**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura**

**Uso do espaço pelo veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814):
uma comparação entre colares GPS e DNA fecal**

Pedro Henrique de Faria Peres

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ecologia Aplicada

**Piracicaba
2015**

Pedro Henrique de Faria Peres
Bacharel em Ciências Biológicas

**Uso do espaço pelo veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814): uma
comparação entre colares GPS e DNA fecal**

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ MAURÍCIO BARBANTI DUARTE**

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Ecologia Aplicada

Piracicaba
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Peres, Pedro Henrique de Faria

Uso do espaço pelo veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814): uma comparação entre colares GPS e DNA fecal / Pedro Henrique de Faria Peres. - - Piracicaba, 2015.

84 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura.

1. Área de vida 2. Seleção de habitat 3. Pantanal 4. Microsatélite 5. Cão farejador
I. Título

CDD 639.9797
P437u

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho a todas as pessoas especiais que encontrei pelo meu caminho nesses últimos anos e posso chamar de amigos. Amigos que se aproximaram, amigos antigos que reencontrei ao meu lado, amigos pantaneiros, amigos de somente uma prosa na estrada ou uma disciplina na pós, amigos de diferentes regiões, com diferentes objetivos, diferentes épocas, diferentes vidas.

Cada um, ao seu jeito, contribuiu na construção da minha formação. Ao fim do presente trabalho percebo a importância desses encontros em minha vida e sou profundamente grato.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte, por sua confiança e parceria, por seu esforço em minha formação acadêmica e por ensinar constantemente que devemos avançar sobre nossos limites.

Ao pesquisador Dr. Ubiratan Piovezan, pela parceria na construção desse trabalho, pelos ensinamentos sobre o Pantanal e pela presença em momentos cruciais do campo.

À FAPESP, pelos recursos e bolsa investidos nesse trabalho e, conseqüentemente, na formação de minha carreira profissional.

À Embrapa Pantanal, pela parceria institucional que permitiu o trabalho em seu campo experimental e forneceu a logística necessária na etapa de campo desse trabalho.

Ao Vinícius Antunes, por seus ensinamentos de campo desde meu começo profissional até os tempos de Pantanal, por ter aberto as portas e gerado o conhecimento que permitiram a realização do presente estudo.

Ao Francisco Grotta Neto, pelos bons e épicos momentos passados juntos, por ter me ensinado a ter calma e paciência ao enfrentar adversidades, e por ter se tornado um irmão muito especial. Saiba que estarei prontamente disponível para o que precisar (só não garanto atender o celular).

Ao Márcio Leite de Oliveira, pelo companheirismo inabalável no ambiente mais inóspito de todo o trabalho, o laboratório de biologia molecular, e por quase que teimosia ter encontrado a agulha no palheiro quando todos duvidavam.

À Alessandra Bertassoni da Silva, por sua força, companheirismo e carinho ilimitados, os quais me mantiveram equilibrado e me fizeram tão feliz durante a etapa final dessa jornada. Dedico a você todo meu amor.

Ao Guilherme Batista do Nascimento, por uma amizade tão atenciosa e compreensiva, que se faz forte não só nos momentos bons, mas nos difíceis, e sobrevive à rotina fazendo especiais os momentos mais simples.

À Granada, que com tanta dedicação e alegria me ensinou quão profunda pode ser a relação entre um homem e seu companheiro de pelos e patas.

Aos amigos da Fauna, a república mais remota de que já ouvi falar: Juliane, Magyda, Gustavo, Pâmela, Zucco, PV, Ismael, Talita, Vanessa, Laísa, entre outros que transitaram por lá nesses tempos. Uma turma muito especial, que me recebeu de forma tão fraterna em sua “casa” e fez da convivência do campo, por vezes pesada, uma experiência muito boa, com momentos inesquecíveis.

Aos amigos da Fazenda Nhumirim: Márcio, Henrique, Armindo, Oziel, Cleomar, Marcos José, Vandir, Vitor, Waldno, Reginaldo, Marcílio, Zairo, Airton, Denis. Funcionários que foram além de suas obrigações, tornando-se uma família durante os meses de campo, cuidando, conversando, alegrando e ensinando profundamente através da simplicidade pantaneira.

Aos amigos de Piracicaba, em especial aos da Mastocasa: Roth, Edson e Pamela, pela atenção e hospitalidade.

Aos amigos do Nupecce, muito mais do que parceiros de trabalho, muito mais do que um saco de batatas, um grupo que mostra sua força quando necessário. Agradeço especialmente aos que se envolveram diretamente com esse trabalho: a equipe de captura (Eveline, Marina S., Iara, Vinícius); os envolvidos no laboratório com reagentes, extrações e marcadores (Marina F., Aline e João Boer); aos que ajudaram nas campanhas de campo quando foi preciso (Douglas, Thiago e Jorge), e a equipe de busca e resgate dos colares (Melanie, Maxihilian, Alan, Julia, Luís).

Aos amigos de Ribeirão Preto, cuja amizade já ultrapassou as barreiras do tempo e da distância, pela grande compreensão nesse período turbulento e pela imediata e revigorante presença nos momentos difíceis. Farei sempre o possível ao meu alcance para enfrentar ou desfrutar qualquer momento com vocês.

Aos amigos da Bio 07 e da República Kilombo, famílias de uma união incomparável que transformaram a experiência de viver em Jaboticabal.

Por fim, agradeço profundamente à minha família, Ana Maria, Sérgio, Ana Carolina, Ana Luíza, Tirsa, Maria, Telma e David, pelo apoio e confiança incondicionais em todas as empreitadas que me envolvo e pelo amor irrestrito que me reconstrói a cada encontro.

“A vida é arte do encontro
Embora haja tanto desencontro pela vida.”

