp [positions 16315–00218 in the domestic cat reference sequence (Lopez *et al.* 1996)]. Sequences of the same control region segment from a lion (*Panthera leo*) and a leopard (*P. pardus*) were used as outgroups (J.-H. Kim *et al.* unpublished data). A 66-bp segment of the leopard sequence on the 5' flank of the repetitive array could not be aligned with the other sequences, and was removed from the analyses. The alignment of the jaguar sequences (GenBank accession nos AF244814–AF244887) is available at <http://lgd.nci.nih.gov> (as supplementary information linked to this paper).

Sequences from the 37 jaguar individuals comprised 22 different haplotypes defined by 33 variable sites (Table 2). The estimated transition:transversion ratios varied from 1:6 to 1:16 depending on the inclusion of outgroup sequences. Among-site rate variation was high ($\alpha = 0.0023$ – 0.3945 depending on inclusion of outgroups).

Moderate to high levels of gene diversity and considerably low nucleotide diversity were observed among jaguar individuals (Table 3). Sequence identity was observed only among individuals originating from the same or adjacent geographical regions, with the exception of one haplotype which was widespread in the northern portion of the range, from Venezuela to Mexico (Pon21, 25, 31, 51, 58, 59, 60, and 75, Figs 2 and 3). Phylogenetic analyses of jaguar mtDNA sequences did not strongly support the existence of any major phylogeographic partitions (Fig. 2). The overall pattern approximated a star-phylogeny, with generally short branches and little robust structure, a pattern reminiscent of a relatively recent population expansion (Lavery *et al.* 1996; Avise 2000). The only phylogeographic partition which received consistent support in all analyses was the grouping of southern South American sequences (all the sequences from Brazil and Paraguay, one sequence probably from Peru, and most from Bolivia) in two monophyletic groups (Fig. 2). The rooting of the trees using other *Panthera* genus species as outgroups suggested that the northern South American/Central American sequences were more basal than the two southern South American clusters.

The minimum-spanning network (Fig. 3) of the jaguar mtDNA sequences provided additional support for the two southern South American clusters, and for their independent connection to a more basal northern sequence. This diagram is also indicative of a relatively recent population expansion in the group of northern sequences, in which several localized lineages are connected by short branches to the most common, potentially ancestral, widespread haplotype. With the exception of the basal Pon37, all Mexican individuals either carried the widespread 'Pon21' haplotype or a sequence which had been recently derived (being one step away) from it.

Table 2 Mitochondrial DNA control region haplotypes identified for jaguars (*Panthera onca*) in this study. Nucleotide positions showing variation among jaguar haplotypes are depicted; numbers (vertical) refer to the aligned site in our 715 bp data set [which corresponds to positions 16315–00218 in the domestic cat reference sequence (Lopez *et al.* 1996)]. Nucleotides present at these sites in the outgroups (*Panthera leo* and *P. pardus*) are shown in the bottom. The geographical origin of jaguar individuals bearing each haplotype is also indicated

Individuals	Nucleotide positions					Geographic origin
	111112	222222334	4444445666	677		
	2356335783	4445689280	0135783137	801		
	4231497368	1582601077	9182658185	300		
Pon21, 25, 31, 51, 58, 59, 60, 75	ATTTAGCTCA	AAACTCTGTA	TATATGGTGA	TAT		V, CR, Nic, Mex
Pon16, 26, 30	C..			...		Guat, Mexico
Pon52				.G.		Mexico
Pon37		?....	?G...A..A.	...		Mexico
Pon20		G	A..A.	...		Panama
Pon22, 24	A....	C.	A.	...		CR, Nic
Pon23	A...T	G?TG?...C.	A.	...		Nicaragua
Pon56	T.			C..		Venezuela
Pon61		A....	G	...		Venezuela
Pon63	.CC?...T.	TC...	...G...A.	...		Venezuela
Pon68			G	...		Fr. Guiana
Pon29, 41, 42, 44	G...G.T.T.	.G.....	C?...A..A.	...		Brazil
Pon40, 46	G...G.T.T.	.G.....	A..A.	...		Brazil
Pon71	G...CG.T...	.G.?C....	...G...A.	...		Brazil
Pon73	G...G.T.T.	.G.....	...G...A.	...		Brazil
Pon72	...G...T.	A..	??...A..A.	...		Brazil
Pon28, 47	...G.....	A..	...GC.A..G	.G.		Peru (P), Bra
Pon43	...G.....	A..	...CGC.A..G	...		Brazil
Pon64	...G.....		...GC.A..G	.GC		Bolivia
Pon65	...?.....		C..	...		Bolivia
Pon66	...G.....	A..	.G.GC.A..G	.G.		Bolivia
Pon49	?...G.....	A..	...G?A..G	...		Paraguay
Ple181	.CC...T...	...C-CA..	...G.A....	...		
Ppa21	G.C.-----		.G.G.A.CA.	...		

Abbreviations: V, Venezuela; CR, Costa Rica; Nic, Nicaragua; Mex, Mexico; Guat, Guatemala; Fr. Guiana, French Guiana, Bra, Brazil; (P), Probable origin.

Table 3 Measures of mitochondrial DNA diversity observed in the two major phylogeographic groups of *Panthera onca* identified in this study, Southern and Northern (see text for definition), as well as separate estimates for Central America (C.A.) and Northern South America (N.S.A.), which are included in the Northern group. Estimates for the two separate subgroups in Central America (four-population scenario) are not provided due the small sample size available for each of them

	<i>n</i>	No. of haplotypes	No. of bp differences	% Pairwise divergence*	Gene diversity†	Nucleotide diversity (π)*†
Total	37	22	1–15	0.14–2.35	0.9399 ± 0.0262	0.00771 ± 0.00010
Southern	16	11	1–13	0.14–1.94	0.9333 ± 0.0477	0.00815 ± 0.00000
Northern	21	11	1–12	0.14–1.87	0.8476 ± 0.0697	0.00448 ± 0.00015
C.A.	14	7	1–8	0.14–1.25	0.8462 ± 0.0742	0.00411 ± 0.00024
N.S.A.	7	5	1–9	0.14–1.29	0.8571 ± 0.1371	0.00475 ± 0.00000

*Estimated using Kimura 2-parameter distances (Kimura 1980).

†Sites with any missing information were completely excluded.

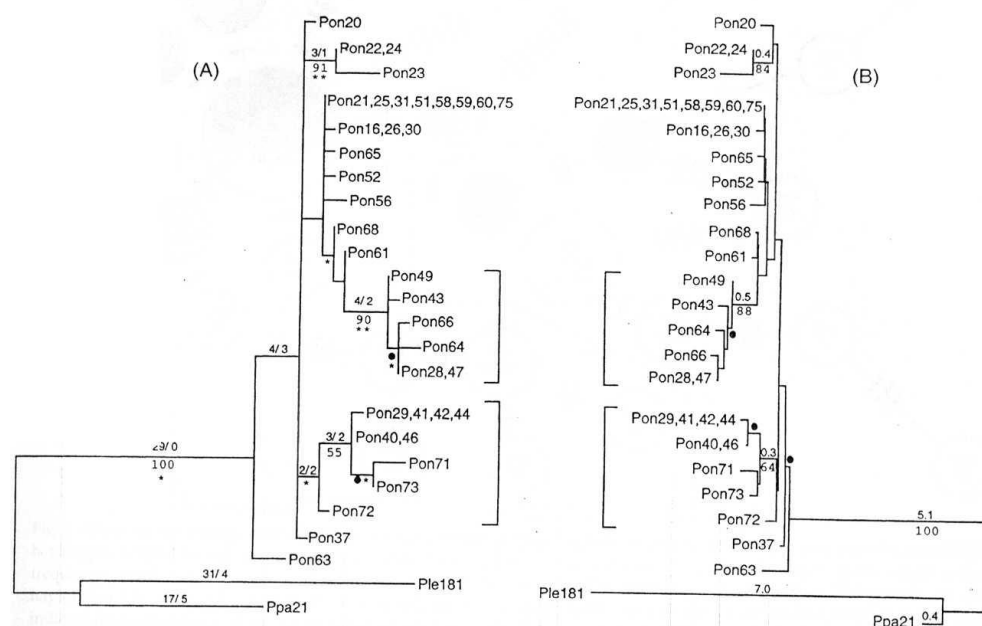


Fig. 2 Phylogenetic relationships among the jaguar mitochondrial DNA (mtDNA) sequences identified in this study, based on 715 bp of the mtDNA control region. Labels are individual identification numbers. The two southern clades are identified by brackets. (A) Maximum parsimony tree constructed with PAUP* using a heuristic search with 10 replicates of random taxon addition and the accelerated transformation option for character-state optimization; shown is the strict consensus of eight trees (length = 122, CI = 0.818). Values above selected branches indicate number of steps/number of homoplasies; values below branches represent support from 100 bootstrap replications (heuristic searches with random taxon-addition, constrained to generate a maximum of 1000 trees); black circles indicate other branches with bootstrap support $\geq 50\%$. Asterisks below branches indicate support from 1000 quartet puzzling steps in the maximum likelihood analysis with PUZZLE (* = support for branch $>50\%$; ** = support for branch $>80\%$). (B) Minimum evolution tree, constructed with PAUP* using Tamura–Nei distances corrected for the gamma distribution of rate variation among sites ($\alpha = 0.39$) and the neighbour-joining algorithm followed by a branch-swapping procedure. Values above selected branches indicate branch lengths as percentages; values below branches represent support from 100 bootstrap replications (heuristic searches constrained to a maximum of 500 trees); black circles indicate other branches with bootstrap support $\geq 50\%$.

The mismatch distribution of jaguar mtDNA haplotypes (Fig. 4A) was approximately unimodal and wave-like, which is compatible with a population bottleneck and/or expansion in the recent past (Rogers & Harpending 1992). The lineages-through-time plots (Fig. 4B) produced a clearly convex-shaped curve, particularly when restricted to the earliest haplotype coalescence events, which seems to be also consistent with an initial period of exponential population growth (Nee *et al.* 1994).

The measures of nucleotide diversity (π) and divergence (d_{xy}) (Nei 1987) were used to estimate a coalescence date for jaguar mtDNA sequences (derived as the average pairwise coalescent time of the sampled jaguar haplotypes) and its 95% confidence interval (CI: ± 2 SE). For this analysis, all sites which contained gaps or missing information in any haplotype, including outgroups, were excluded, and all estimates were derived from the

remaining 556 nucleotides. This minimized the effects of saturation in interspecific comparisons as some of the most variable sites were excluded. To estimate the substitution rate of this mtDNA segment, the average distance (d_{xy}) between the jaguar sequences and the outgroups (lion and leopard) was computed ($d_{xy} = 0.07499 \pm 0.002839$), based on a Kimura 2-parameter model of nucleotide substitution, corrected with a gamma distribution of rate variation among sites, with an α (shape) parameter derived specifically for this data set ($\alpha = 0.13$). The standard equation $d_{xy} = 2\mu T$ (where μ is the substitution rate and T is time; Nei 1987) and a conservative fossil record calibration (3 Ma) (Turner & Antón 1997) for the separation of jaguars from lions/leopards produced a substitution rate of 0.012498 per site per million years (Myr), or approximately 1.2%/Myr. Applying the same equation and this substitution rate to the overall

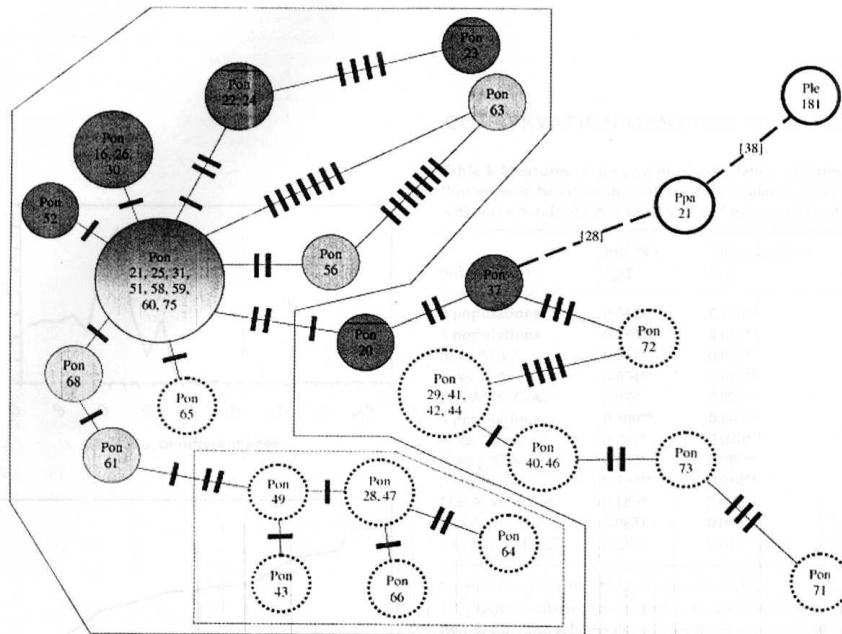


Fig. 3 Minimum-spanning network depicting phylogenetic and geographical relationships among jaguar mitochondrial DNA (mtDNA) haplotypes (circles) based on sequences of 715 bp of the control region. The area of the circle is roughly proportional to the haplotype frequency, and the length of connecting lines is roughly proportional to the corrected distance (Tamura–Nei gamma, $\alpha = 0.39$) between haplotypes. Use of the raw number of nucleotide differences among haplotypes produced a concordant result. Labels inside each circle indicate individual jaguars bearing each haplotype. Dark grey circles (with no upper horizontal line) are haplotypes occurring only in Mexico and Guatemala; dark grey circles with an upper horizontal line occurred only in southern Central America (see text for definition); light grey circles are those found in northern South America (Venezuela and French Guiana); the large graded grey circle is a widespread haplotype found from Mexico to Venezuela; white dotted circles are haplotypes found only in southern South America (Brazil, Bolivia, Paraguay and potentially Peru). Bars placed on connecting lines indicate the exact number of nucleotide differences between haplotypes. White circles bordered by heavy lines are outgroups; the number of nucleotide differences in their connecting lines (not drawn to scale) is indicated in brackets. Polygons demarcate selected clades for which significant results were observed in the nested clastic analyses (no outgroup was used in this approach). The dotted line internal polygon indicates a geographically restricted 3-step clade that showed a significantly small ($P < 0.001$) within-clade distance, and a significantly large ($P = 0.0001$) nested-clade distance (see Templeton 1998 for definition of statistics). The solid line polygon demarcates a 4-step clade that showed a significant value ($P < 0.0001$) for nonrandom geographical distribution of subclades in the exact contingency test implemented in GEODIS, and a significantly large ($P < 0.0001$) interior – tip distance. This 4-step clade also showed significantly small within-clade and nested-clade distances ($P < 0.05$) when compared to the whole network.

jaguar nucleotide diversity in this segment ($\pi = 0.00699 \pm 0.000733$) produced an estimated age of 279 645 years (95% CI = 220 990–338 290 years) for the coalescence of jaguar mtDNA haplotypes. If the 95% CI of d_{xy} is also considered when estimating the substitution rate (Bonatto & Salzano 1997), an upper bound of 366 000 years ago is obtained. Using the 95% CI for both π and the substitution rate, and a more recent calibration date for the separation of jaguars from lions/leopards (2 Myr), provided an overall lower bound of 136 956 years ago for the coalescence of jaguar mtDNA sequences. The molecular clock tests

implemented in LINTREE showed that the set of jaguar sequences used for the analysis above did not depart significantly from rate constancy ($P > 0.05$), but indicated that three haplotypes exhibited a marginally significant reduction in rate. Removal of haplotypes that failed either of the rate-constancy tests in separate analyses with each of the two outgroups produced a range of estimates of 407 905–510 401 years ago for the basal divergence of jaguar mtDNA lineages (applying the substitution rate derived above with the 3 Myr calibration). The 95% CI of these estimates ranged from 165 627 to 830 293 years ago.