Vinícius de Moraes

"Cada um que passa em nossa vida,
passa sozinho, pois cada pessoa é única
e nenhuma substitui outra.
Cada um que passa em nossa vida,
passa sozinho, mas não vai só
nem nos deixa sós.
Leva um pouco de nós mesmos,
deixa um pouco de si mesmo.
Há os que levam muito,
mas há os que não levam nada.
Essa é a maior responsabilidade de nossa
vida,
e a prova de que duas almas
não se encontram ao acaso. "

Antoine de Saint-Exupéry

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 Revisão Bibliográfica	19
2.1.1 O gênero <i>Mazama</i> e o veado-catingueiro (<i>Mazama gouazoubira</i>)	19
2.1.2 A técnica e as aplicações do DNA fecal	23
2.1.3 Área de Vida e Seleção de Hábitat	27
2.2 Metodologia.....	28
2.2.1 Área de Estudo	28
2.2.2 Obtenção dos Dados	32
2.2.2.1 Captura e Monitoramento dos Animais	32
2.2.2.2 Coleta de dados com colares GPS	34
2.2.2.3 Coleta de Fezes	35
2.2.2.4 Identificação Molecular das Amostras Fecais	37
2.2.3 Análise dos Dados	40
2.2.3.1 Independência Espacial dos Dados de GPS	40
2.2.3.2 Análise de Área de Vida por colares GPS	42
2.2.3.3 Análise de Seleção de Hábitat por GPS	43
2.2.3.4 Análise Espacial das Amostras Fecais com a Espécie Identificada	44
2.2.3.5 Individualização e Análise Espacial das Amostras Genotipadas	46
2.3 Resultados.....	46
2.3.1 Área de Vida por GPS	46
2.3.2 Seleção de Hábitat por GPS	51
2.3.3 Identificação Molecular das Amostras Fecais	53
2.3.4 Análise Espacial das Amostras Fecais com a Espécie Identificada	56
2.4 Discussão	58
3 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	69
ANEXOS	81

RESUMO

Uso do espaço pelo veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814): uma comparação entre colares GPS e DNA fecal

Informações sobre o uso do espaço são importantes para o entendimento de processos ecológicos que envolvem uma espécie e a determinação de seu estado de conservação. Tais informações são escassas para o gênero *Mazama*, o mais diverso entre os cervídeos neotropicais, sendo que desenvolver metodologias para obtenção de dados ecológicos do gênero torna-se fundamental para qualquer ação de manejo envolvendo o grupo. O estudo do DNA fecal surge como uma ferramenta importante para viabilizar a coleta sistemática de informações sobre o gênero. Assim, o presente trabalho visou a estimar a área de vida e a seleção de hábitat do veado-catingueiro, comparando duas metodologias, com intuito de avaliar a aplicação do DNA fecal como alternativa para se estudar a espécie. O trabalho contou com 6 animais que tiveram suas localizações obtidas a cada 13 horas por colares GPS, no período de um ano. Nesse mesmo período e na mesma área, foram coletadas mensalmente amostras fecais, gerando um total de 830 amostras, cujo DNA foi extraído para identificação genética. A espécie das amostras foi determinada com o uso de um marcador mitocondrial (cit-b), e a identificação individual, com um painel de 11 microssatélites. Os valores de área de vida pelo método do MPC 95% variaram de 33 ha a 97 ha, e pelo método Kernel com 95% das localizações, variaram de 17 ha a 77 ha. Observou-se que as áreas de vida são alocadas nos diferentes habitats da região conforme o disponível ($p = 0,072$), porém são utilizadas internamente de forma selecionada ($p=0,001$). Neste nível, a espécie apresentou preferência pelos habitats de cerrado e campo cerrado e evitou o campo ($p < 0,005$). Foram identificadas 670 amostras de veado-catingueiro e 15 genótipos únicos. A análise espacial das fezes também sugeriu uso desproporcional dos habitats em relação à sua disponibilidade, sendo que a comparação direta entre os dois métodos revelou iguais distribuições no nível de espécie ($p=0,178$). As amostras individualizadas sugeriram um padrão de alta sobreposição de área de uso por diferentes indivíduos, mas avanços são necessários para melhor elucidar a questão. Perante os resultados observados, entende-se que há muito em se avançar na análise molecular das fezes que, realizada em larga escala, pode fornecer respostas importantes anteriormente inviáveis para espécies florestais.

Palavras-chave: Área de vida; Seleção de habitat; Pantanal; Microssatélite; Cão farejador

ABSTRACT

Space use by the brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814): a comparison between GPS collars and fecal DNA

Space use information is a key element to understand the ecological processes regarding a species and its conservation status. Such information is scarce for the genus *Mazama*, the most diverse group among Neotropical deer. The development of methods to obtain ecological data is fundamental to management actions concerning the group. The study of fecal DNA emerges as an important tool to enable systematic information collection about *Mazama* genus. Therefore, the present study aimed to estimate the home range and habitat selection of brown brocket deer comparing two methodologies in order to assess the application of fecal DNA as an alternative to study this species. Six animals were monitored with GPS collars and their location data was collected every 13 hours within one year time. Fecal samples were collected monthly in the same period and in the same area, generating a total of 830 samples whose DNA was extracted for genetic identification. The species identification was determined by a mitochondrial marker (cit-b) and individuals were identified applying a panel of 11 microsatellites. Home range was 33-97 h by MPC 95% and 17-77 h by Kernel 95%. Home ranges are allocated in different habitats as available in the region ($p = 0.072$), but its use is internally selected ($p = 0.001$). At this level, the species showed preference for “cerrado” and “campo cerrado” habitats and avoidance to open field areas ($p < 0.005$). Genetics analysis identified 670 brown brocket deer samples and 15 unique genotypes. Feces spatial analysis suggested disproportionate use of habitats in relation to their availability in the field and the direct comparison between the two methods revealed equal distributions at the species level ($p = 0.178$). The genotyped samples suggested an overlapping home range pattern for different individuals, but advances are needed to further elucidate the issue. There is need for improvements in feces molecular analysis and, if held on large scale, it can provide important and previously unviable answers for forest species.