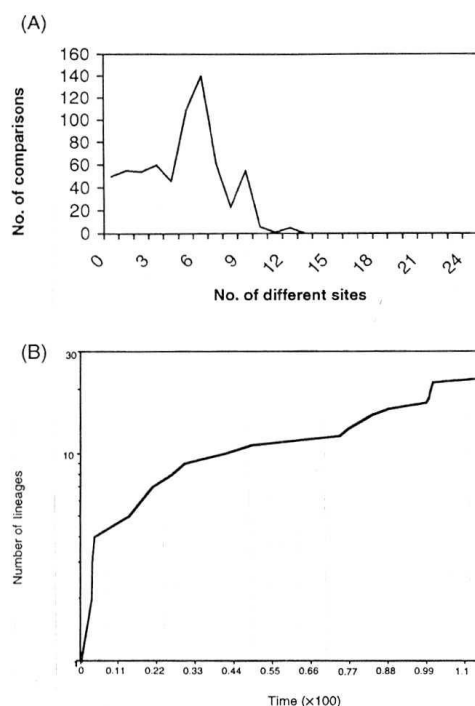


Fig. 4 (A) Mismatch distribution analysis of jaguar mitochondrial DNA (mtDNA) control region sequences. (B) Lineages-through-time plot based on a phylogeny of jaguar mtDNA haplotypes constructed from Kimura 2-parameter distances. The number of lineages is shown as a semi-logarithmic transform.

To investigate the extent of population differentiation in jaguars based on mtDNA haplotypes, we compared different scenarios of geographical subdivision. In the first one, individuals were divided into two broad geographical groups, which had been suggested by the topology of the mtDNA phylogeny. One group encompassed the northern part of the jaguar distribution (Northern group: Mexico, Central America, Venezuela and French Guiana), and the other contained the southern part (Southern group: Brazil, Bolivia, Paraguay, and two samples probably from Peru and southern South America, respectively). This subdivision scheme implied that the Southern group contained all sequences present in the two independent 'southern clades' (Figs 2 and 3), as well as the haplotype Pon65. In the second hypothesized scenario of geographical subdivision, we divided jaguar haplotypes into three groups. The Southern group was maintained, but the Northern group was

Table 4 Measures of geographical population differentiation in *Panthera onca*, based on an Analysis of Molecular Variance approach with mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite data

Subdivision†	mtDNA $F_{ST}‡$	Microsatellites $F_{ST}§$	$R_{ST}¶$
2 populations	0.342**	0.045**	0.154**
3 populations	0.295**	0.065**	0.171**
S. vs. N.S.A.	0.261*	0.020*	0.067*
S. vs. C.A.	0.354**	0.083**	0.237**
N.S.A. vs. C.A.	0.079	0.077**	0.140**
4 populations	0.300**	0.063**	0.183**
S. vs. N.S.A.	0.261*	0.020*	0.067*
S. vs. S.C.A.	0.333*	0.085**	0.223**
S. vs. M + G	0.358**	0.084**	0.266**
N.S.A. vs. S.C.A.	0.185*	0.075*	0.131*
N.S.A. vs. M + G	0.082	0.083**	0.185**
S.C.A. vs. M + G	0.257*	0.025	0.140*

*significant ($P < 0.05$); **significant ($P < 0.001$).

†Population subdivision scenarios are described in the text; the two-population scheme depicts south (S) vs. north (N) comparisons; the three-population scheme retains the southern group (S), and divides the northern group into northern South America (N.S.A.) and Central America (C.A.); the four-population scheme further divides C.A. into separate S.C.A. (southern Central America: Panama, Costa Rica, Nicaragua) and M + G (Mexico + Guatemala).

‡Calculated using Tamura-Nei distances (Tamura & Nei 1993).

§Calculated with the F_{ST} option (number of different alleles) in ARLEQUIN.

¶Calculated with the R_{ST} option (sum of squared size difference) in ARLEQUIN (Michalakis & Excoffier 1996).

separated into Central America (including Mexico) and northern South America, aiming to test the significance of the Darien straits in Panama as a historical barrier to gene flow in this species. Finally, a third scenario was tested in which Central America was subdivided into two separate groups (Mexico + Guatemala; Nicaragua + Costa Rica + Panama), producing a total of four groups. This pattern of geographical subdivision in Central America has been observed in a previous study of Neotropical felids (Eizirik *et al.* 1998). Other possible scenarios of population subdivision were considered, but could not be thoroughly assessed at the present time due to limitations in sample size for particular areas and lack of precision in the geographical origin of most individuals.

Using the two-group scheme, the estimated F_{ST} value was 0.342 ($P < 0.0001$) (Table 4). Using the three- and four-group scenarios, the F_{ST} estimates decreased to 0.295 and 0.300, respectively ($P < 0.0001$ for both). Pairwise F_{ST} estimates between the southern group (south of the Amazon River) and all northern groups remained significant, but the F_{ST} between northern South America and part of Central America was not ($P > 0.05$) (see Table 4). This is likely due

Table 5 Measures of diversity at 29 microsatellite loci in the two major phylogeographic groups of *Panthera onca* identified in this study, Southern and Northern (see text for definition), as well as separate estimates for Central America (C.A.) and Northern South America (N.S.A.), which are included in the Northern group. Estimates for the two separate subgroups in Central America (four-population scenario) are not provided due the small sample size available for each of them

	<i>n</i>	Average heterozygosity	Average No. of alleles	Average variance	Average allele size range	No. of private alleles
Total	42	0.739	8.310	6.946	9.862	—
Southern	17	0.724	6.655	6.520	8.034	43
Northern	25	0.695	6.828	6.352	8.690	48
C.A.	16	0.622	5.172	6.118	7.310	22
N.S.A.	9	0.690	5.138	6.514	6.931	12

to the predominance in Mexico and Guatemala of the widespread 'Pon21' haplotype and others closely related to it. These mtDNA results support the recognition of two main phylogeographic groups of jaguars, Southern and Northern (probably separated by the Amazon River), but also suggest a pattern of regional subdivision in the northern part of the range. F_{ST} estimates based on gamma-corrected distances with extremely low values of α (not shown) also supported a south–north division of jaguar haplotypes.

The nested cladistic analysis proposed by Templeton *et al.* (1995) was performed on the basis of the haplotype tree shown in Fig. 3, and considering four broad geographical areas (four-population scenario described above) as operational units. Significant association of clades and geography was observed only at the 3-step and 4-step levels of the nested analysis. In one of the two 4-step clades (demarcated within a solid-line polygon in Fig. 3) the exact contingency test significantly rejected ($P < 0.0001$) the null hypothesis of no geographical association. In this clade, significantly small ($P < 0.05$) within-clade distances (D_c) were detected for all nested tip 3-step subclades, and a significantly large ($P < 0.0001$) interior – tip D_c was also observed. One of these nested 3-step subclades (shown as a dotted-line polygon in Fig. 3) exhibited a significant reversal of small within-clade distance vs. large nested-clade distances (D_n), which led to the inference of long-distance colonization (from north to south) as the cause for the observed pattern (see Templeton 1998 for a review on the interpretation of this analysis). When the whole tree was examined (a dichotomous comparison of the indicated 4-step clade vs. the remaining jaguar haplotypes), the null hypothesis was again rejected ($P < 0.05$) in the exact contingency test, significantly small ($P < 0.05$) D_c and D_n were detected for the demarcated clade, and a significantly large D_n was detected for the second major clade. These results suggest a historical scenario of restricted gene flow with isolation by distance over broad geographical areas.

Microsatellite variation

Allele size variation at 29 microsatellite loci was recorded for 42 jaguars (Table 1), as well as for two lions and two leopards to be used as outgroups. Twenty-seven of these loci were dinucleotide repeats, and two (FCA441 and FCA453) were tetranucleotide repeats (Menotti-Raymond *et al.* 1999). One of the dinucleotide loci (FCA293) was monomorphic in our jaguar sample. The genotypes used in the present analyses are available at <http://lgd.nci.nih.gov> (as supplementary information linked to this paper). All loci, except FCA098, have been mapped in the domestic cat (Menotti-Raymond *et al.* 1999). Twenty-four were at least 15 cm apart implying independent allele assortment; two pairs of loci [FCA075, FCA096] and [FCA161, FCA224] were linked at distances of 9.0 cm and 4.0 cm, respectively. Deviations from Hardy–Weinberg (HW) equilibrium in the microsatellite loci were tested separately for three geographical populations: southern South America, northern South America, and Central America (see below). Five loci were out of HW equilibrium in the former, six in the second population, and nine in the latter ($\alpha = 0.05$). After applying the sequential Bonferroni correction (Rice 1989), only one locus in the southern group and another in Central America remained significantly out of HW equilibrium. Comparative analyses excluding the 14 loci that were out of equilibrium in any population (uncorrected assessment) indicated no significant change in the results relative to our complete data set, other than slight reductions in estimates of genetic diversity and geographical differentiation. We have, therefore, used our complete data set of 29 loci throughout the analyses presented here, except where otherwise stated.

Overall levels of genetic diversity were moderate to high, with an average expected heterozygosity of 0.739 (Table 5). The phylogenetic analysis of microsatellite variation across individuals showed no evidence of strong geographical structure, nor provided reliable support for any major partition, but suggested a clustering of individuals from

et al. 1998; this study). By contrast, the microsatellite variation observed in jaguars is comparable to, or higher than, that of other felid species analysed so far, including the domestic cat, for which these markers were originally designed (Driscoll 1998; Johnson *et al.* 1999; Menotti-Raymond *et al.* 1999; Culver *et al.* 2000). Taken together, these results suggest a younger age for jaguars as a species compared to other Neotropical felids, particularly ocelots and margays (Eizirik *et al.* 1998; Johnson *et al.* 1998, 1999).

The pattern observed in the jaguar intraspecific mtDNA phylogeny is consistent with a fairly recent population expansion, with little divergence among haplotypes (Table 3, Fig. 2) and insufficient time and/or isolation to generate regional differentiation. A similar inference can be made from the microsatellite phylogeny (Fig. 5). More individual variation is observed, but there is still no strong support for major geographical structure, suggesting a recent origin and high levels of gene flow in this species. The inference of a population expansion in the relatively recent past is supported by the mtDNA mismatch distribution analysis and the lineages-through-time-plot (Fig. 4). The mismatch distribution has a prominent major peak suggestive of a population expansion event (Rogers & Harpending 1992). However, the curve is not perfectly smooth, which could be due to our small sample size or to a more complex population history (e.g. subdivision) after the inferred demographic growth. The convex shape of the lineages-through-time plot is also consistent with exponential population growth (Nee *et al.* 1994). But it also portrays a more recent period when this pattern is less visible, indicating that the demographic expansion may have been restricted to an earlier phase.

The microsatellite allele frequency distributions are also concordant with the inference of an expansion due to the fact that more than half of the variable loci show a unimodal or approximately unimodal pattern. The absence of such indications in 10 of the loci may reflect our small sample size or alternatively derive from demographic processes occurring after the hypothesized expansion. One of the 10 loci (FCA026) has a bimodal distribution that can be largely explained by dividing the jaguar sample in north-south geographical groups (not shown).

The P_k distribution of our jaguar microsatellite data set is similar to the simulation results of Shriver *et al.* (1997) of either a population at equilibrium with an effective population size (N_e) around 1000, or a population resulting from a 1000-fold expansion ≈ 500 generations ago. Although no strict comparisons should be attempted, it is almost certain that the N_e of jaguars as a species was, until very recently, much larger than 1000. Therefore, this P_k pattern is suggestive of a population which has still not reached equilibrium after an expansion event. The inter-locus g -test result of less than one is also suggestive of population growth (Goldstein *et al.* 1999), although it seems

to fall short of significance based on the critical value suggested by Reich & Goldstein (1998) for a similar data set.

The estimated coalescence date of jaguar mtDNA haplotypes puts a lower bound on the origin of extant lineages around 137 000 years ago, which indicates that the inferred population expansion happened around or before this time. This estimation suggested an origin 280 000–510 000 years ago, with an overall upper bound of 830 000 years ago, still slightly younger than the confirmed fossil record of jaguars in north America (over 850 000 years old; Seymour 1989). The phylogenetic relationships of jaguar mtDNA sequences (particularly Fig. 3) suggest that most extant lineages arose in northern South America, and that the colonization of Central America and Mexico was largely a subsequent process. This suggests that the postulated extinction of jaguars from most of North America towards the end of the Pleistocene left little residual genetic diversity, and that subsequent re-colonization occurred by immigration of South American founders.

The occurrence of two independent clades of jaguar mtDNA sequences occurring south of the Amazon River does not seem to indicate geographically segregated clusters, at least with the samples currently available. Rather, these clades seem to result from a recent colonization process of southern South America in which at least two unrelated founder haplotypes were present. This view is supported by the observation that these two clades have similar estimates of nucleotide diversity (not shown), and therefore can be interpreted as being of a similar age.

Population structure

Analyses of the genetic structure of jaguar populations showed no evidence of major geographical partitions, old subdivision events, or complete barriers to historical gene flow. This is consistent with the findings of Larson (1997), that were based on skull morphology, and in contrast with the traditional division of jaguar subspecies (reviewed by Seymour 1989). We could recognize up to four incompletely isolated phylogeographic partitions: Mexico + Guatemala, southern Central America, northern South America (north of the Amazon river), and southern South America (south of the river). These geographical groups are rather recent, however, and none demonstrated complete reciprocal monophyly in relation to the others (Figs 2, 3 and 5). Furthermore, the mtDNA data did not support the separation of Central America from northern South America, because the F_{ST} value derived from this marker was maximized when only two major phylogeographic groups (Southern and Northern) were considered (Table 4). On the other hand, the microsatellite data indicated higher levels of differentiation between Central America and northern South America than between northern and southern South America. In most cases, estimated levels of

et al. 1998; this study). By contrast, the microsatellite variation observed in jaguars is comparable to, or higher than, that of other felid species analysed so far, including the domestic cat, for which these markers were originally designed (Driscoll 1998; Johnson *et al.* 1999; Menotti-Raymond *et al.* 1999; Culver *et al.* 2000). Taken together, these results suggest a younger age for jaguars as a species compared to other Neotropical felids, particularly ocelots and margays (Eizirik *et al.* 1998; Johnson *et al.* 1998, 1999).

The pattern observed in the jaguar intraspecific mtDNA phylogeny is consistent with a fairly recent population expansion, with little divergence among haplotypes (Table 3, Fig. 2) and insufficient time and/or isolation to generate regional differentiation. A similar inference can be made from the microsatellite phylogeny (Fig. 5). More individual variation is observed, but there is still no strong support for major geographical structure, suggesting a recent origin and high levels of gene flow in this species. The inference of a population expansion in the relatively recent past is supported by the mtDNA mismatch distribution analysis and the lineages-through-time-plot (Fig. 4). The mismatch distribution has a prominent major peak suggestive of a population expansion event (Rogers & Harpending 1992). However, the curve is not perfectly smooth, which could be due to our small sample size or to a more complex population history (e.g. subdivision) after the inferred demographic growth. The convex shape of the lineages-through-time plot is also consistent with exponential population growth (Nee *et al.* 1994). But it also portrays a more recent period when this pattern is less visible, indicating that the demographic expansion may have been restricted to an earlier phase.

The microsatellite allele frequency distributions are also concordant with the inference of an expansion due to the fact that more than half of the variable loci show a unimodal or approximately unimodal pattern. The absence of such indications in 10 of the loci may reflect our small sample size or alternatively derive from demographic processes occurring after the hypothesized expansion. One of the 10 loci (FCA026) has a bimodal distribution that can be largely explained by dividing the jaguar sample in north-south geographical groups (not shown).

The P_k distribution of our jaguar microsatellite data set is similar to the simulation results of Shriver *et al.* (1997) of either a population at equilibrium with an effective population size (N_e) around 1000, or a population resulting from a 1000-fold expansion ≈ 500 generations ago. Although no strict comparisons should be attempted, it is almost certain that the N_e of jaguars as a species was, until very recently, much larger than 1000. Therefore, this P_k pattern is suggestive of a population which has still not reached equilibrium after an expansion event. The inter-locus g -test result of less than one is also suggestive of population growth (Goldstein *et al.* 1999), although it seems

to fall short of significance based on the critical value suggested by Reich & Goldstein (1998) for a similar data set.

The estimated coalescence date of jaguar mtDNA haplotypes puts a lower bound on the origin of extant lineages around 137 000 years ago, which indicates that the inferred population expansion happened around or before this time. This estimation suggested an origin 280 000–510 000 years ago, with an overall upper bound of 830 000 years ago, still slightly younger than the confirmed fossil record of jaguars in north America (over 850 000 years old; Seymour 1989). The phylogenetic relationships of jaguar mtDNA sequences (particularly Fig. 3) suggest that most extant lineages arose in northern South America, and that the colonization of Central America and Mexico was largely a subsequent process. This suggests that the postulated extinction of jaguars from most of North America towards the end of the Pleistocene left little residual genetic diversity, and that subsequent re-colonization occurred by immigration of South American founders.

The occurrence of two independent clades of jaguar mtDNA sequences occurring south of the Amazon River does not seem to indicate geographically segregated clusters, at least with the samples currently available. Rather, these clades seem to result from a recent colonization process of southern South America in which at least two unrelated founder haplotypes were present. This view is supported by the observation that these two clades have similar estimates of nucleotide diversity (not shown), and therefore can be interpreted as being of a similar age.

Population structure

Analyses of the genetic structure of jaguar populations showed no evidence of major geographical partitions, old subdivision events, or complete barriers to historical gene flow. This is consistent with the findings of Larson (1997), that were based on skull morphology, and in contrast with the traditional division of jaguar subspecies (reviewed by Seymour 1989). We could recognize up to four incompletely isolated phylogeographic partitions: Mexico + Guatemala, southern Central America, northern South America (north of the Amazon river), and southern South America (south of the river). These geographical groups are rather recent, however, and none demonstrated complete reciprocal monophyly in relation to the others (Figs 2, 3 and 5). Furthermore, the mtDNA data did not support the separation of Central America from northern South America, because the F_{ST} value derived from this marker was maximized when only two major phylogeographic groups (Southern and Northern) were considered (Table 4). On the other hand, the microsatellite data indicated higher levels of differentiation between Central America and northern South America than between northern and southern South America. In most cases, estimated levels of

population differentiation were lower with the microsatellite data than with mtDNA (Table 4), which could be due to differences in the effective population size assessed by these two types of markers, and/or in the patterns of dispersal by male and female jaguars. Estimates of the number of migrants per generation (N_m) derived from mtDNA F_{ST} and microsatellite F_{ST} and R_{ST} values were high (around or above 1), but cannot be interpreted as a direct measure of current gene flow because they are also likely to be influenced by the recent common origin that these populations share.

The observed patterns can be interpreted as being caused by a combination of several demographic phenomena, starting with the recent expansion of the species as a whole, preventing sufficient time for extensive genetic differentiation. In addition, jaguars are able to disperse efficiently over broad areas and diverse habitats (Oliveira 1994), which is consistent with our inference of high levels of gene flow on wide geographical scales. The Amazon river may represent a historical barrier to gene flow predominantly in females, producing the only visible structure in the mtDNA phylogenies. However, the Amazon appears to have been less of an impediment for male dispersal, as inferred from our microsatellite data (Table 4, Fig. 5). This is in agreement with known aspects of the dispersal biology of felids in general, which indicate that females are largely philopatric and males are more likely to disperse longer distances (Kitchener 1991; Oliveira 1994). Our data also provide evidence for more recent barriers to gene flow between northern South America and southern Central America, and between Nicaragua and Guatemala, producing a measurable impact on the frequencies of microsatellite alleles and mtDNA haplotypes. Similar phylogeographic partitions that are likely caused by the same historical barriers have been observed for other Neotropical cat species, such as the puma (Culver *et al.* 2000), ocelot and margay (Eizirik *et al.* 1998). In addition to the inferred impact of localized historical barriers to gene flow, an overall pattern of isolation by distance over broad regions may also account for the observed patterns, and should be further investigated with additional sampling and refined geographical coverage.

Implications for jaguar conservation

These results have implications for the conservation and management of jaguars in the wild and in captivity. Genetic variability as estimated with mtDNA sequence diversity and microsatellite size variation are indicative of an outbred species with a somewhat recent origin, with no appreciable evidence for population- or species-level reduction in genetic variation.

The absence of deep geographical subdivision, the evidence for recent and incomplete isolation among major

regions, and the inference of historically high levels of gene flow over broad areas argue for a revision of the traditionally held view of jaguar subspecies, which are usually the basis for conservation and management plans. Our data provide no support for the existence of major geographical partitions defining old, extensively isolated groups which could be viewed as subspecies or Evolutionary Significant Units (Ryder 1986; Moritz 1994). The only evidence for statistically significant geographical differentiation seems to support reduced levels of gene flow across barriers such as the Amazon river and the Darien Straits, and isolation by distance on a broad scale. Although the isolation generated by these localized barriers does not seem to be complete, management options which increase migration across them (e.g. field translocations or captive breeding of Amazonian individuals from the two sides of the river) should be avoided or minimized to approximate natural historical processes. Our results are compatible with currently favoured strategies for jaguar conservation on a broad regional basis (Medellín *et al.*, in press), having large-scale biomes or ecosystems as operational management units. This strategy is advisable both in terms of maintaining jaguars as an important component of functional ecosystems and as a flagship species for overall regional conservation. This management approach is also appropriate considering the possibility of local adaptation to different habitats, which would probably not be detected by our molecular markers (Lynch 1996), particularly given the number of samples analysed.

Finally, because of continued reduction, fragmentation and isolation of remaining jaguar populations, it is important to consider the inference presented here for high historical levels of gene flow over broad areas. Our results support management alternatives that permit the maintenance of this original and likely adaptive population dynamics, possibly including active intervention to mediate gene flow among isolated remnant populations.

Acknowledgements

We would like to express our thanks to all the people and Institutions that helped collect samples of biological material from jaguars, including those mentioned in Table 1, as well as C.B. Indrusiak, J.K. F. Mähler Jr., D.A. Sana, R.G. Morato, R. Gasparini-Morato, Companhia Energética de São Paulo (CESP) and Associação Pró-Carnívoros. We would like to thank L.R.D. Utz, S.L. Bonatto, N. Takezaki, C.B. Indrusiak, D.A. Sana, L. Cullen, R.J. Sarno, C.A. Driscoll, O. Uphyrkina, G. Bar-Gal, V.A. David, S. Cevario and A. Snyder for support, helpful information, discussions, suggestions and technical assistance. We also thank three anonymous reviewers for helpful suggestions and comments on a previous version of this paper. The American Association of Zoological Parks and Aquariums (AZA) and the Purina Conservation Endowment Fund (CEF) provided financial support for this research. E. Eizirik is supported by a fellowship from CNPq, Brazil. Samples of biological material were collected with the appropriate permits, and

imported with a permit issued to the National Cancer Institute, National Institutes of Health (principal officer S.J. O'Brien).

References

- Avice JC (1989) Role of molecular genetics in recognition and conservation of endangered species. *Trends in Ecology and Evolution*, **4**, 279–281.
- Avice JC (2000) *Phylogeography: the History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Bonato SL, Salzano FM (1997) A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **94**, 1866–1871.
- Boom R, Sol CJA, Salimans MMM *et al.* (1990) Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, **28**, 495–503.
- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J *et al.* (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, **368**, 455–457.
- Culver M, Johnson WE, Pecon-Slatery J, O'Brien SJ (2000) Genomic ancestry of the American puma (*Puma concolor*). *Journal of Heredity*, **91**, 186–197.
- Driscoll CA (1998) *A characterization of microsatellite loci variation in Panthera leo, Acinonyx jubatus and Felis concolor*. MSc Thesis. Hood College, Frederick, MD, USA.
- Eizirik E, Bonatto SL, Johnson WE *et al.* (1998) Phylogeographic patterns and mitochondrial DNA control region evolution in two Neotropical cats (Mammalia, Felidae). *Journal of Molecular Evolution*, **47**, 613–624.
- Excoffier L, Smouse PE (1994) Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics*, **136**, 343–359.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479–491.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**, 783–791.
- Felsenstein J (1993) *PHYLIP 3.5*. Washington University, Seattle.
- Goldstein DB, Roemer GW, Smith DA *et al.* (1999) The use of microsatellite variation to infer population structure and demographic history in a natural model system. *Genetics*, **151**, 797–801.
- Guo S, Thompson E (1992) Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, **48**, 361–372.
- Hillis DM, Bull JJ (1993) An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, **42**, 182–192.
- Jin L, Nei M (1990) Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*, **7**, 82–102. (Published erratum appears in *Molecular Biology and Evolution*, **7**, 201).
- Johnson WE, Culver M, Iriarte A *et al.* (1998) Tracking the evolution of the elusive Andean Mountain Cat (*Oreailurus jacobita*) from mitochondrial DNA. *Journal of Heredity*, **89**, 227–232.
- Johnson WE, Dratch PA, Martenson JS, O'Brien SJ (1996) Resolution of recent radiations within three evolutionary lineages of Felidae using mitochondrial restriction fragment length polymorphism variation. *Journal of Mammalian Evolution*, **3**, 97–120.
- Johnson WE, O'Brien SJ (1997) Phylogenetic reconstruction of the Felidae using 16S rRNA and ND1/5 mitochondrial genes. *Journal of Molecular Evolution*, **44** (Suppl. 1), S98–S116.
- Johnson WE, Pecon-Slatery J, Eizirik E *et al.* (1999) Disparate phylogeographic patterns of mitochondrial DNA variation in four closely related South American small cat species. *Molecular Ecology*, **8**, S79–S94.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **16**, 111–120.
- Kitchener A (1991) *The Natural History of the Wild Cats*. Comstock/Cornell, Ithaca.
- Kumar S, Tamura K, Nei M (1993) *MEGA, Version 1.1*. The Pennsylvania State University, University Park, PA.
- Larson SE (1997) Taxonomic re-evaluation of the jaguar. *Zoo Biology*, **16**, 107–120.
- Lavery S, Moritz C, Fielder DR (1996) Genetic patterns suggest exponential population growth in a declining species. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 1106–1113.
- Lopez JV, Cevario S, O'Brien SJ (1996) Complete nucleotide sequences of the domestic cat (*Felis catus*) mitochondrial genome and a transposed mtDNA tandem repeat (Numt) in the nuclear genome. *Genomics*, **33**, 229–246.
- Lynch M (1996) A quantitative-genetic perspective in conservation issues. In: *Conservation Genetics: Case Histories from Nature* (eds Avice JC, Hamrick JL), pp. 471–501. Chapman & Hall, New York.
- Medellín RA, Chetkiewicz C, Rabinowitz A *et al.* (eds) (2001) *Jaguars in the new millennium: A status assessment, priority detection, and recommendations for the conservation of jaguars in the Americas*. Universidad Nacional Autónoma de México/Wildlife Conservation Society, Mexico D. F. (in press).
- Menotti-Raymond M, David VA, Lyons LA *et al.* (1999) A genetic linkage map of microsatellites in the domestic cat (*Felis catus*). *Genomics*, **57**, 9–23.
- Michalakis Y, Excoffier L (1996) A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference to microsatellite loci. *Genetics*, **142**, 1061–1064.
- Minch E (1997) *MICROSAT 1.5d*. Stanford University, <http://lotka.stanford.edu/microsat.html>.
- Montgomery GW, Sise JA (1990) Extraction of DNA from sheep white blood cells. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **33**, 437–441.
- Moritz C (1994) Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373–375.
- Nee S, May RM, Harvey PH (1994) The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society (London) B*, **344**, 305–311.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei M, Jin L (1989) Variances of the average numbers of nucleotide substitutions within and between populations. *Molecular Biology and Evolution*, **6**, 290–300.
- Nowell K, Jackson P (1996) *Wild Cats: status survey and conservation action plan*. IUCN/SSC Cat Specialist Group, Gland, Switzerland.
- O'Brien SJ (1994) A role for molecular genetics in biological conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **91**, 5748–5755.
- Oliveira TG (1994) *Neotropical cats: ecology and conservation*. EDUFMA, São Luís, Brazil.
- Pääbo S, Gifford JA, Wilson AC (1988) Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year-old brain. *Nucleic Acids Research*, **16**, 1245–1255.
- Posada D, Crandall KA, Templeton AR (2000) GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology*, **9**, 487–488.

- Rambaut A, Harvey PH, Nee S (1997) End-Epi: An application for inferring phylogenetic and population dynamical processes from molecular sequences. *Computer Applications in the Biosciences*, **13**, 303–306.
- Reich DE, Goldstein DB (1998) Genetic evidence for a Paleolithic human population exansion in Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **95**, 8119–8123.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, **43**, 223–225.
- Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, **9**, 552–569.
- Ryder OA (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**, 9–10.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F *et al.* (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, **230**, 1350–1354.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, 406–425.
- Salles LO (1992) Felid phylogenetics: extant taxa and skull morphology (Felidae, Aeluroidea). *American Museum Novitates*, **3047**, 1–67.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Schneider S, Kueffer JM, Roessli D, Excoffier L (1997) *ARLEQUIN, Version 1.1*. University of Geneva, Switzerland. (<http://lgb.unige.ch/arlequin>).
- Seymour KL (1989) *Panthera onca*. *Mammalian Species*, **340**, 1–9.
- Shriver MD, Jin L, Ferrel RE, Deka R (1997) Microsatellite data support an early population expansion in Africa. *Genome Research*, **7**, 586–591.
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**, 457–462.
- Strimmer K, Von Haeseler A (1996) Quartet puzzling: a quartet maximum likelihood method for reconstructing tree topologies. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 964–969.
- Swofford DL (1998) *PAML* Phylogenetic Analysis Using Parsimony and Other Methods, Computer Program*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Takezaki N, Rzhetsky A, Nei M (1995) Phylogenetic test of the molecular clock and linearized trees. *Molecular Biology and Evolution*, **12**, 823–833.
- Tamura K, Nei M (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, **10**, 512–526.
- Templeton AR (1998) Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**, 381–397.
- Templeton AR, Routman E, Phillips CA (1995) Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, **140**, 767–782.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, **25**, 4876–4882.
- Turner A, Antón M (1997) *The Big Cats and Their Fossil Relatives*. Columbia University Press, New York.
- Ward RH, Frazier BL, Dew-Jager K, Pääbo S (1991) Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **88**, 8720–8724.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358–1370.
- Wozencraft WC (1993) Felidae. In: *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference* 2nd edn. (eds Wilson DE, Reeder DM), pp. 288–300. Smithsonian Institution Press/American Society of Mammalogists, Washington.
- Yang Z (1999) *Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood (PAML), Version 2.0*. University College London, London.
- Yang Z, Kumar S (1996) Approximate methods for estimating the patterns of nucleotide substitution and the variation of substitution rates among sites. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 650–659.

This study was part of a broad effort to characterize the genetic diversity, phylogenetic relationships and phylogeographic patterns of Neotropical felid species using molecular markers. Parallel studies on these species were performed addressing aspects of their reproductive physiology and exposure to infectious disease. The authors and several of their colleagues at the Laboratory of Genomic Diversity (LGD), National Cancer Institute, are studying the genetics of felids and other mammals to address issues such as phylogenetic reconstruction, genome evolution, hereditary and infectious disease, origin of phenotypic variation, and conservation of endangered species. Eduardo Eizirik is currently developing his Ph.D. at the LGD and the University of Maryland at College Park, on the genetics of coat colour variation in felids, which relates to this study in the context of the evolution of melanism in jaguar populations.

CAP. VIII

Subprojeto II

**Estruturação e adequação do Banco de
Amostras Biológicas**

**Ronaldo Gonçalves Morato, PhD
Médico Veterinário**

**Instituto para a Conservação dos Carnívoros
Neotropicais –
Pró-Carnívoros**

PARTE II – Estruturação e adequação do Banco de Amostras Biológicas

**Ronaldo Gonçalves Morato, PhD – Médico Veterinário
Instituto para a Conservação dos Carnívoros Neotropicais –
Pró-Carnívoros**

Introdução

O crescimento desenfreado e os hábitos consumistas dos países desenvolvidos estão gerando um aumento na demanda por recursos naturais renováveis e não renováveis. De maneira similar, guerras, exploração dos recursos naturais e expansão das atividades agropecuárias nos países em desenvolvimento têm aumentado a destruição e fragmentação ambiental. Como consequência, a taxa de extinção de animais e plantas é alarmante e, estudos têm mostrado que cerca de um quarto de todas as espécies de mamíferos estão ameaçadas de extinção (Entwistle e Dunstone, 2000).