Keyword: Home range; Habitat selection; Pantanal; Microsatellite; Detection dog

1 INTRODUÇÃO

O estudo do uso do espaço por animais procura entender a dimensão e os fatores envolvidos na modulação espacial que muitas espécies apresentam em sua movimentação que, em maior escala, representa uma área restrita de uso. Há muito a ciência debruça-se sobre o fato de os animais utilizarem áreas limitadas para suprirem suas necessidades de manutenção e reprodução, conceito teórico de área de vida ou área de moradia (BURT, 1943). O ganho adaptativo em se manter residente vem sendo discutido frente à capacidade de os animais acessarem a memória de informações espaciais e temporais (SPENCER, 2012).

As características das áreas de vida de um animal estão intimamente ligadas a outros processos ecológicos, como a distribuição e a densidade populacional (GAUTESTAD; MYSTERUD 2005; WANG; GRIMM 2007), a relação presa-predador (LEWIS; MURRAY, 1993) e a dinâmica de infecções (KENKRE et al., 2007). Informações espaciais e de preferência de hábitat são ainda utilizadas na determinação de populações mínimas e viáveis (ALDRIDGE; BOYCE, 2007; ALLEN, 2008). Assim, entende-se a necessidade da informação sobre o uso do espaço para subsidiar a avaliação do estado de conservação de uma espécie e planejar seu manejo adequado (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE - IUCN, 2001).

Estudos de uso do espaço baseiam-se em grande parte na captura e monitoramento dos animais pela tecnologia de telemetria, seja por VHF, seja por GPS (CAGNACCI et al., 2010). A aplicação dessa técnica em mamíferos neotropicais é caracterizada por um baixo número de animais monitorados em cada estudo e pela escassez de estudos em regiões florestais (ZUCCO, 2015). Essa lacuna está muito ligada não só ao custo e à logística, mas também ao fato de a captura ser um fator limitante ao se tratar de espécies raras ou evasivas, como grande parte dos mamíferos florestais.

O conhecimento sobre os veados do gênero *Mazama* reflete a situação de muitas dessas espécies. O gênero é classificado por Barrette (1987) dentro do grupo dos “Pequenos Cervídeos Florestais Solitários”. Esse grupo é caracterizado por uma forte relação com ambientes florestais e um comportamento evasivo, sendo eles considerados noturnos, solitários, territorialistas e sedentários (BARRETTE, 1987). Tais características ecológicas, segundo o autor, constituem a principal razão pela qual o conhecimento acerca da história natural do gênero é tão escasso. Em decorrência disso, a IUCN (International Union for

Conservation of Nature) classifica 3 das 10 espécies do gênero como Dados Deficientes, não sendo possível analisar seu nível de ameaça. Outras cinco espécies do gênero são consideradas ameaçadas de extinção (IUCN, 2015).

A obtenção de informações espaciais de *Mazama* na natureza é de fato complexa. Suas características ecológicas limitam a utilização de metodologias convencionais que envolvam visualização e captura de animais ou diferenciação individual por armadilhas fotográficas (VOGLIOTTI, 2003; ANDRIOLO et al., 2010; RAMOS et al., 2010). A captura para estudos ecológicos mais detalhados é inviável. Os poucos estudos existentes são eventuais e com um número baixo de animais (PINDER 1997; LEEUWENBERG et al., 1999; VOGLIOTTI 2003; MARQUES; SANTOS-JUNIOR, 2003; ANTUNES, 2012).

O problema da amostragem de mamíferos selvagens vem sendo há muito tempo contornado com o estudo de suas fezes, sendo a análise molecular do DNA fecal, com seu ápice na identificação individual, o avanço mais promissor (PUTMAM, 1984; TABERLET, 1996). A análise do DNA contido nas fezes tornou-se uma ferramenta importante, pois ampliou as possibilidades de estudos de comportamento, demografia, uso do espaço, dieta, doenças, variabilidade genética e filogenia (KOHN; WAYNE, 1997). Informações populacionais, como dispersão, estrutura e organização social, antes só possíveis de serem obtidas com um número alto e inviável de animais marcados, passam a ser possíveis através da amostragem fecal (SIMTH et al., 2006; TRINCA et al., 2013).

Apesar dessa diversidade de aplicações, pode-se dizer que o DNA fecal ainda é uma metodologia subutilizada e as técnicas de amostragem e os vieses envolvidos, pouco explorados (WAITS; PAETKAU, 2005). A comparação dos dados obtidos por meio de DNA fecal perante metodologias tradicionais é muito informativa. Muitos trabalhos, por exemplo, exploraram a confiabilidade de estimativas populacionais (CREEL et al., 2003; BELLEMAIN et al., 2005; PRUGH et al., 2005). Em relação ao uso do espaço, dos poucos estudos existentes, alguns se restringem a dizer que a distribuição das fezes foi compatível com as informações de telemetria e de estudos prévios da literatura (TABERLET et al., 1997; BELLEMAIN et al., 2005; SIMTH et al., 2006). Por outro lado, em um teste objetivo de comparação, foi sugerido que a contagem de fezes não seria capaz de distinguir diferenças sutis em uma escala fina de uso de ambiente, pois a frequência das fezes, não necessariamente, reflete a intensidade de uso do animal (LOFT; KIE, 1988). Discute-se que as fezes estariam sujeitas a uma série de vieses ligados ao comportamento de defecação, ao

método de coleta e à degradação em campo (COLLINS; URNESS, 1981; LOFT; KIE, 1988; NORRIS; MICHALSKI, 2010; RIVERO et al., 2005; REED et al., 2011).

O veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) no pantanal surge como uma situação modelo interessante para melhor dimensionar essa questão. O ambiente heterogêneo do pantanal possibilitaria evidenciar, de forma mais clara, sua influência na distribuição das amostras fecais, bem como permite a captura da espécie para colocação dos transmissores para um estudo comparativo. A aplicação da análise fecal com o veado-catingueiro pode ainda trazer informações de outra maneira inviáveis para o gênero, uma vez que muitas características são compartilhadas entre suas espécies. Assim sendo, o presente trabalho visou a estimar padrões de uso do ambiente pelo veado-catingueiro através de dados coletados por colares GPS e pela análise molecular de fezes coletadas com o uso de um cão farejador, comparando as duas metodologias. Foi comparada a intensidade de uso de cada hábitat com as duas metodologias e a distribuição das fezes perante as áreas de vida estimadas com GPS.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 O gênero *Mazama* e o veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*)

A família Cervidae é um grupo de grande diversidade, contendo 17 gêneros e mais de 60 espécies amplamente distribuídos pelo mundo (WILSON; REEDER, 2005). Os cervídeos Neotropicais, de maneira geral, podem ser subdivididos em dois grupos morfológicos (PUTMAN, 1988; WEBER; GONZÁLEZ, 2003). Um grupo é caracterizado por espécies de maior porte, cujos machos possuem chifres ramificados, e geralmente estão ligadas aos ambientes de vegetação aberta. Esse grupo compreende os gêneros *Odocoileus*, *Hippocamelus*, *Ozotoceros* e *Blastocerus*. Já o outro grupo é composto por espécies de menor porte, com machos de chifres simples, e adaptadas aos ambientes de vegetação fechada, como as formações florestais. Integram esse grupo os animais dos gêneros *Mazama* e *Pudu*.

O gênero *Mazama*, por sua vez, é o mais numeroso dentre os cervídeos neotropicais, sendo reconhecidas atualmente 10 espécies para o táxon, das quais 5 se encontram no Brasil: *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga*, *M. americana*, *M. nana* e *M. bororo* (MERINO; ROSSI, 2010; Figura 1). A distribuição geográfica do gênero é ampla, estende-se do sul do México ao centro da Argentina, ocupando diferentes ambientes florestais e ambientes de savanas arbóreas (WEBER; GONZÁLEZ, 2003).

Figura 1 - Espécies brasileiras do gênero *Mazama*: A-veado-catingueiro (*M. gouazoubira*); B- veado-roxo (*M. nemorivaga*); C- veado-mateiro (*M. americana*); D- veado-da-mão-curta (*M. nana*), e E- veado-mateiro-pequeno (*M. bororo*)

A história evolutiva do grupo é surpreendente devido à convergência morfológica marcante das espécies do gênero, hoje sabidamente polifilético. Tal convergência evolutiva, modulada pela pressão de ambientes de vegetação densa, levou com que diferentes formas que entraram na América do Sul pela ligação do istmo do Panamá convergissem para uma morfologia muito semelhante, o que gerou diversas controvérsias taxonômicas ao longo do tempo. A taxonomia do grupo ainda se encontra em reformulação, sendo proposta a subdivisão do gênero e a reavaliação de algumas espécies (DUARTE et al., 2008).

O veado-catingueiro é o representante mais comum do gênero no Brasil. Sua distribuição estende-se por todo o País, com exceção da região amazônica, e ainda é verificada na parte leste da Bolívia, norte da Argentina e toda a extensão do Paraguai e Uruguai (BLACK-DÉCIMA et al., 2010; Figura 2). Dentro desse limite, a espécie ocupa ambientes de vegetação arbustiva, cerrados, florestas secundárias e pode ainda utilizar áreas cultivadas ou abandonadas. Evita, porém, áreas de campo aberto ou de florestas densas (SCHALLER, 1983; PINDER, 1997; VOGLIOTTI, 2003; LEEUWENBERG et al., 1999; RODRIGUES et al., 2014). A IUCN classifica a espécie na categoria de Pouco Preocupante. Isso se deve à sua ampla distribuição, que inclui diversas áreas protegidas, abundância populacional e aparente não isolamento de suas populações (BLACK-DÉCIMA; VOGLIOTTI, 2008).

Figura 2 - Distribuição do veado-catingueiro (adaptado de BLACK-DÉCIMA et al., 2010)

Considerada uma espécie de médio porte, o veado-catingueiro tem cerca 50 cm de altura e peso de 11 a 25 kg. Assim como as demais espécies do gênero, os machos de veado-catingueiro possuem chifres simples, em forma de espeto, que podem chegar a aproximadamente 12 cm de comprimento. A coloração do pelo apresenta bastante variação, desde uma tonalidade baia, passando por marrom-escuro até tons mais avermelhados. Tais variações apresentam, de maneira geral, uma coerência ambiental; indivíduos do cerrado, por exemplo, tendem a ser mais claros. As manchas claras na porção superior da região ocular e as orelhas grandes em proporção à cabeça são características da espécie que, somadas ao porte físico, facilitam sua identificação (BLACK-DÉCIMA et al., 2010; Figura 3).