No Brasil, 68 espécies de mamíferos estão na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção (Machado *et al.*, 2005), incluindo dez espécies da Ordem Carnívora. Entretanto, a falta de conhecimento acerca da distribuição, história natural e ecologia da maioria das espécies de mamíferos da Ordem Carnívora têm impedido a formulação mais acurada desta lista. Adicionalmente, esta lista não considera as diferentes situações para as espécies em diferentes biomas, podendo então mascarar situações críticas em nível local. A validade deste método é ainda comprometida pela falta da integração entre os países Sul-americanos. Muitas espécies de mamíferos da Ordem Carnívora são comuns a vários países de nosso continente e, variações nos métodos de manejo e fiscalização de um país podem afetar populações de países vizinhos.

Estratégias para a conservação de mamíferos da Ordem Carnívora têm sido extensamente debatidas (ver Gittleman *et al.*, 2001). Entretanto, pouca atenção tem sido dispensada para se entender tais aspectos na conservação das espécies neotropicais. Possivelmente, as estratégias adotadas para mamíferos da Ordem Carnívora em outras regiões do globo podem fornecer subsídios para uma ação concentrada nos neotrópicos, obviamente considerando-se as particularidades locais. Por exemplo, programas de criação em cativeiro, bancos de amostras biológicas e técnicas de reprodução assistida têm sido consideradas importantes ferramentas para a conservação (Wildt, 1989; Ballou e Foose, 1996; Wildt e Wemmer, 1999), e é possível que sejam aplicadas com sucesso nas espécies de carnívoros neotropicais (Morato e Barnabe, 2002).

Especificamente, as populações em cativeiro podem atuar como fonte de pesquisas permitindo o aumento do conhecimento sobre as espécies de interesse; atuam como um seguro contra eventos de extinção de larga escala ou devastação de populações em vida livre; e atuam como embaixadores para as espécies de interesse por meio de atividades educacionais (Wildt, 2001). Por outro lado, Bancos de Amostras Biológicas e Técnicas de Reprodução Assistida podem contribuir para a preservação de informação genética e posterior retorno desta à natureza, respectivamente. Deve-se levar em consideração que há pouco conhecimento sobre aspectos da criopreservação de gametas e fisiologia reprodutiva de carnívoros neotropicais o que tem limitado a utilização destas ferramentas conservacionistas.

Sendo assim, os objetivos deste etapa foram: 1) Estabelecer Banco de Amostras Biológicas; 2) Avaliar diferentes protocolos de criopreservação de sêmen de onça pintada; 3) Avaliar fatores que influenciam reprodução em onça pintada.

Estabelecimento do Banco de Amostras Biológicas

Segundo Holt (2001), os bancos de amostras biológicas podem ser estabelecidos com dois objetivos: 1) desenvolver uma coleção de tecidos somáticos, linhas celulares, DNA e soro de uma variedade de espécies, primariamente para estudos taxonômicos, demográficos e médicos, e; 2) desenvolver um coleção de gametas e embriões que serão utilizados por meio de reprodução assistida. Neste sentido, o Instituto Pró-Carnívoros contribuiu para a criação e efetivação do Banco de Amostras Biológicas do Centro Nacional de Pesquisa para a Conservação dos Predadores Naturais (CENAP-IBAMA), o qual foi regulamentado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético através da resolução 22/03. Desde então, as amostras obtidas nos trabalhos de campo pelo Instituto Pró-Carnívoros são tombadas no banco do CENAP-IBAMA (ver Anexo I).

As amostras deverão ser utilizadas em diversos projetos de pesquisa, seguindo as normas estabelecidas pelo comitê gestor do banco do CENAP-IBAMA, assim como, parte delas deve ser armazenada por tempo indeterminado.

Criopreservação de sêmen

A avaliação do estado reprodutivo é o primeiro passo na realização de um programa de manejo com finalidade de reprodução, auxiliando, inclusive, na seleção de indivíduos que terão amostras de sêmen criopreservadas. Sendo assim, dezesseis onças pintadas (*Panthera onca*), machos, adultos, mantidos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo (SP, n=2), Parque Zoológico de Sorocaba (SO, n=1), Parque Zoológico de Ilha Solteira (IS, n=2), Fundação Rio-Zoo (RJ, n=2), Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (BH, n=3) e Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (RS, n=6) foram submetidos ao exame andrológico para avaliação do estado reprodutivo. Obteve-se volume ejaculado médio ($\pm$ SEM) de $13,7 \pm 1,7$ ml, com motilidade média de $72,6 \pm 1,8\%$ e motilidade retilínea progressiva de $3,3 \pm 0,1$. A concentração espermática foi $6,6 \pm 2,4 \times 10^6$ espermatozoides/ml, sendo que a porcentagem média de espermatozoides morfollogicamente normais foi $54,0 \pm 3,3\%$. O volume testicular médio ($\pm$ SEM) foi $36,4 \pm 2,2$ cm³. Quatro animais apresentaram azospermia (SP, n=1; BH, n=2; RS, n=1) e um animal (RS) apresentou criptorquia. Neste último caso, o índice de espermatozoides morfollogicamente anormais foi de 86%. O volume testicular durante o outono foi significativamente maior ($p < 0,05$) que na primavera e verão, e o volume testicular durante o verão foi significativamente maior ($p < 0,05$) que na primavera. Durante o inverno o volume testicular médio não apresentou variação significativa ($p > 0,05$) com as demais estações. Desta forma, concluímos que a eletroejaculação pode ser realizada em qualquer período do ano sem comprometimento da qualidade espermática e que estudos devem ser conduzidos para que possamos detectar as possíveis causas do elevado índice de espermatozoides anormais.

A partir destes resultados, iniciamos testes de criopreservação de sêmen. A criopreservação de sêmen felino em condições de laboratório tem sido descrita. No entanto, para que possamos contribuir efetivamente em programas de manejo reprodutivo que incluam o estabelecimento de fluxo gênico entre diferentes populações, métodos de criopreservação de sêmen felino em condições de vida livre devem ser estabelecidos. Sendo assim, conduzimos um estudo que objetivou avaliar: 1) efeitos dos diferentes meios de preservação de sêmen sobre a qualidade espermática; 2) efeito da criopreservação sobre a qualidade espermática e; 3) remoção do plasma seminal sobre a sobrevivência da célula espermática após descongelação.

Amostras de sêmen foram obtidas de onça pintada seguindo protocolo padrão. Após a coleta, as amostras foram divididas em 5 alíquotas: 1) tratamento controle: diluída imediatamente 1:1 em meio Ham F10 + 5% de soro fetal bovino e 25 mM HEPES (H-HF10) e centrifugado (200 g/ 8 min). O sobrenadante foi removido e o *pellet* remanescente foi resuspendido em meio TEST com gema de ovo e 0% glicerol para uma concentração de 50-100 x 10⁶ espermatozóides/mL, e então resfriada (4°C/3h); 2) diluído 1:1 em H-HF10 e incubado em temperatura ambiente/ 3h antes da centrifugação e posterior tratamento, idêntico ao controle; 3) diluído 1:1 em meio TEST com gema de ovo e 0% glicerol e tratado conforme descrito em 2; 4) diluído 1:1 em H-HF10, resfriado (4°C/3h), centrifugado e resuspendido em meio TEST com gema de ovo e 0% glicerol para uma concentração de 50-100 x 10⁶ espermatozóides/ mL; 5) diluído 1:1 em meio TEST com gema de ovo e 0% glicerol, resfriado (4°C/3h), centrifugado e resuspendido em meio TEST com gema de ovo e 0% glicerol para uma concentração de 50-100 x 10⁶ espermatozóides/ mL. Após o resfriamento das alíquotas, um volume igual de TEST com gema de ovo e 8% glicerol foi adicionado. Em seguida, as alíquotas foram envasadas em palhetas de 0,25 mL e congeladas sob vapor de nitrogênio líquido. Após uma semana, as palhetas foram descongeladas em banho-maria (37°C/30s) e o sêmen foi avaliado quanto a motilidade (%), motilidade progressiva (0-5) e integridade acrossomal (%).

A motilidade ($55.0 \pm 24.3\%$), a motilidade progressiva (2.75 ± 0.7) e integridade acrossomal ($80.7 \pm 4.7\%$ normal) do sêmen fresco reduziram significativamente ($P < 0.05$) após criopreservação (motilidade: $15.0 \pm 2.9\%$; motilidade progressiva: 2.0 ± 0.0 ; integridade acrossomal: $60.8 \pm 3.8\%$ normal). A motilidade e a motilidade progressiva reduziram a 0% após o tratamento 2. Não houve diferença ($P > 0.05$) na sobrevivência espermática pós-descongelação entre os outros tratamentos, embora a motilidade espermática ($7.5 \pm 4.8\%$) e motilidade progressiva (1.1 ± 0.7) no tratamento 4 terem sido menores que a apresentada no grupo controle. Os resultados demonstraram que H-HF10 não é adequado para estocagem, em longo prazo, de sêmen felino, particularmente em temperatura ambiente. A remoção do plasma seminal não parece afetar a sobrevivência espermática após a descongelação, desde que o meio TEST com gema de ovo seja usado como diluente. Finalmente, a diluição e armazenamento de sêmen em meio TEST com gema de ovo a 25°C ou 4°C é mais apropriado para a criopreservação de sêmen felino.

A etapa final deste processo consistiu em verificar os efeitos sobre a sobrevivência da célula espermática, de três diferentes métodos de criopreservação. Para tanto, as amostras foram preparadas como descrito acima, no protocolo 5 e criopreservadas segundo os seguintes protocolos: 1) método 2 *step*: 60 segundos sob vapor de nitrogênio a 5 cm do nitrogênio líquido, 60 segundos sob vapor de nitrogênio a 2 cm do nitrogênio líquido e depósito direto em nitrogênio líquido; 2) método 1 *step* 120 segundos sob vapor de nitrogênio a 5 cm do nitrogênio líquido e depósito direto em nitrogênio líquido; 3) depósito direto em *dry shipper*, equipamento leve e de fácil transporte. Após a descongelação as amostras foram avaliadas quanto à integridade acrossomal e não observamos diferença significativa entre os métodos ($P>0.05$) (Figura 1). Desta forma, podemos concluir que o *dry shipper* pode ser utilizado para a conservação de células espermáticas, possibilitando o emprego da criopreservação, de maneira mais prática e barata, em condições de campo.

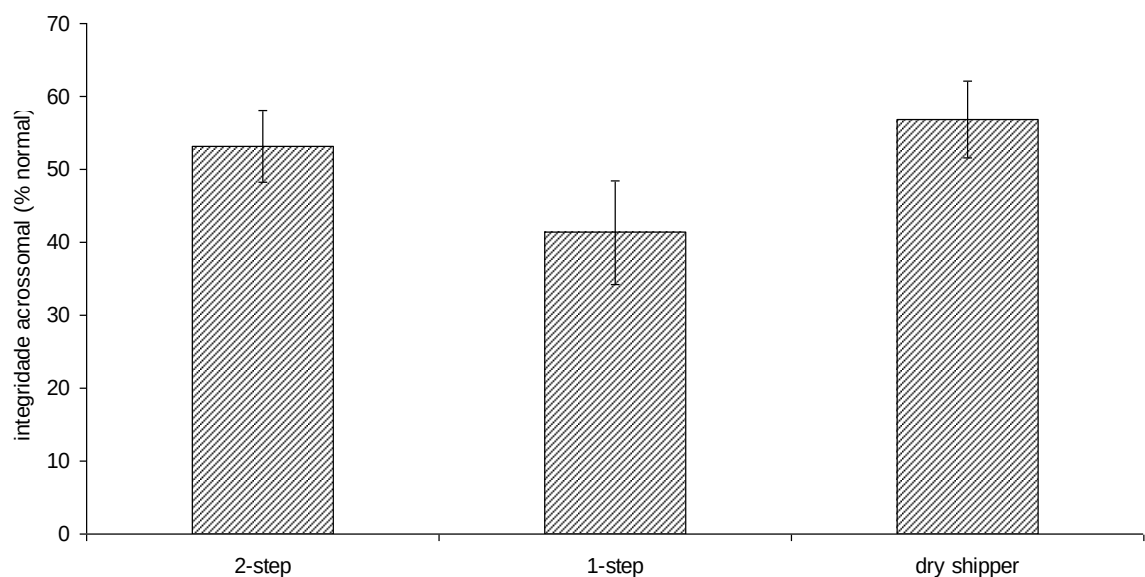
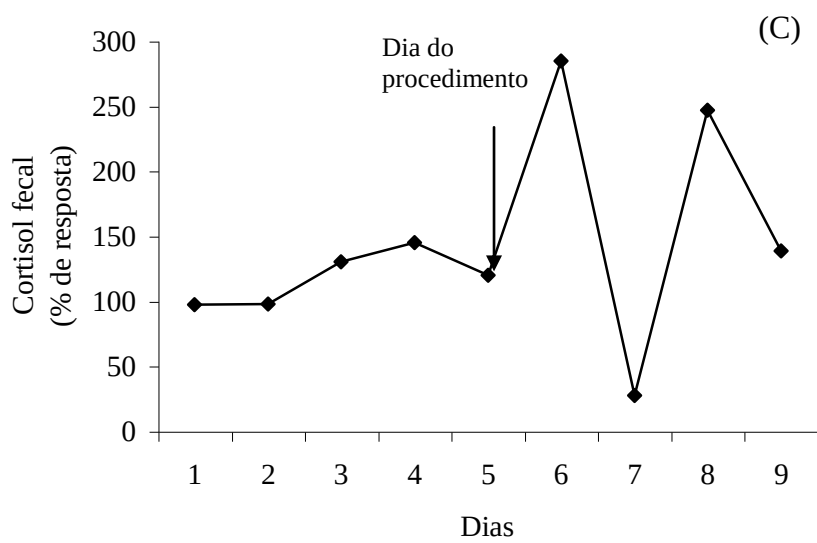
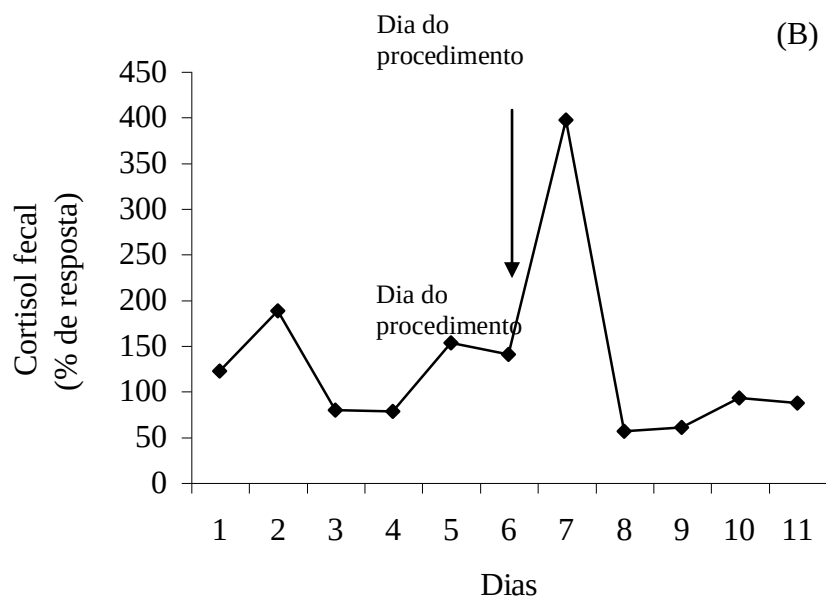
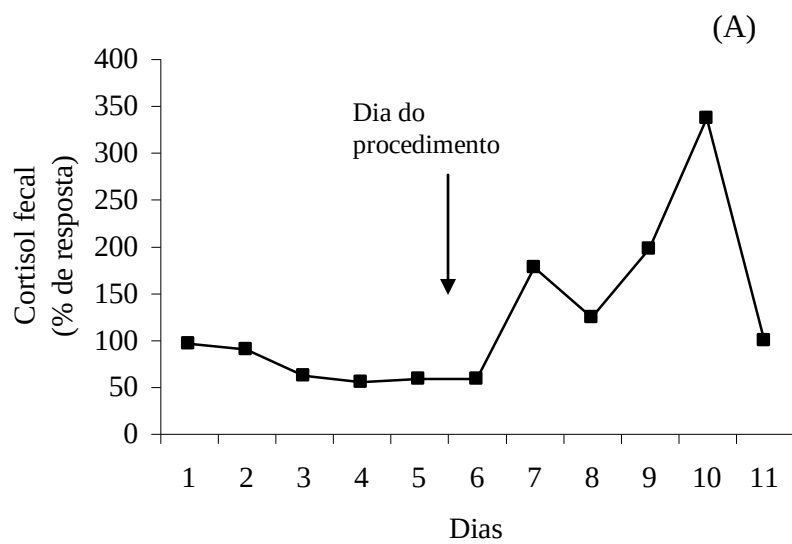


Figura 1. Integridade acrossomal pós-descongelção de sêmen de onça pintada utilizando três diferentes métodos.

Avaliação de perfil de hormônios esteróides extraídos das fezes de onça pintada

Hormônios da adrenal

Neste estudo, avaliamos o potencial de metabólitos de corticóides e androgênios fecais para monitorar a atividade adrenal e testicular em onça pintada. Três machos, adultos, mantidos em cativeiro foram contidos quimicamente (Zoletil 50®, 10 mg/Kg) e submetidos a eletroejaculação duas (n=2) ou uma (n=1) vez com dois meses de intervalo. Amostras de fezes foram obtidas diariamente cinco dias antes a cinco dias depois do procedimento de contenção e coleta de sêmen. As amostras foram identificadas e armazenadas em freezer -20°C até o momento da análise. Metabólitos de hormônios corticóides e androgênicos foram extraídos (Morato *et al.*, 2004) e submetidos ao radioimunoensaio de fase sólida para detecção de variações dos metabólitos hormonais antes e depois do procedimento de contenção e eletroejaculação. Em quatro ocasiões, os níveis de metabólitos de corticóides estavam acima da linha basal (100 a 350%) (Figura 2) na primeira amostra coletada após a contenção e eletroejaculação. Em uma ocasião, não foi detectada variação. A média $\pm$ SEM da concentração de androgênios fecais não variou após contenção e eletroejaculação (antes: 131.1 ± 26.7 ng/g de fezes secas; depois: 213.7 ± 43.6 ng/g de fezes secas) (Figura 3). O estudo demonstra que a análise de hormônios extraídos das fezes pode ser uma ferramenta útil na avaliação de bem estar, comportamento, fisiologia reprodutiva e patologia reprodutiva. No entanto, a relação entre atividade adrenal e condição reprodutiva, em onça pintada, ainda deve ser investigada.



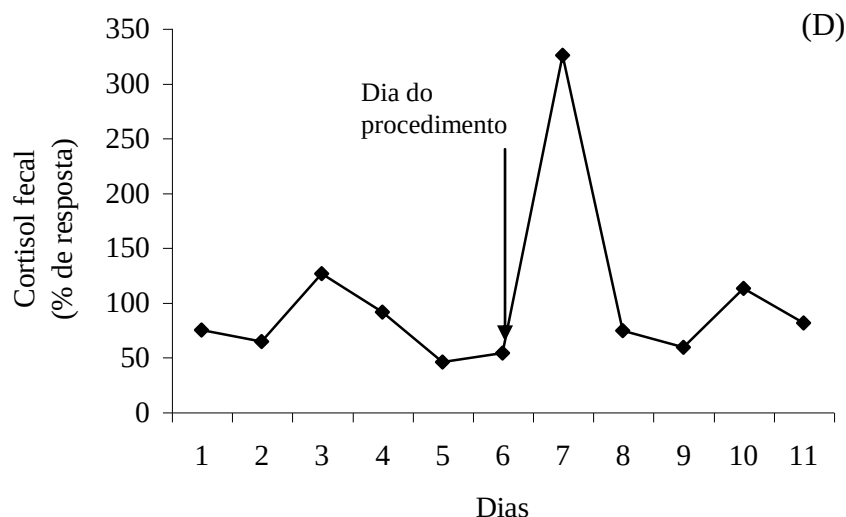


Figura 2. Porcentagem de resposta dos metabólitos de corticóides extraídos das fezes após contenção e eletroejaculação em onça pintada. A, primeiro procedimento para o animal P01; B, segundo procedimento para o animal P01; C, primeiro procedimento para o animal P02; and D, segundo procedimento para o animal P03.

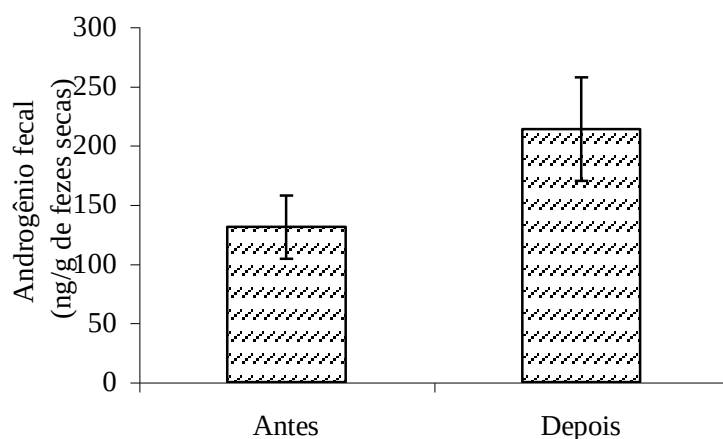


Figura 3. Concentração de metabólitos de androgênios fecais antes e depois de contenção e eletroejaculação.

Considerações Finais

Foi notável o aumento do número de amostras depositadas no Banco de Amostras Biológicas do CENAP-IBAMA, a partir da regulamentação e aparelhamento do mesmo. Adicionalmente, no momento, há divulgação e estímulo para que

pesquisadores depositem amostras neste banco. O armazenamento adequado das amostras permitirá o uso em pesquisas médicas e àquelas voltadas a reprodução artificial. Para a efetiva contribuição dos bancos genéticos, seja *in vivo* ou *in vitro*, há necessidade de se estabelecer fatores que podem afetar a reprodução natural, assim como, os melhores protocolos de criopreservação de gametas. O uso de amostras fecais para extração de hormônios esteróides mostrou-se uma importante ferramenta para entendimento da fisiologia reprodutiva, patologia reprodutiva e avaliação de bem estar animal, fundamentais para o sucesso de programas reprodutivos em cativeiro. Finalmente, um protocolo simples de criopreservação de sêmen foi estabelecido, sendo, portanto, aplicável em condições de campo.

É evidente que há, ainda, uma grande lacuna de conhecimento acerca da fisiologia reprodutiva da onça pintada, sem o qual estaremos limitados a resultados pífios tanto na aplicação de técnicas de reprodução assistida como no manejo reprodutivo da espécie. Obviamente esforços devem ser concentrados para que possamos entender os mecanismos reprodutivos da onça pintada. Apesar da considerável melhora na técnica de criopreservação de sêmen de onça pintada, ainda há necessidade de melhora de resultados objetivando, no mínimo, alcançar os resultados descritos para animais domésticos.

Outro aspecto importante a ser considerado, é a necessidade de estudos que envolvam a criopreservação de gametas femininos. O fato de ser uma célula consideravelmente maior que o gameta masculino impõe barreiras metodológicas a serem transpostas, no entanto, os resultados obtidos na criopreservação de oócitos, tecido ovariano ou folículos pré-antrais isolados de caprinos domésticos trazem boas perspectivas para as espécies ameaçadas de extinção.

ANEXO I

bco genômico 2003 a 2006

Código	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
16	Panthera onca	bPon 303	16-ago-04		sangue com EDTA easy blood e	Lúcio Oliveira
17	Panthera onca	bPon 304*	16-ago-04	Fazenda Casa da Pedra	7 tubos de 500ul de soro, 2 de	Vinícius Queiroz
18	Panthera onca	bPon 305*	16-ago-04		6 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinicius Queiroz
19	Panthera onca	bPon 306*	16-ago-04	Zoo de Ilha Solteira	9 tubos de soro, 2 leucócitos, 2	Vinicius Queiroz
20	Panthera onca	bPon 307*	16-ago-04	Zoo de Ilha Solteira	8 tubos de 500 ul de soro, 2	Ronaldo Morato
21	Panthera onca	bPon 308	20-ago-04	Zôo de Sorocaba	10 tubos de soro, 2 leucócitos, 4	Vinícius Queiroz
22	Panthera onca	bPon 309	20-ago-04	Zôo de Sorocaba	5 tubos de 500ul de soro, 3	Vinícius Queiroz
23	Panthera onca	bPon 310	20-ago-04	Zôo de Sorocaba	5 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
24	Panthera onca	bPon 311	20-ago-04		3 tubos de 500ul de soro, 3	Vinícius Queiroz
25	Panthera onca	bPon 312	18-ago-04	Zôo de São Carlos	5 tubos de 500ul de soro, 3	Vinícius Queiroz
26	Panthera onca	bPon 313	18-ago-04	Zôo de São Carlos	9 tubos de 500ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
27	Panthera onca	bPon 314*	23-ago-04	Zôo do Rio de Janeiro	5 tubos de 500 ul de soro, 1	Vinícius Queiroz
28	Panthera onca	bPon 315*	23-ago-04	Zôo do Rio de Janeiro	6 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
29	Panthera onca	bPon 316	24-ago-04		4 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
30	Panthera onca	bPon 317	24-ago-04		8 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
31	Panthera onca	bPon 318	19-ago-04		7 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
32	Panthera onca	bPon 319	19-ago-04		9 tubos de 500 ul de soro, 3	Vinícius Queiroz
33	Panthera onca	bPon 320	12-ago-04	Zôo de Paulínia	6 tubos de 500 ul de soro, 1	Vinícius Queiroz
34	Panthera onca	bPon 321	12-ago-04	Zôo de Paulínia	10 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
35	Panthera onca	bPon 322	12-ago-04		1 tubo de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
36	Panthera onca	bPon 323	13-ago-04	Zôo de Americana	1 tubos de 500 ul de soro, 3	Vinícius Queiroz
37	Panthera onca	bPon 324	13-ago-04	Zôo de Americana	8 tubos de 500 ul de soro, 4	Vinícius Queiroz
38	Panthera onca	bPon 325	13-ago-04	Zôo de Americana	5 tubos de 500 ul de soro, 2	Vinícius Queiroz
39	Panthera onca	bPon 326	04-set-04	International Paper	2 tubos de 500 ul de plasma, 2	Vinícius Queiroz
40	Panthera onca	bPon 327	01-mar-00	Parque Nacional das Emas	2 tubos de 500 ul de soro e 1 de	Leandro Silveira
41	Panthera onca	bPon 328	28-fev-00	Parque Nacional das Emas	4 tubos de 500 ul de soro	Leandro Silveira
42	Panthera onca	bPon 329	29-fev-00	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul de soro	Leandro Silveira
43	Panthera onca	bPon 330	04-set-98		2 tubos de 500 ul de soro	Ronaldo Morato
44	Panthera onca	bPon 331*	28-mai-98		2 tubos de 500 ul de soro	Ronaldo Morato
45	Panthera onca	bPon 332	22-ago-96		3 tubos de 500 ul de soro	Ricardo Boulhosa
46	Cerdocyon thous	bCth 0010	12-out-02	RPPN Sesc Pantanal	15 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
47	Cerdocyon thous	bCth 48	14-set-02	RPPN Sesc Pantanal	10 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
48	Cerdocyon thous	bCth 49	14-set-02	RPPN SESC Pantanal	16 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
49	Cerdocyon thous	bCth 50	16-set-02	RPPN SESC Pantanal	14 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
50	Cerdocyon thous	bCth 51	16-ago-03	RPPN SESC Pantanal		Rodrigo Jorge
51	Cerdocyon thous	bCth 52	26-jul-03	RPPN SESC Pantanal		Rodrigo Jorge
52	Cerdocyon thous	bCth 53	16-ago-03	RPPN SESC Pantanal		Rodrigo Jorge
53	Cerdocyon thous	bCth 54	05-set-03	RPPN SESC Pantanal		Rodrigo Jorge
54	Cerdocyon thous	bCth 55	16-ago-03	RPPN SESC Pantanal	Em 22-Sep-03:	Rodrigo Jorge
55	Cerdocyon thous	bCth 56	05-set-03	RPPN SESC Pantanal		Rodrigo Jorge

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
56	Cerdocyon thous	bCth 301	16-dez-02	SP 253	pele	Cristiana Prada
57	Cerdocyon thous	bCth 302	10-fev-03	SP 253 km 178	pêlos	Cristiana Prada
58	Cerdocyon thous	bCth 303	02-set-02	SP 253	pele com pêlos	Cristiana Prada
59	Cerdocyon thous	bCth 304	02-mar-03	SP 253	6 fragmentos de músculo	Cristiana Prada
60	Cerdocyon thous	bCth 305	31-mar-03	SP 253	1 fragmento de musculo	Cristiana Prada
61	Cerdocyon thous	bCth 306	14-abr-03	SP 253	3 fragmentos de pêlos	Cristiana Prada
62	Cerdocyon thous	bCth 307	01-nov-02	Parque Nacional Chapada dos	9 fragmentos de tecidos	Flávio Rodrigues
63	Cerdocyon thous	bCth 308	20-abr-01	Planaltina-Sobradinho	9 fragmentos de fígado	Flávio Rodrigues
64	Cerdocyon thous	bCth 309	29-jan-01	Rebio-Guaribas	12 fragmentos de tecidos	Flávio Rodrigues
65	Cerdocyon thous	bCth 310	25-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul de soro	Rodrigo Jorge
66	Cerdocyon thous	bCth 311	31-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul de soro	Rodrigo Jorge
67	Cerdocyon thous	bCth 312	01-fev-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
68	Cerdocyon thous	bCth 313	15-mar-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
69	Cerdocyon thous	bCth 314	16-mar-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
70	Cerdocyon thous	bCth 315	27-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
71	Cerdocyon thous	bCth 316	16-mar-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
72	Cerdocyon thous	bCth 317	29-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
73	Cerdocyon thous	bCth 318	13-mar-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
74	Cerdocyon thous	bCth 319	15-mar-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
75	Cerdocyon thous	bCth 320	17-jun-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
76	Cerdocyon thous	bCth 321	10-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
77	Cerdocyon thous	bCth 322	22-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
78	Cerdocyon thous	bCth 323	23-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
79	Cerdocyon thous	bCth 324	24-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
80	Cerdocyon thous	bCth 325	24-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
81	Cerdocyon thous	bCth 326	20-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
82	Cerdocyon thous	bCth 327	21-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
83	Cerdocyon thous	bCth 328	15-jun-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
84	Cerdocyon thous	bCth 329	01-mai-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
85	Cerdocyon thous	bCth 330	30-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
86	Cerdocyon thous	bCth 331	18-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
87	Cerdocyon thous	bCth 332	21-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
88	Cerdocyon thous	bCth 333	27-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
89	Cerdocyon thous	bCth 334	21-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500 ul com soro	Leandro Silveira
90	Cerdocyon thous	bCth 335	13-ago-04	Barragem de Biritiba-Mirim/SP	2 fragmentos de pele	Patricia Bertola
91	Puma yaguaroundi	Fya 40	11-nov-03			
92	Puma yaguaroundi	bPya 302			6 fragmentos de tecido	Flávio Rodrigues
93	Puma yaguaroundi	bPya 303		Rebio-Guaribas	24 fragmentos de tecido	Flávio Rodrigues
94	Leopardus pardalis	bLpa 95	11-set-03	RPPN - Sesc Pantanal		Rodrigo Jorge
95	Leopardus pardalis	bLpa 94	11-nov-03	International Paper		Ronaldo Morato
96	Leopardus pardalis	bLpa 93	10-nov-03	IBAMA-Acre	soro e plasma	Ronaldo Morato
97	Leopardus pardalis	bLpa 93	10-abr-03	Piracicaba/SP	3 palhetas de sêmen; 13 tubos de	Ronaldo Morato