Figura 3 - Fêmea de veado-catingueiro no pantanal

A espécie apresenta uma série de glândulas cutâneas pelo corpo que estão intimamente ligadas à comunicação química, com destaque para as glândulas interdigitais, preorbitais, caudais, do tarso e do vestíbulo nasal (AJMAT et al., 2004). A comunicação olfativa é muito importante para a espécie, sendo que comportamentos de defecação, eliminação de urina, marcação de troncos e destruição de arbustos com os chifres estão diretamente ligados a ela. Através destes comportamentos e do uso de latrinas, os animais seriam capazes de reconhecer suas características individuais e estabelecer sinalizações territoriais (BLÁCK-DÉCIMA, 2000; BLÁCK-DÉCIMA; SANTANA, 2011).

Os animais do gênero *Mazama* são estritamente solitários. O termo solitário, porém, não seria de todo acurado, segundo Barrete (1987). O autor salienta que, apesar de passar a

maior parte do tempo e da vida sozinho, o animal é ativo membro de um grupo, com relações sociais bem estabelecidas, mas sem uma proximidade estreita e constante. Ocasionalmente, os indivíduos podem ser vistos em par ou trio, mas são relatados comportamentos agonísticos entre adultos (PINDER, 1997; BLACK-DÉCIMA, 2000; DESBIEZ et al., 2009). Tais observações, somadas à intensa marcação da área de uso, indicam o veado-catingueiro como um animal territorialista (PINDER, 1997; BLACK-DÉCIMA, 2000).

Os poucos dados sobre a área de vida da espécie sugerem sedentarismo, mas contrastam nos valores observados. No Cerrado, a espécie utilizou uma área de 22 a 276 ha; na Mata Atlântica, 348 ha; e no Pantanal, de 18 a 150 ha (PINDER, 1997; LEEUWENBERG et al., 1999; VOGLIOTTI, 2003; MARQUES; SANTOS-JUNIOR, 2003; ANTUNES, 2012). Os dados referentes à sobreposição e marcação de territórios são oriundos de estudos em semicativeiro. Sugere-se que adultos do mesmo sexo não sobrepõem território, mas que a área de um macho permeie a área de várias fêmeas (BLACK-DÉCIMA, 2000, BLACK-DÉCIMA; SANTANA, 2011).

Considera-se que o sistema de acasalamento seja poligínico, onde um macho poderia reproduzir-se com várias fêmeas ao mesmo tempo. Não é observada nenhuma sazonalidade reprodutiva para a espécie, sendo ocasionalmente relatada a concentração de nascimentos em épocas de maior disponibilidade de alimento (PINDER; LEEUWENBERG, 1997; LEEUWENBERG et al., 1999). Da mesma forma, o ciclo de chifres não apresenta sazonalidade, pois um macho pode permanecer com seu chifre por tempo indeterminado (PINDER, 1997; BLACK-DÉCIMA, 2000). A gestação é de um filhote por vez e dura aproximadamente 7 meses, sendo apresentado estro pós-parto pelas fêmeas. O estro é o único período em que a fêmea está receptiva ao macho, podendo durar cerca dois dias (PEREIRA, 2006).

A espécie é considerada um herbívoro do tipo “browser”, ou seja, que escolhe plantas e partes mais nutritivas. Como a capacidade de digerir fibras (celulose) está ligada ao tamanho do trato digestivo dos ruminantes, um ruminante de pequeno porte necessita de sua dieta mais concentrada e nutritiva (PUTMAN, 1988). Observa-se que a espécie apresenta uma dieta seletiva e com pulsos de frugivoria, a qual se adapta conforme a disponibilidade local de alimento. Observou-se, por exemplo, que no Pantanal as frutas correspondem a 4% da dieta, com pico de 19% na época chuvosa (PINDER, 1997). No Chaco paraguaio, por sua vez um ambiente mais árido, é relatado o consumo de frutas e sementes secas na época de estiagem (STALLINGS, 1984). Na Bolívia, a espécie ainda se alimentou de cactos, e o autor descreve um comportamento comum da espécie de ingerir terra e frequentar saeiros (CABALLERO,

2001). Apesar do aporte energético, não seria de se esperar uma dieta frugívora para os integrantes do gênero *Mazama*. O trato digestivo de um animal ruminante é bem menos eficiente que o de um não ruminante no consumo de uma dieta pobre em fibras, caso das frutas. No entanto, observa-se que o rúmen das espécies do gênero funciona como um mecanismo para digerir frutas e sementes, que estômagos não ruminantes não conseguiriam, possibilitando para o grupo explorar um recurso disponível (BODMER, 1989).

Por outro lado, o veado-catingueiro compõe a dieta da onça-pintada (*Panthera onca*) e da onça-parda (*Puma concolor*), sendo um dos dois itens mais frequentes encontrados nas fezes desses felinos no Chaco boliviano (TABER et al., 1997).

A captura do veado-catingueiro, assim como os demais *Mazama* é praticamente inviável. Vogliotti (2003) demonstrou tal realidade depois de diferentes métodos e enorme esforço por meses que resultou em 3 animais capturados (2 *M. bororo* e 1 *M. gouazoubira*). No total, apenas 18 indivíduos do gênero foram capturados e monitorados até hoje. Sete deles foram animais translocados, resgatados num processo de enchimento de hidrelétrica (MARQUES; SANTOS, 2003). Outros 4 correspondem a veados-catingueiros do Pantanal da Nhecolândia, região com o ambiente bem particular que propicia a captura da espécie, segundo a metodologia aplicada por Antunes (2012). Assim, os outros sete indivíduos se distribuem em diversos estudos pontuais que de forma oportunista puderam capturar e aparelhar os animais com transmissores (PINDER, 1997; LEEUWENBERG et al., 1999; VOGLIOTTI, 2003; MAFFEI; TABBER, 2003). Em uma comparação com o veado-campeiro (*Ozotocerus bezoarticus*), espécie de cervídeo de mesmo porte, com distribuição semelhante e mais rara, porém que habita campos abertos, o número de trabalhos e indivíduos capturados é muito maior, são pelo menos 173 animais capturados somente no Brasil (PINDER, 1997; PEREIRA et al., 2005; MUNERATO, 2012; LEEUWENBERG et al., 1997; LACERDA, 2008; RODRIGUES; MONTEIRO-FILHO, 2000; ZUCCO; MOURÃO, 2009; VERSIANI, 2011; ZUCCO, 2015). Fica evidente que o monitoramento por telemetria de um número razoável de veados do gênero *Mazama* é algo impossível de se delinear.