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
98	Leopardus pardalis	bLpa 301	12-nov-02	Município de Balsa Nova, Br	2 fragmentos de fígado; 2 de rim;	José Loaquim Crachineski
99	Leopardus pardalis	bLpa 302	12-nov-02	SP 330	1 fragmento de músculo	Cristiana Prada
100	Leopardus pardalis	bLpa 303	12-fev-04	Santarém-PA	sangue	João Alberto Pererira Coelho
101	Leopardus pardalis	bLpa 304	18-nov-02	Serra do Ramalho	2 tubos de 500 ul com soro	
102	Leopardus tigrinus	Fti 104	11-nov-03	Jundiaí	2 tubos de 500ul com plasma e	
103	Leopardus tigrinus	Fti 103	10-nov-03	Jundiaí	sangue com EDTA e sangue sem	Ronaldo Morato
104	Leopardus tigrinus	bLti 301	17-set-03	Ubatuba	músculo esquelético; tecidos de	Cláudia Filoni
105	Leopardus tigrinus	bLti 302	28-jun-04	CENAP/IBAMA	9 tubos de 1ml cada com plasma	Rogério Cunha
106	Puma concolor	bPco 40	06-set-02	Jardim	2 tubos de 500 ul com soro e 2	Ronaldo Morato
107	Puma concolor	bPco 39	06-set-02	Ponta-Porã	2 tubos de 500 ul com soro e 2	Ronaldo Morato
108	Puma concolor	bPco 38	06-set-02	Corumbá	2 tubos de 500 ul com soro e 2	Ronaldo Morato
109	Puma concolor	bPco 31	21-jan-02	Sesc Pantanal	13 frascos de 500 ul com soro	Rodrigo Jorge
110	Puma concolor	bPco 37	06-set-02	Corumbá	2 amostras de papa ed leucócitos	Ronaldo Morato
111	Puma concolor	bPco 35	06-set-02	Jardim	2 amostras de papa ed leucócitos	Ronaldo Morato
112	Puma concolor	bPco 30	25-fev-02	Sesc Pantanal	7 ml de sangue com EDTA;	Rodrigo Jorge
113	Puma concolor	bPco 29	21-jan-02	Sesc Pantanal	10 tubos de 500 ul com soro e 1	Rodrigo Jorge
114	Puma concolor	bPco 27	23-jan-02	Sesc Panatanal	9 palhetas de semen; tecidos,	Rodrigo Jorge
115	Puma concolor	bPco 26	23-fev-02	Sesc Pantanal	12,5 ml de sangue com EDTA;	Rodrigo Jorge
116	Puma concolor	bPco 24	20-fev-02	Sesc Pantanal	6 ml de sangue com EDTA;	Rodrigo Jorge
117	Puma concolor	bPco 301	21-jan-02	Sesc Pantanal	14 tubos com 50 ul de soro; 2	Rodrigo Jorge
118	Puma concolor	bPco 302	19-ago-03	Itapetininga	22 tubos de 500 ul com sangue	Ronaldo Morato

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
119	Puma concolor	bPco 303	15-abr-02	Sesc Pantanal	16 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
120	Puma concolor	bPco 304	13-jul-04	Juquitiba	8 ml de sangue com EDTA	Vinicius de Seixas Queiroz
121	Puma concolor	bPco 305	16-ago-04	Zoológico de Ilha Solteira	sangue com EDTA e sem EDTA	Vinicius de Seixas Queiroz
122	Puma concolor	bPco 306	05-abr-02	Sesc Pantanal	8 tubos de 500ul com soro	Rodrigo Jorge
123	Puma concolor	bPco 307	07-jan-03	Sesc Pantanal	1 tubo de 500ul com leucócitos	Rodrigo Jorge
124	Puma concolor	bPco 308	07-jan-03	Sesc Pantanal	4 tubos de 500ul com soro e 2	Rodrigo Jorge
125	Puma concolor	bPco 309	07-jan-03	Sesc Pantanal	3 tubos de 500ul com soro e 2	Rodrigo Jorge
126	Puma concolor	bPco 310	16-jan-99	Parque Nacional das Emas	3 tubos de 500ul com soro	Leandro Silveira
127	Puma concolor	bPco 311	03-dez-98	Parna Iguaçu	4 tubos de 500ul com soro	Fernando Azevedo
128	Puma concolor	bPco 312	12-jan-99	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
129	Puma concolor	bPco 313	19-jan-99	Parque Nacional das Emas	4 tubos de 500ul com soro	Leandro Silveira
130	Puma concolor	bPco 314	07-jun-98	Bataguassu	1 tubo de 500ul com soro	Ronaldo Morato
131	Puma concolor	bPco 315	18-ago-04	Ibirarema Fazenda Pastana	musculo, pele, orelha, 2 tubos	Elizeu P. Ribeiro/ IBAMA-Assis
132	Leopardus colocolo	bLco 302	28-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
133	Leopardus colocolo	bLco 301		Parque Nacional das Emas -	Tecidos	Flávio Rodrigues
134	Speothos venaticus	bSve 301		Parque Nacional das Emas	Tecidos	Flávio Rodrigues
135	Lontra longicaudis	bLlo 301	30-abr-01	Rod. Rio Verde Jataí	Tecidos	Flávio Rodrigues
136	Lontra longicaudis	bLlo 302	12-mar-03	região Mogi Mirim	Tecido	Ronaldo Morato
137	Carnívoros não identificados	bCar 301		Parque Nacional Chapada dos	tecido	Flávio Rodrigues
138	Carnívoro não identificado	bCar 302	28-jan-03			
139	Carnívoro não identificado	bCar 303		Peruíbe		

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
140	<i>Conepatus semistriatus</i>	bCse 301	04-mar-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
141	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 04	28-ago-02	Sesc Pantanal	20 ml de sangue p/ sorologia; 8	Rodrigo Jorge
142	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 06	10-set-02	Sesc Pantanal	22,5 ml de sangue p/ sorologia;	Rodrigo Jorge
143	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 07	13-set-02	Sesc Pantanal	22,5 ml de sangue p/ sorologia;	Rodrigo Jorge
144	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCb 301	15-mai-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
145	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 302	02-abr-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
146	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 303	23-abr-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
147	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 304	19-mai-04	PARNA Canastra	33 tubos de 500ul entre soro e	Joares May
148	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 305	03-jun-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
149	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 306	03-jul-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
150	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 307	24-jul-04	PARNA Canastra	soro e DNA	Joares May
151	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 308	25-ago-04	PNSC	soro e DNA	Joares May
152	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 309	04-set-04	PNSC	soro e DNA	Joares May
153	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 310				Joares May
154	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 311	28-out-02	SP330 Km251+800m	1 fragmento musculo esquelético	Cristiana Prada
155	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 312	11-mar-03	SP 334 km 362	1 fragmento musculo esquelético	Cristiana Prada
156	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 313	10-mar-03	SP 334	1 fragmento musculo esqueletico	Cristiana Prada
157	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 314	15-jan-03	SP 330 km 246	1 fragmento de musculo	Cristiana Prada
158	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 315	07-mai-03	SP 330 km 261	22 fragmentos entre rim,	Cristiana Prada
159	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 316	08-jan-03	SP 334 km 345	1 fragmento de músculo	Cristiana Prada
160	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	bCbr 317	28-set-02	Rod. Cândido Portinari km 361	1 fragmento de musculo	Cristiana Prada

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
161	Chrysocyon brachyurus	bCbr 318	14-set-02	SP 318 km 248	3 fragmentos de músculo	Cristiana Prada
162	Chrysocyon brachyurus	bCbr 319	13-mar-03	SP 334 km 387	5 fragmentos de músculo	Cristiana Prada
163	Chrysocyon brachyurus	bCbr 320	13-mai-03	SP 255 km 31	11 fragmentos entre rim, coração,	Cristiana Prada
164	Chrysocyon brachyurus	bCbr 321	12-out-02	Sesc Pantanal	20 ml de sangue para sorologia;	Rodrigo Jorge
165	Chrysocyon brachyurus	bCbr 322	28-mar-02	Sesc Pantanal	5 tubos de 500ul com soro	Rodrigo jorge
166	Chrysocyon brachyurus	bCbr 323	22-set-03	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	Rodrigo Jorge
167	Chrysocyon brachyurus	bCbr 324	05-out-03	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	rodrigo Jorge
168	Chrysocyon brachyurus	bCbr 325	11-ago-04	Itapira	sangue com EDTA	Mauro Almeida
169	Chrysocyon brachyurus	bCbr 326	06-out-03	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	Rodrigo jorge
170	Chrysocyon brachyurus	bCbr 327	26-fev-03	São João da Boa Vista	2 tubos de 500ul com sangue	International Paper
171	Chrysocyon brachyurus	bCbr 328	15-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
172	Chrysocyon brachyurus	bCbr 329	15-mai-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
173	Chrysocyon brachyurus	bCbr 330	21-jul-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
174	Chrysocyon brachyurus	bCbr 331	16-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
175	Chrysocyon brachyurus	bCbr 332	08-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
176	Chrysocyon brachyurus	bCbr 333	07-jul-01	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
177	Chrysocyon brachyurus	bCbr 334	31-jul-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
178	Chrysocyon brachyurus	bCbr 335	21-set-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
179	Chrysocyon brachyurus	bCbr 336	24-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
180	Chrysocyon brachyurus	bCbr 337	18-mai-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
181	Chrysocyon brachyurus	bCbr 338	24-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	caixa 2/ 3G

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
182	Chrysocyon brachyurus	bCbr 339	27-abr-01	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
183	Chrysocyon brachyurus	bCbr 340	23-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
184	Chrysocyon brachyurus	bCbr 341	08-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
185	Chrysocyon brachyurus	bCbr 342	21-jul-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
186	Chrysocyon brachyurus	bCbr 343	23-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
187	Chrysocyon brachyurus	bCbr 344	03-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
188	Chrysocyon brachyurus	bCbr 345	31-jul-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
189	Chrysocyon brachyurus	bCbr 346	01-nov-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro silveira
190	Chrysocyon brachyurus	bCbr 347	13-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
191	Chrysocyon brachyurus	bCbr 348	05-jul-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
192	Chrysocyon brachyurus	bCbr 349	02-set-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
193	Chrysocyon brachyurus	bCbr 350	10-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
194	Chrysocyon brachyurus	bCbr 351	25-set-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
195	Chrysocyon brachyurus	bCbr 352	19-abr-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
196	Chrysocyon brachyurus	bCbr 353	21-jul-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
197	Chrysocyon brachyurus	bCbr 354	06-jun-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
198	Chrysocyon brachyurus	bCbr 355	03-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
199	Chrysocyon brachyurus	bCbr 356	01-abr-02	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
200	Chrysocyon brachyurus	bCbr 357	12-jul-01	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
201	Galictis vittata	bGvi 301	21-out-04	Barragem Biritiba-Mirim	2 amostras de tecido armazenadas	Patricia Bertola
202	Panthera onca	bPon 333	05-dez-04	Fazenda Caiman	sêmen - 6 palhetas	Ronaldo Morato

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
203	Cerdocyon thous	bCth 337	12-jan-05	Município de Vargem	2 tubos de 500ul com sangue	Vuinícios de Seixas Queiroz
204	Cerdocyon thous	bCth 336	28-jul-04	PARNA Serra da Canastra	sangue e fezes	
205	Panthera onca				sangue com EDTA, sangue sem	Rodrigo Jorge
206	Pseudalopex vetulus	bPve 319	09-fev-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
207	Pseudalopex vetulus	bPve 317	11-fev-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
208	Pseudalopex vetulus	bPve 318	24-fev-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
209	Pseudalopex vetulus	bPve 316	25-fev-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
210	Pseudalopex vetulus	bPve 308	25-fev-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
211	Pseudalopex vetulus	bPve 310	09-mar-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
212	Pseudalopex vetulus	bPve 315	19-mar-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
213	Pseudalopex vetulus	bPve 307	10-abr-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
214	Pseudalopex vetulus	bPve 314	05-jun-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
215	Pseudalopex vetulus	bPve 311	22-ago-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
216	Pseudalopex vetulus	bPve 309	22-ago-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
217	Pseudalopex vetulus	bPve 320	27-ago-03	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
218	Pseudalopex vetulus	bPve 313	27-fev-04	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
219	Pseudalopex vetulus	bPve 312	17-abr-04	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
220	Cerdocyon thous	bCth 357	15-jul-04	RPPN SESC Pantanal	sangue+TES	Rodrigo Jorge
221	Cerdocyon thous	bCth 358	16-jul-04	RPPN SESC Pantanal	sangue+TES	Rodrigo Jorge
222	Leopardus pardalis	bLpa 307	19-jul-04	RPPN SESC Pantanal	sangue+TES	Rodrigo Jorge
1	Procyon cancrivorus	bPca 013	17-set-02	Sesc Pantanal		Rodrigo Jorge

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
2	Procyon cancrivorus	bPca 12	13-set-02	Sesc Pantanal -	8 ml de soro, gotas de sangue	Rodrigo Jorge
3	Procyon cancrivorus	bPca 11	25-jul-02	Sesc Pantanal	14 ml de sangue para sorologia,	Rodrigo Jorge
4	Procyon cancrivorus	bPca 10	17-ago-02	Sesc Pantanal	20 ml de sangue; 8 ml de	Rodrigo Jorge
5	Procyon cancrivorus	bPca 301	19-ago-02	SP 253	músculo esquelético	Cristiana Prada
6	Procyon cancrivorus	bPca 302	18-nov-02	SP 253	músculo esquelético	Cristiana Prada
7	Procyon cancrivorus	bPca 303	08-set-02	SP 253 km 266	músculo esquelético	Cristiana Prada
8	Procyon cancrivorus	bPca 304	25-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	Rodrigo Jorge
9	Procyon cancrivorus	bPca 305	29-jan-04	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	Rodrigo Jorge
10	Procyon cancrivorus	bPca 306	13-out-03	Sesc Pantanal	2 tubos de 500ul com soro	Rodrigo Jorge
11	Pseudalopex vetulus	bPve 301	25-fev-02	BR-020	pêlos	Flávio Rodrigues
12	Pseudalopex vetulus	bPve 302	24-abr-01		tecido	Flávio Rodrigues
223	Cerdocyon thous	bCth 359	20-jul-04	RPPN SESC Pantanal	sangue+TES	Rodrigo Jorge
224	Chrysocyon brachyurus	bCbr 358	15-fev-05	Estrada Cruzeiro/Cachoeiras	sangue EDTA/soro	IBAMA LORENA
225	Chrysocyon brachyurus	bCbr 372	13-mar-05	PARNA Serra da Canastra	soro	Jean
226	Chrysocyon brachyurus	bCbr 361	21-mar-05	International Paper	soro	Ronaldo Morato
227	Chrysocyon brachyurus	bCbr 359	22-mar-05	Zôo de Volta Redonda	soro	Ronaldo Morato
228	Chrysocyon brachyurus	bCbr 360	23-mar-05		soro	Ronaldo Morato
229	Chrysocyon brachyurus	bCbr 362	29-mar-05			Ronaldo
230	Chrysocyon brachyurus	bCbr 363	29-mar-05			
231	Leopardus tigrinus	bLti 303	28-abr-05	Flona de Ipanema	sangue-soro(2) + EDTA (easy	Ronaldo
232	Leopardus pardalis	bLpa 305	03-mai-05	Serra dos Erubiacaís	2 tubos: anticoagulante (K3	Roberto Rangel dos Santos Silva