2.1.2 A técnica e as aplicações do DNA fecal

Há muito tempo as fezes representam a melhor fonte de informação para mastozoólogos de campo frustrados por não poderem capturar ou visualizar seus animais de interesse (PUTMAN, 1984). Com o advento da biologia molecular e da análise do DNA

contido nas fezes, o já vasto campo de possibilidades se ampliou (KOHN; WAYNE, 1997). No panorama de trabalhos ecológicos temos que o DNA fecal já foi utilizado para trabalhos de estimativa, densidade e dinâmica populacionais, padrões de uso do hábitat, distribuição de espécies, detecção de híbridos, fluxo gênico, sobrevivência e identificação de dieta (WAITS; PAETKAU, 2005; BEJA-PEREIRA et al., 2009; POMPANON et al., 2012; TRINCA et al., 2013; DEMAY et al., 2014).

Quanto a trabalhos relacionados ao uso do espaço, Taberlet et al. (1997) e Bellemain et al. (2005) compararam os dados de área de vida provenientes de telemetria com a distribuição das fezes individualizadas. Entretanto, esses trabalhos restringem-se a dizer que a distribuição encontrada foi compatível com as informações de telemetria, utilizada como balizadora da confiança das identificações genéticas. Já Simth et al. (2006), apesar de não terem realizado um estudo comparativo, fizeram uma análise espacial das amostras fecais individualizadas, obtendo informações de área de vida, parentesco e dispersão de uma espécie de raposa.

No que tange aos cervídeos neotropicais, os estudos com DNA fecal começaram com o desenvolvimento de uma metodologia para a identificação genética da espécie por meio de uma região do DNA mitocondrial e enzimas de restrição. Em um primeiro momento, a técnica discriminou espécies do gênero *Mazama*, posteriormente essa técnica foi ampliada para o cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) e o veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) (GONZÁLEZ et al., 2009; SOUZA et al., 2013). A aplicação dessas técnicas já permitiu aferir sobre a distribuição de *M. bororo* (DUARTE et al., 2005), partição de hábitat entre *M. americana* e *M. nana* (VOGLIOTTI, 2008) e uma possível extinção local de *O. bezoarticus* (PERES, 2010). A identificação individual por meio de microssatélites foi utilizada em uma população relictual de *M. americana* e grupos de *O. bezoarticus* no Pantanal (OLIVEIRA; DUARTE, 2013; MANTELLATTO, 2011).

Um avanço essencial para os estudos com as fezes de cervídeos foi a utilização de cães farejadores para o encontro das amostras, que podem ser tão crípticas no ambiente quanto a detecção do próprio animal. O poder de detecção de um cão farejador treinado mostra-se muito superior em relação à capacidade humana (OLIVEIRA et al., 2012). Por esse motivo, seu emprego tem sido amplo ao redor do mundo, sendo utilizado na coleta de amostras de diferentes táxons de mamíferos, como ursos (WASSER et al., 2004; LONG et al., 2007), canídeos (SMITH et al., 2003; VYNNE et al., 2010), felinos (HARRISON, 2006, LONG et

al., 2007; VYNNE et al., 2010), xenarthras (VYNNE et al., 2009, 2010) e cetáceos (ROLLAND et al., 2006).

Para estudos populacionais detalhados, o reconhecimento individual das amostras fecais foi uma questão essencial. O uso de marcadores microssatélites no estudo de genética de populações tem sido amplo e apresenta a vantagem, pelo seu tamanho reduzido, de ser aplicado a partir de quantidades mínimas de DNA, o que possibilita o uso de formas não invasivas de obtenção das amostras (TABERLET et al., 1996).

Taberlet et al. (1999) ressaltam a importância de se discutir as limitações do uso de DNA obtido de forma não invasiva para que erros na identificação não comprometam um estudo. Essas limitações são provenientes da baixa quantidade deste tipo de amostra de DNA, bem como a baixa qualidade devido a sua fragmentação e presença de agentes inibidores de PCR. Tais fatores podem levar a falsos diagnósticos dos genótipos, principalmente devido à perda de alelos, fenômeno chamado de allelic dropout, ou devido à aparição de falsos alelos, decorrentes de inespecificidades no processo de amplificação. Em primeira instância, esses problemas podem ser minimizados com o aumento da quantidade e da qualidade das amostras coletadas e com a otimização do armazenamento (BEJA-PEREIRA et al., 2009).

A principal forma de combater os erros na genotipagem é o uso sistemático de controles em todo o processo e a realização de repetições independentes nas amplificações, chamada de abordagem de múltiplos tubos (TABERLET et al., 1996). Dessa forma, é possível acessar a frequência com que os erros ocorrem e chegar a um genótipo consenso. Bonin et al. (2004) sugerem várias medidas para minimizar tais erros e ressaltam a importância da quantificação destes. Com essa informação, é possível ajustar os dados obtidos, descartando marcadores ou genótipos que apresentarem alta frequência de erro. Os autores ainda colocam como fundamental a divulgação da taxa de erro na genotipagem para atestar a qualidade dos dados e a dificuldade de tal abordagem. Para quantificar e divulgar a ocorrência dos erros mais comuns (allelic dropout e falsos alelos), Broquet e Petit (2004) sugerem uma padronização no cálculo da frequência desses fenômenos. Nesse trabalho, os autores mostram como alguns estudos utilizam cálculos que subestimam tais acontecimentos.

A quantificação do DNA fecal obtido também é uma opção para contornar os erros no processo de genotipagem. A quantificação baliza a qualidade do DNA de trabalho e poupa tempo gasto em amostras ruins (MORIN et al., 2001). Essa quantificação por métodos convencionais de espectrofotometria, porém, é complicada. Tais métodos não indicam o nível

de degradação do DNA, só a quantidade; não diferenciam DNA-alvo de inespecífico, muito presente em fezes; e são ineficientes para detecção de quantidades-traço de DNA. Para devida quantificação de DNA fecal, é utilizado PCR quantitativo em tempo real, uma tecnologia sofisticada e de maior custo (BEJA-PEREIRA et al., 2009).

A revisão realizada por Pompanon et al. (2005) sumariza de forma clara todo o contexto que envolve o trabalho com DNA não invasivo: os erros envolvidos, as causas destes, as medidas cabíveis para detectá-los e minimizá-los e, principalmente, o impacto que podem ter sobre o resultado de um trabalho. Erros na genotipagem podem resultar em frequências alélicas alteradas e um aumento na homozigose, levando a conclusões errôneas em estudos de genética de população. Em estimativas populacionais, os referidos erros podem afetar a identificação individual e, como foi demonstrada, mesmo uma baixa ocorrência destes pode levar à superestimação de até 200% no total da população (POMPANON et al., 2005).

A certeza de cada perfil ou genótipo, gerado pelos marcadores microssatélites, ser único para cada indivíduo é probabilística. E a probabilidade de dois indivíduos compartilharem o mesmo perfil, para dados marcadores, é chamada P_{id} (probability of identity). Quando a P_{id} é diferente de zero, surge o “efeito de sombra” (shadow effect), que é o compartilhamento de um mesmo genótipo por indivíduos distintos. A consequência desse efeito em estimativas populacionais, por exemplo, é considerável, levando a diferentes graus de subestimação (MILLS et al., 2000).

O cuidado em estudos com espécies ameaçadas deve ser maior porque o nível de endogamia e a estruturação populacional tendem a influenciar no aumento da P_{id} e, consequentemente, no aumento do efeito de sombra. Para confrontar essa situação, é preciso optar pelos melhores marcadores. O aumento do número de loci utilizados em um estudo pode diminuir exponencialmente o valor total da P_{id} . Da mesma forma, um maior polimorfismo alélico e frequências alélicas semelhantes contribuem para uma melhor P_{id} (MILLS et al., 2000). Peatkau et al. (1998) demonstram o cálculo da P_{id} em seu estudo sobre diversidade genética em Ursos arctos e Waits et al. (2001) promovem uma correção da fórmula que leva em conta o parentesco (PI_{sibs}).

2.1.3 Área de Vida e Seleção de Hábitat

O conceito de área de vida sugerido por Burt (1943) capta a essência da restrição espacial apresentada por diversos animais, até hoje amplamente explorada, e por isso tem seu uso recorrente. Nele, Burt afirma que área de vida é:

a área atravessada por um indivíduo em suas atividades normais de alimentação, reprodução e cuidado das crias. Saídas ocasionais da área, talvez de natureza exploratórias, não deveriam ser consideradas no cômputo de área de vida.

Atualmente, com o avanço das metodologias analíticas e com um volume empírico de dados maior, o conceito incorpora a noção de mapa cognitivo, onde a área de vida seria o resultado de um processo de tomada de decisão perante a disponibilidade dos recursos e da experiência prévia do animal (POWELL; MITCHELL, 2012). É discutido que capacidade de acessar a memória de condições espaciais e temporais de recursos favoreceria o valor adaptativo de ser espacialmente residente (SPENCER, 2012).

A revisão seminal de Burt (1943) visava também à padronização dos termos utilizados, sendo que o autor explora o conceito de território, diferenciando-o do de área de vida. Um território, segundo ele, seria a área defendida pelo animal, seja ela a área de vida como um todo, seja parte dela. Brown e Orians (1970) avançam no conceito e colocam que, para uma área ser considerada território, ela deveria necessariamente obedecer a três princípios: (1) ser fixa; (2) ser defendida e marcada pelo animal, e (3) ser de uso exclusivo do indivíduo ou grupo que a ocupa. Nesses termos, quando uma área tem sua defesa vencida, sendo utilizada por outros indivíduos, ela não deveria ser considerada um território. Dessa forma, entende-se que estudar o comportamento territorialista de uma espécie envolva estudar o comportamento do indivíduo em relação à sua área (ex. marcação) e em relação aos seus vizinhos (ex. encontros agonísticos), sendo necessário obter informações espaciais não só do indivíduo focal, mas também de seus vizinhos (BURT, 1943; BROWN; ORIAN, 1970).

A definição de área de vida de Burt já deixa implícita a importância da intensidade do uso ao diferenciar movimento exploratório de área de vida. Tais movimentos exploratórios só podem ser definidos sob um plano de fundo do que seria essa área estabelecida. Sob esse prisma, os primeiros métodos de análise de área de vida surgiram na tentativa de delimitar as áreas de vida. Dentre diferentes técnicas primordiais, o mínimo polígono convexo (MPC) foi o mais simples e intuitivo deles, sendo ele apenas a união dos pontos mais externos de um conjunto de localizações (WORTON, 1987). Nas décadas seguintes, os métodos objetivaram determinar a distribuição da utilização das áreas de vida, ou seja, a intensidade de seu uso. O

estimador Kernel de probabilidade de uso surgiu, então, permitindo a identificação de áreas de uso concentrado, chamadas áreas núcleo, e fornecendo contornos mais realistas às áreas de vida estimadas (WORTON, 1989). Por muito tempo, foi o método mais avaliado e de preferência ao tratar das áreas de vida (POWELL, 2000).