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
233	Chrysocyon brachyurus	bCbr 370	04-mai-05	Parque Nacional da Serra da	soro	Joares
234	Chrysocyon brachyurus	bCbr 371	05-mai-05	PARNA Serra da Canastra	soro	Joares
235	Leopardus pardalis	bLpa 306	26-mai-05	Grajaú	EDTA	IBAMA Imperatriz/MA
236	Leopardus wiedii	bLwi 301		Imperatriz/MA	sangue+EDTA	IBAMA Imperatriz/MA
237	Puma concolor	bPco 316	02-jun-05		sangue s/ aditivo	Ivaldo Moreira de Carvalho
238	Chrysocyon brachyurus	bCbr 373	14-jun-05	PARNA Serra da Canastra - torresoro		Joares
239	Chrysocyon brachyurus	bCbr 375	21-jun-05	PARNA Serra da Canastra	soro	Joares
240	Chrysocyon brachyurus	bCbr 374	22-jun-05	PARNA Serra da Canastra	soro	Joares
241	Pseudalopex vetulus	bPve 306	20-jul-05	Nova Xavantina	sangue+TES	Júlio Dalponte
242	Pseudalopex vetulus	bPve 305	20-jul-05	Nova Xavantina	sangue+TES	Julio Dalponte
243	Chrysocyon brachyurus	bCbr 376	21-jul-05	PARNA Serra da Canastra	soro	Fernanda
244	Puma concolor	bPco 317	12-ago-05	Analândia	sangue s/ aditivos	Rogério Cunha
245	Cerdocyon thous	bCth 351	17-ago-05	Estrada PSL - PNSC	soro	Rodrigo Jorge
246	Cerdocyon thous	bCth 354	19-ago-05	RPPN SESC Pantanal	soro	Rodrigo Jorge
247	Cerdocyon thous	bCth 353	19-ago-05	RPPN SESC Pantanal - Estrada	soro	Rodrigo Jorge
248	Leopardus pardalis	bLpa 308	20-ago-05	SESC Pantanal	soro	Rodrigo Jorge
249	Cerdocyon thous	bCth 355	21-ago-05	RPPN SESC Pantanal - Estrada	soro	Rodrigo Jorge
250	Cerdocyon thous	bCth 352	18-set-05	RPPN SESC Pantanal	soro	Rodrigo Jorge
251	Cerdocyon thous	bCth 356	25-set-05	RPPN SESC Pantanal	sangue+TES	Rodrigo Jorge
252	Cerdocyon thous	bCth 360	22-nov-05	RPPN SESC Pantanal - Estrada	sangue c/ anticoagulante	Rodrigo Jorge
253	Procyon cancrivorus	bPca 307	25-nov-05		sangue s/ anticoagulante	Rodrigo Jorge

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
254	Panthera onca	bPon 334	29-nov-05	Fazenda (Ederson Viário) São	sangue c/ EDTA	Rodrigo Jorge
255	Chrysocyon brachyurus	bCbr 364	19-dez-05	Rod. Fernão Dias, aprox. Km	fragmentos de musculatura	Rodrigo Jorge
256	Cerdocyon thous	bCth 361	03-fev-06	litoral norte - SP	1 x músculo intercostal em	Andre Antonio Augusto Fausto
257	Chrysocyon brachyurus	bCbr 365	15-fev-06	SESC Pantanal	sangue c/ easy blood	Rodrigo Jorge
258	Cerdocyon thous	bCth 364	20-abr-06	Sul do Piauí	fragmento de orelha em álcool	Gitana Cavalcanti
259	Cerdocyon thous	bCth 365	20-abr-06	Sul do Piauí	fragmento de orelha em álcool	Gitana Cavalcanti
260	Leopardus pardalis	bLpa 309			sangue+EDTA	Diogo C. L. O. Faria
261	Panthera onca	bPon 336			sangue c/ EDTA	Diogo C. L. O. Faria
262	Panthera onca	bPon 335			sangue c/ EDTA	Diogo C. L. O. Faria
263	Conepatus semistriatus	bCse 302	22-abr-06	Piauí	fragmento de músculo e orelha	Gitana Cavalcanti
264	Pseudalopex vetulus	bPve 321	26-abr-06		sangur c/ EDTA (4,5 ml)	Rodrigo Jorge
265	Cerdocyon thous	bCth 362	27-abr-06	Piauí (bairro Angelina, zona sul)	sangue+EDTA (4,5 ml)	Rodrigo Jorge
266	Leopardus tigrinus	bLti 304	27-abr-06	Piauí	sangue total c/ TES	Rodrigo Jorge
267	Carnívoro não identificado	bCar 304	27-abr-06	PARNA Sete Cidades	fragmentos de pele	Rodrigo Jorge
268	Puma concolor	bPco 318	28-abr-06	Fazenda São Braz	sangue c/EDTA (1)	Ronaldo Morato
269	Puma concolor	bPco 319	03-mai-06	Ilha Solteira	sangue c/EDTA	Rodrigo Jorge
270	Puma concolor	bPco 320		Ilha Solteira	sangue c/EDTA (2)	Rodrigo Jorge
271	Leopardus tigrinus	bLti 305	20-jul-06	Sítio da TOK, bairro Pedreira	sangue com easy blood	Rodrigo Jorge
272	Chrysocyon brachyurus	bCbr 366	12-mar-05	rodovia MG-050	Fragmentos de músculo e fígado	Joares May
273	Eira barbara	bEba 301	04-mar-05	km 62 da estrada que liga Araxá	Fragmentos de músculo, baço e	Ivan, Flavio Rodrigues, Joares
274	Galictis vittata	bGvi 302	09-mar-06	Estrada Piumbí - São Roque de	fragmentos musculares	Joares May

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
275	Cerdocyon thous	bCth 366	02-mar-06			
276	Cerdocyon thous	bCth 367	02-mar-06	Cidade de João Pessoa	sangue	
277	Cerdocyon thous	bCth 368	02-mar-06		sangue	
278	Cerdocyon thous	bCth 369	02-mar-06		sangue	
279	Cerdocyon thous	bCth 370			sangue	
280	Cerdocyon thous	bCth 371	02-mar-06		sangue	
281	Cerdocyon thous	bCth 372	02-mar-06		sangue	
282	Nasua nasua	bNna 301	02-mar-06		pêlo	
283	Leopardus tigrinus	bLti 306			sangue	
284	Procyon cancrivorus	bPca 308	26-jul-06		fezes	
285	Leopardus pardalis	bLpa 310	07-jun-06	Zôo THM	sangue	Diogo Faria
286	Leopardus wiedii	bLwi 302	19-mai-06	Manaus	sangue	Diogo Faria
287	Speothos venaticus	bSve 302	02-ago-06	comunidade de São Pedro de	sangue+TES soro	Edson Lima
288	Panthera onca	bPco 337	01-jul-06		rim, fígado, baço, músculo	Vítor
289	Cerdocyon thous	bCth 381	26-set-06	Zôo de Catanduva	sangue c/ EDTA + TES	Rodrigo Jorge
290	Cerdocyon thous	bCth 382	26-set-06	Zôo de Catanduva	sangue c/ EDTA + TES	Rodrigo Jorge
291	Cerdocyon thous	bCth 383	26-set-06	Zôo de Catanduva	sangue com EDTA + TES	Rodrigo Jorge
292	Cerdocyon thous	bCth 384	26-set-06		sangue c/ EDTA + TES	Rodrigo Jorge
320	Puma concolor	bPco 321	03-out-06	Criadouro Comercial	5 criotubos com easy blood	Tadeu Gomes de Oliveira
321	Puma concolor	bPco 322	20-out-06	Santa Rita do Rio Pardo -	soros	Roberta Martins Passos Humberg
322	Chrysocyon brachyurus	bCbr 367	18-out-06	Zona urbana Aquidauana - MS	soros	Roberta Martins Passos Humberg

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
323	Leopardus pardalis	bLpa 311	24-out-06	Miranda - MS	sangue c/ EDTA	Liliam Botelho
324	Procyon cancrivorus	bPca 309	02-out-06	SESC Pantanal	7,5mL de sangue c/ TES	Rodrigo Jorge
293	Speothos venaticus	bSve 303	27-jul-04	Nova Xavantina	sangue + easy blood	
294	Speothos venaticus	bSve 304	30-jul-04	Nova Xavantina	sangue + easy blood	
295	Speothos venaticus	bSve 305	30-jul-04	Nova Xavantina	sangue + easy blood	
296	Speothos venaticus	bSve 306	13-jul-05		sangue + easy blood	
297	Cerdocyon thous	bCth 385	25-out-06	Zôo de Catanduva	soro + coágulo	Rodrigo
298	Cerdocyon thous	bCth 386	25-out-06	Zôo de Catanduva	soro + coágulo	Rodrigo
299	Cerdocyon thous	bCth 387	25-out-06	Zôo de Catanduva	soro + coágulo	Rodrigo
300	Cerdocyon thous	bCth 388	25-out-06	Zôo de Catanduva	soro + coágulo	Rodrigo
301	Cerdocyon thous	bCth 389	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
302	Cerdocyon thous	bCth 390	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
303	Cerdocyon thous	bCth 391	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
304	Cerdocyon thous	bCth 392	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
305	Cerdocyon thous	bCth 393	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
306	Cerdocyon thous	bCth 394	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
307	Cerdocyon thous	bCth 395	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
308	Cerdocyon thous	bCth 396	25-out-06	Zôo de Ribeirão Preto	soro + coágulo	Rodrigo
309	Cerdocyon thous	bCth 397	26-out-06	Zôo de Sumaré	soro + coágulo	Rodrigo
310	Cerdocyon thous	bCth 398	26-out-06	Zôo de Sumaré	soro + coágulo	Rodrigo
311	Cerdocyon thous	bCth 399	26-out-06	Zôo de Sumaré	soro + coágulo	Rodrigo

Códig	Especie	Indivíduo	Data de	Local de coleta	Amostras recebidas	coletor
312	Cerdocyon thous	bCth 400		Zôo de Sumaré	soro + coágulo	Rodrigo
313	Cerdocyon thous	bCth 401		Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
314	Cerdocyon thous	bCth 402	26-out-06	Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
315	Cerdocyon thous	bCth 403		Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
316	Cerdocyon thous	bCth 404	26-out-06	Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
317	Cerdocyon thous	bCth 405		Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
318	Cerdocyon thous	bCth 406	26-out-06	Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
319	Cerdocyon thous	bCth 407		Zôo de Sorocaba	soro + coágulo	Rodrigo
13	Pseudalopex vetulus	bPve 303	05-ago-03	Parque Nacional das Emas	1 tubo de 500ul com soro	Leandro Silveira
14	Panthera onca	bPon 301	10-nov-03	Criadouro Conservacionista	sangue com easy blood e sem	Ronaldo Morato
15	Panthera onca	bPon 302	10-nov-03	Criadouro Conservacionista	sangue com easy blood e sem	Ronaldo Morato

Conclusões

Conclusões

Com mais dois anos de trabalhos pudemos ampliar conhecimentos sobre as espécies de grandes felinos no Alto Rio Paraná. Espécies que dependem da conservação do ambiente natural que resta na região para a manutenção de populações viáveis, em especial a onça-pintada, que requer mais atenção devido às suas necessidades ecológicas, de áreas grandes e mais preservadas, além da disponibilidade de presas naturais. Os trabalhos sobre uso de área enfatizam a importância das unidades de conservação (UCs) da região, especialmente o parque do Ivinhema, uma das mais importantes, como área núcleo para a conservação da onça-pintada.

Com as indicações de que o aumento da taxa de vida (maior fecundidade e menor mortalidade) a curto prazo, parece ser mais importante que o aumento da taxa de dispersão recomenda-se que o aumento da dispersão - especificamente para a metapopulação do Alto Paraná-Paranapanema - seja implementado só quando as populações de onça atingirem pontos de maior estabilidade. Isso enfatiza as necessidades da diminuição da caça, que na maioria dos casos é feita em retaliação às predações de animais domésticos. O que nos remete ao entorno das unidades, aos trabalhos com conscientização ambiental, fiscalização e adequação das propriedades às leis ambientais. Porém há também a necessidade de continuarmos a identificação destas áreas potenciais de corredores e fragmentos de habitat, utilizados para conexão genética das subpopulações, para que sejam mantidos e possam ser utilizados pela fauna ao longo do tempo.

As análises do uso de área por onças-pardas, funcionando também como detetives ecológicos da paisagem, surpreendem pelo tamanho, mas salientam a importância de áreas disponíveis, mais preservadas, em uma paisagem fragmentada fora das UCs. Os trabalhos já indicam para as duas espécies que a área de várzea contígua ao sul do parque do Ivinhema é prioritária nas ações de conservação daquelas e das demais espécies da fauna. Esforços devem ser feitos prioritariamente na proteção desta área, preferencialmente como unidade de conservação pública ou privada (RPPN). Bem como a efetivação do parque do Ivinhema e a continuidade dos trabalhos já desenvolvidos na área são de grande importância para a conservação regional.

O acompanhamento por armadilhas fotográficas deve ser continuado ao longo do tempo para obtenção de estimativas de sobrevivência e recrutamento na população. Além das densidades de onça-pintada a abundância relativa das outras espécies servem para comparações no tempo e espaço, retratando a situação da fauna de predadores e presas no parque do Ivinhema. As baixas densidades, comparando-se com outras áreas reforçam a necessidade de acompanhamento da população de pintada, pois qualquer flutuação pode ser decisiva na manutenção desta.

Análises genéticas já indicaram um possível princípio de isolamento de subpopulações de onça-pintada na região. Os estudos também devem ser continuados para se averiguar a situação genética atual dos grandes felinos em todo o Alto Paraná, auxiliando nas diretrizes a serem seguidas para conservação e manejo. Se viável, a extração de DNA de fezes deve ser implementado para dar suporte aos trabalhos de densidade de onça-pintada e avaliar as densidades de onça-parda.

Análises sanitárias da vida selvagem são importantes pois as doenças ainda são pouco conhecidas e devem ser tratadas com relevância na conservação dos carnívoros. Declínios dramáticos em populações de carnívoros por surtos virais já foram acompanhados, como o caso de leões (*Panthera leo*) com cinomose (CDV). A identificação de soropositivos nas populações de grandes felinos da região para CDV ressalta a importância deste trabalho.

A coleta e armazenamento de amostras no banco genômico de carnívoros e sua implementação recente no CENAP - IBAMA é de grande importância. Bancos de Amostras Biológicas e Técnicas de Reprodução Assistida podem contribuir para a preservação de informação genética e posterior retorno desta à natureza, respectivamente, além de serem base para trabalhos científicos de aspectos genéticos, sanitários e reprodutivos.

Com a continuidade dos trabalhos realizados, acumulando mais dados demográficos e ecológicos, será possível alcançar resultados mais confiáveis e propor recomendações de manejo mais pragmáticas.

Porém a conservação da onça-pintada, bem como de muitas outras espécies nesse ecossistema, não só depende de estudos aplicados de auto ecologia como aqui relatado, mas de um modelo de gestão, conservação e desenvolvimento que garanta a integridade

das paisagens e das UCs nesta região. Trabalhos com envolvimento comunitário e restauração de paisagens no entorno das Unidades de Conservação ao longo do Corredor Ecológico do Alto Rio Paraná poderiam ser implementados contribuindo para a conservação do ambiente e ecodesenvolvimento.

Agradecimentos

Os trabalhos realizados no período foram resultados de colaboração entre várias instituições: ONGS; universidades; órgãos estatais e empresas, em especial a parceria dos Institutos Pró-carnívoros e IPÊ, além da CESP, financiadora do programa. A competição pelo “mercado conservacionista” muitas vezes impede que trabalhos sejam realizados com o melhor aproveitamento, trabalhando-se isoladamente. No nosso caso as parcerias com a contribuição de todos possibilitaram e ainda vão possibilitar a realização de inúmeros trabalhos, gerando um maior conhecimento a respeito das espécies estudadas, o que devem contribuir para a conservação não só delas como de todo o ambiente onde ocorrem, além das demais espécies que ali coabitam, no Alto Rio Paraná.

Agradecemos portanto todos amigos e parceiros citados no relatório ou que participaram de alguma forma: assistentes de campo, caçador, pessoal das fazendas, estudantes, professores, veterinários, biólogos e demais profissionais em campo, escritório ou laboratório, enriquecendo os trabalhos de conservação, gerando conhecimento ou possibilitando o andamento de trabalhos para a conservação.

PROGRAMA

“ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO E MANEJO *IN SITU* E *EX SITU* DE GRANDES FELINOS DO ALTO RIO PARANÁ ”

**Recomendações para ações de conservação de
grandes felinos no Alto Rio Paraná.**

Dênis Aléssio Sana – Biólogo (Instituto Pró-Carnívoros)
Ronaldo Gonçalves Morato, PhD – Médico Veterinário
(Instituto Pró-Carnívoros)
Eduardo Eizirik, PhD – Biólogo (Instituto Pró-Carnívoros)
Laury Cullen Jr., PhD – Engenheiro Florestal
(Instituto de Pesquisas Ecológicas - IPÊ)

1.Ex situ:

-Manutenção dos animais em cativeiro.

Três casais de onça-pintada (*Panthera onca*) foram capturados na área de enchimento do reservatório da UE Sérgio Motta e transferidos para cativeiro - um para o zoológico do Rio de Janeiro e dois para o zoológico da CESP, Ilha Solteira - como amostra *in vivo* da população afetada pela usina.

Rec.: estes animais devem ser mantidos em cativeiro, evitando o cruzamento com animais de outras regiões ou sem procedência. A reprodução para manutenção da amostra em cativeiro deve ser feita somente se houver destino para os animais nascidos e entre animais da mesma região (Alto Rio Paraná e proximidades). Qualquer ação deve ser reportada anteriormente ao Centro Nacional de Pesquisa para Conservação de Predadores Naturais (CENAP – IBAMA) que mantém controle dos indivíduos da espécie em cativeiro. Outras instituições que participem de ações com estes animais deverão seguir estas recomendações. (Instituições envolvidas: CESP; Riozoo; CENAP; Instituto Pró-carnívoros)

-Coleta e conservação de material biológico.

Bancos de amostras biológicas e técnicas de reprodução assistida podem contribuir para a preservação de informação genética e posterior retorno desta à natureza, respectivamente, além de serem base para trabalhos científicos de aspectos genéticos, sanitários e reprodutivos.

Rec.: novas amostras de sêmen devem ser coletadas e armazenadas no banco genômico do CENAP, juntamente com outras já realizadas, assim como a coleta de tecidos (ex.: sangue, músculo) que ocorram oportunisticamente na região do Alto Rio Paraná. (Instituições envolvidas: CENAP; Instituto Pró-carnívoros; Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ) e outras instituições de pesquisa que colem de material biológico).

2. In situ:

2.1 - Monitoramento.

Para sabermos se há necessidade de manejo e quais ações na população são necessárias para sua conservação, devemos ter informações a longo prazo, adquiridas com o

monitoramento desta população. Na realização de qualquer ação para a conservação este monitoramento deve ser contínuo.

-Monitoramento radiotelemétrico.

Com o monitoramento radiotelemétrico dos grandes felinos obtivemos grande quantidade e qualidade de dados, necessários para obtermos o tamanho da área de vida dos animais e o tipo de ambiente ocupado na paisagem. Com isso podemos inferir sobre tamanho da população, necessidade de área e seleção de habitat dos indivíduos monitorados. As onças serviram como “detetives ecológicos”, identificando áreas utilizadas e habitat favorável para as espécies, através de suas localizações. Dois animais permanecem aparelhados com radiotransmissores no Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (PEVRI), MS, uma onça-pintada fêmea e uma onça-parda (*Puma concolor*) macho.

Rec.: a continuidade dos trabalhos de monitoramento radiotelemétrico, utilizando os animais como “detetives ecológicos” podem auxiliar na descoberta de novas áreas importantes para a conservação. (Instituições envolvidas: Instituto Pró-carnívoros; Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ; CESP).

-Monitoramento da população.

Outra forma de monitorar populações de grandes felinos é com armadilhamento fotográfico. Para onças-pintadas a dinâmica populacional pode ser estudada com este monitoramento. Poderemos saber se a população está diminuindo, aumentando ou estável, se continuado este trabalho ao longo prazo. Em dois anos seguidos oito onças-pintadas foram fotografadas no PEVRI, porém quatro indivíduos eram diferentes. Nenhum trabalho a longo prazo tem sido feito com a espécie, pouco sabendo-se das taxas de natalidade, recrutamento, dispersão ou mortalidade. Além das densidades de onça-pintada a abundância relativa das outras espécies servem para comparações no tempo e espaço, retratando a situação da fauna de predadores e presas no PEVRI. As baixas densidades, comparando-se com outras áreas reforçam a necessidade de acompanhamento da população de pintada, pois qualquer flutuação pode ser decisiva na manutenção desta.

Rec.: O acompanhamento por armadilhas fotográficas deve ser continuado no PEVRI no mínimo por mais 8 anos para obtenção de estimativas de sobrevivência e recrutamento na população. (Instituições envolvidas: Instituto Pró-carnívoros; Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ; CESP).

-Monitoramento genético.

A região do Alto Rio Paraná é a primeira área em toda distribuição da onça-pintada onde obteve-se uma amostragem suficiente para análises de genética populacional. Porém os resultados preliminares obtidos em relação a similaridade genética entre populações de diferentes fragmentos demonstram a necessidade de dar continuidade ao estudo que vem sendo realizado com a espécie na região. Estudos mais detalhados envolvendo um tamanho amostral maior e análises adicionais darão maior confiabilidade e detalhamento às análises que vêm sendo realizadas, subsidiando a elaboração e efetivação de esforços urgentes na conservação destas populações.

A onça-parda, que ocorre em simpatria com a onça-pintada nas regiões amostradas, tende a apresentar um maior tamanho populacional. Ambas as espécies vêm sofrendo fortes pressões resultantes da destruição de seus habitats, mas a onça-parda parece ser mais tolerante às paisagens fragmentadas, o que pode ser refletido em seus padrões de diversidade genética. Esta comparação interespecífica, entretanto, não foi realizada até o momento em áreas de simpatria das espécies.

Rec.: Ampliar a amostragem (com métodos invasivos ou não) e continuar as análises para onça-pintada no Alto Rio Paraná, comparando-se com outras áreas de ocorrência.

Realizar análises de diversidade genética da onça-parda nas áreas amostradas do Alto Rio Paraná para comparação. (Instituições envolvidas: Instituto Pró-carnívoros; Pontifícia Universidade Católica – PUC, Porto Alegre; CESP).

- Monitoramento sanitário.

Foi detectado pela primeira vez no Brasil a exposição de felinos de vida livre ao vírus da cinomose (CDV), em duas onças-pintadas do PEVRI e uma onça-parda. Mesmo não havendo manifestação da doença nos animais soropositivos isso deve ser monitorado na população. Declínios em populações de carnívoros tem sido acompanhados desde o início

dos anos 90, como surtos de raiva em canídeos e de cinomose (CDV) em leões (*Panthera leo*) e doninhas (*Mustela nigripes*), salientando a importância destes estudos na conservação das espécies de carnívoros. Praticamente todos os cães domésticos amostrados no entorno e interior do PEVRI são também soropositivos para cinomose justificando os resultados nas onças.

Rec.: controle sanitário dos cães domésticos no entorno e retirada destes do interior da unidade, além de outros animais domésticos. (Instituições envolvidas: órgãos estaduais de controle sanitário animal e de fiscalização, SEMA).

2.2 - Proteção de áreas:

O aspecto mais importante para a conservação das onças na região é a preservação de áreas, sendo crucial a efetivação das unidades de conservação e a manutenção de ambientes ainda preservados, utilizados pelos predadores.

-Identificação de habitat favorável no alto Rio Paraná.

Nossos resultados mostraram que floresta primária e várzeas mais densas e fechadas são os habitats preferidos e ou selecionados pela onça-pintada na região do Alto Rio Paraná. Porém há necessidade de continuarmos a identificação de áreas potenciais de corredores e fragmentos de habitat ou mesmo de ocorrência da espécie para que sejam mantidos e possam ser utilizados pela fauna ao longo do tempo. Mesmo parecendo não ser prioritária a dispersão e corredores a curto prazo, a longo prazo estas áreas serão necessárias para o fluxo gênico entre as subpopulações.

Rec.: Identificar mais áreas de habitat favorável e analisar as áreas identificadas com maior refinamento em relação ao habitat, utilizando dados novos e já obtidos. (Realização do Workshop da onça-pintada do Alto Rio Paraná). (Instituições envolvidas: Instituto Pró-carnívoros; Instituto de Pesquisas Ecológicas – IPÊ; CESP).

-Unidades de Conservação (UCs).

Os trabalhos sobre uso de área enfatizam a importância das UCs da região, especialmente o PEVRI, uma das mais importantes, como área núcleo para a conservação da onça-pintada. Porém o parque ainda mantém áreas com gado em seu interior e o

funcionamento de uma fazenda, inclusive com cães de caça, que podem ser utilizados no abate de predadores.

Os trabalhos já indicam para as duas espécies de onça que a área de várzea contígua ao sul do PEVRI é prioritária nas ações de conservação daquelas e das demais espécies da fauna. Esforços devem ser feitos prioritariamente na proteção desta área, preferencialmente como unidade de conservação pública ou privada (RPPN).

A tendência do crescimento das plantações de cana e instalação de usinas de álcool, inclusive na área citada acima, poderiam ser aproveitadas para a aquisição de novas áreas de preservação (públicas ou privadas), vinculando às licenças de operação destas.

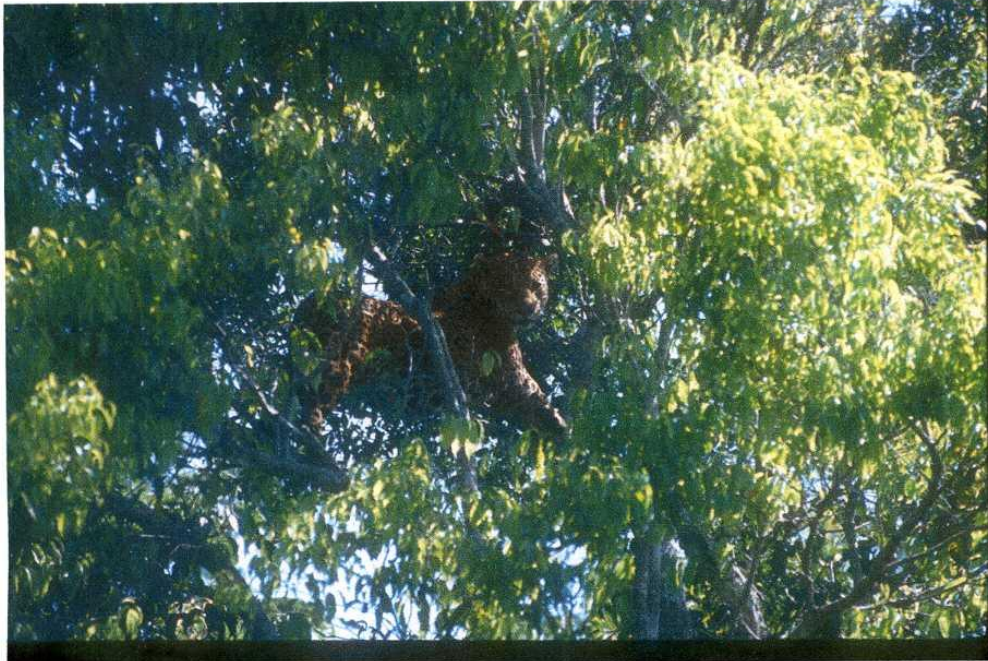
Rec.: efetivação do PEVRI com a retirada do gado e atividades rurais de seu interior.

Transformação de novas áreas de várzea em UCs. (Instituições envolvidas: Secretaria Estadual de Meio Ambiente - SEMA; IBAMA; proprietários rurais; Ministério Público).

-Fiscalização.

Concluímos também que qualquer manejo realizado em prol do aumento das taxas vitais da onça-pintada e redução das taxas de mortalidade, a curto prazo, tem um efeito bastante positivo nas possibilidades de sobrevivência da espécie. Isso enfatiza as necessidades da diminuição da caça, que na maioria dos casos é feita em retaliação às predações de animais domésticos. Isso nos remete ao entorno das unidades, ou mesmo ao seu interior, havendo necessidade de fiscalização e adequação das fazendas às leis ambientais.

Rec.: coibir a caça dos predadores ou de suas presas, bem como o desmatamento, os quais têm ocorrido dentro da APA das Várzeas e Ilhas do Rio Paraná. Adequação das propriedades rurais da região às leis ambientais. (Instituições envolvidas: SEMA; IBAMA; Polícia Ambiental; Ministério Público).



1. Primeira onça-pintada (*Panthera onca*) Po15 capturada no P. E. das Várzeas do Rio Ivinhema (PEVRI), MS.



2. Campanha de captura no PEVRI com caçador prático Carlos Platero



3. Equipe de captura com onça-pintada fêmea Po 20 capturada em set-2006



4. Onça-parda (*Puma concolor*) macho (Pc21) aparelhado com rádiotransmissor VHF em dezembro de 2005 no PEVRI



5. Biometria de onça-pintada no PEVRI



6. Monitoramento terrestre por radiotelemetria no PEVRI



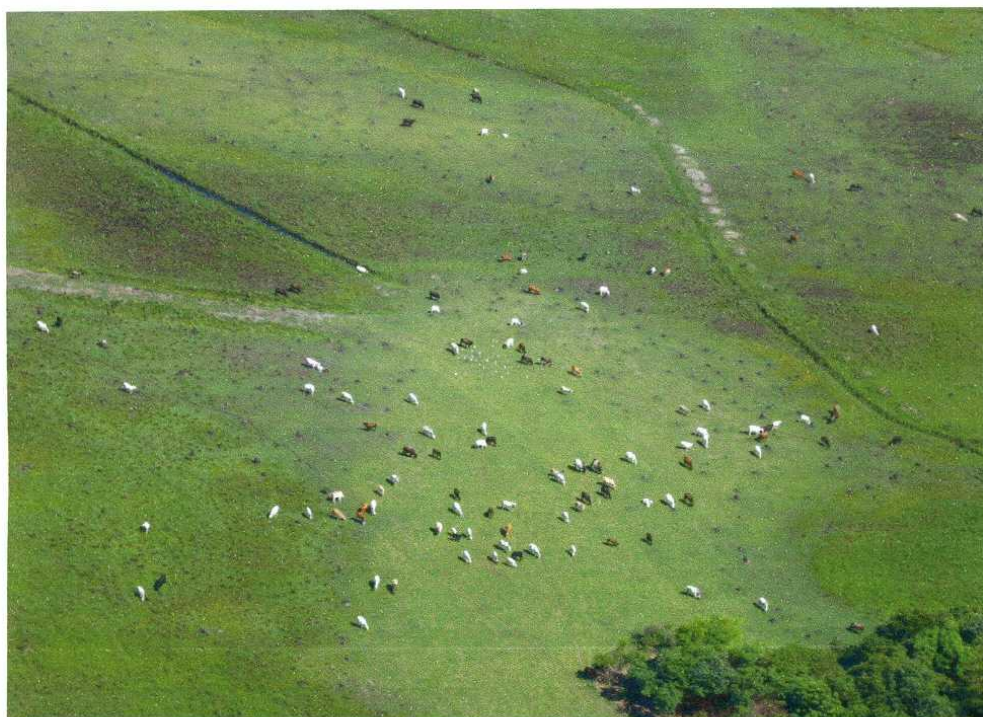
7. Monitoramento aéreo por radiotelemetria no PEVRI



8. Carcaça de vaca predada por onça-pintada no PEVRI.



9. Carcaça de pôtro predado e coberto por onça-parda em Anaurilândia, MS



10. Gado presente em area já indenizada no PEVRI



11. Capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) nas margens do rio Ivinhema



12. Cervo (*Blastocerus dichotomus*) após queimada no PEVRI, em set-2006



13. Anta (*Tapirus terrestris*) flagrada por armadilha fotográfica no PEVRI



14. Queixada (*Tayassu pecari*) flagrado por armadilha fotográfica nas ilhas do PEVRI.



15. Fêmea de parda com filhote, flagrados por armadilha fotográfica no PEVRI



16. Fêmea de pintada monitorada, com filhote, flagrados por armadilha fotográfica no PEVRI



17. Rio Ivinhema e Paraná na divisa do PEVRI

**OBS: Fotos 1, 2, 5, 6, 7 e 17 de Adriano Gambarini.
Demais fotos, arquivos do projeto.**