Nas últimas duas décadas, porém, a popularização do uso do GPS para coleta remota de localizações nos monitoramentos causou verdadeira revolução no estudo do uso do espaço, trazendo vantagens e desafios. Por um lado, aumentou significativamente a acurácia e o número de localizações obtidas, assim como permitiu protocolos de amostragem mais sistematizados. Por outro, trouxe grandes desafios de adaptar os métodos analíticos existentes e explorar uma série de novas possibilidades analíticas, tais como os modelos mecanísticos (KIE et al., 2010). A aplicação das análises convencionais continua válida, podendo, agora, por exemplo, ser utilizada em escalas temporais mais estreitas (KIE et al., 2010). A alta densidade de localizações, no entanto, tem permitido investigar os fatores moduladores do comportamento e da movimentação animal, que estruturam, em menor escala, os padrões de área de vida observados em maior escala (SPENCER, 2012).

O estudo do uso do espaço, ao longo do tempo, deixou de apenas descrever padrões, mas passou a entender como e por que tais padrões emergem. O real desafio hoje, perante a profusão de tecnologia e de possibilidades analíticas, reside em formular boas perguntas e endereçar métodos e escalas corretos para respondê-las (KIE et al., 2010; FIERBEGGER; BORGER, 2012).

2.2 Metodologia

2.2.1 Área de Estudo

A área de estudo situa-se dentro da fazenda Nhumirim (campo experimental da Embrapa Pantanal), localizada na região central do Pantanal brasileiro, conhecida como Nhecolândia (18° 59' 15'' S; 56° 37' 03''W, Figura 4). A região é caracterizada por solo arenoso; regime de baixa inundação; clima quente e úmido, com chuvas entre outubro e março, e estiagem entre abril e setembro; temperatura média alta e grande amplitude térmica, com máximas de 40°C no verão e mínimas de 0°C no inverno (SORIANO et al., 1997; RODELA, 2006).

Figura 4 - Localização da área de estudo na planície do pantanal brasileiro

A fazenda caracteriza-se pelo bom nível de preservação ambiental e pela representatividade dos componentes ambientais característicos da região da Nhecolândia, no que se refere à presença do mosaico das unidades de vegetação (campos, cerrados e florestas) e das unidades de relevo (baías, salinas, cordilheiras e vazantes) (RODELA, 2006).

Os habitats considerados neste trabalho foram baseados nas fitofisionomias identificadas por Rodela (2006). As fitofisionomias identificadas foram agrupadas em 5 classes de habitat que seriam significativas para o presente estudo, como proposto anteriormente por Antunes (2012). São elas: Floresta (cerradão + floresta estacional), Cerrado (cerrado stricto sensu), Campo Cerrado, Campo (campo sujo/limpo, campo sazonal, campo úmido, carandazal, campo limpo e praia de salina) e Baía (baías, salinas) (Tabela 1 e Figuras 5 e 6). Para a confecção dos mapas e contabilização dos habitats na área de estudo, foi utilizado o mapa de vegetação gerado pelo trabalho de Rodela (2006), que teve seu georreferenciamento conferido e ajustado (Figura 5). O mapeamento e a classificação das fitofisionomias e unidades de relevo da área de estudo foram realizados por interpretação de imagens de satélites digitais Landsat-7 e controle de campo para caracterizações florísticas, sendo os processos descritos em detalhe por Rodela (2006).

Figura 5 - Mosaico da vegetação na região da fazenda Nhumirim

Tabela 1 - Descrição dos habitats adaptada de Antunes (2012)

Habitat	Descrição
Floresta (Figura 6A)	São os cerradões e as matas estacionais semidecíduas. As matas entremeiam-se aos cerradões e misturam-se em suas composições florísticas, altura e característica das árvores. Árvores chegam acerca de 17 m de altura. Uma saia de bromélia espinhosa, o caraguatá (<i>Bromelia balansae</i>), pode circundar essa fisionomia. Principais árvores: acuri (<i>Scheelea phalerata</i>), angico (<i>Anandenanthera macrocarpa</i>), ipê (<i>Tabebuia sp</i>), figueira (<i>Ficus sp</i>), pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>), embaúba (<i>Cecropia pachystachya</i>), entre outras.
Cerrado (Figura 6B)	Predominância de arbustos tortuosos e árvores baixas, de 4 a 6 m de altura, e estrato herbáceo graminoide aparente. Distribuídos em manchas pouco extensas, caracteriza-se por estar próximo às bordas de floresta. Principais arbustos e árvores: canjiqueira (<i>Byrsonima orbignyana</i>), lixeira (<i>Curatella americana</i>), araticum (<i>Annona dioica</i>) e a embaúba (<i>C. pachystachya</i>), caraguatá (<i>B. balansae</i>), mimoso (<i>Axonopus purpusii</i>) e mercúrio (<i>Sebastiania hispida</i>).
Campo Cerrado (Figura 6C)	Ocorre na transição entre Cerrado e Campo. Caracteriza-se pelo tapete de gramíneas pontuado por arbustos tortuosos mais ou menos agrupados, podendo ocorrer árvores isoladas. Principais herbáceas, arbustos e árvores: canjiqueira (<i>B. orbignyana</i>), araticum (<i>A. dioica</i>), lixeira (<i>C. americana</i>), acuri (<i>S. phalerata</i>), assa-peixe (<i>Vernonia scabra</i>), caraguatá (<i>B. balansae</i>), mercúrio (<i>Sebastiania hispida</i>) e a malva-branca (<i>W. albicans</i>).
Campo (Figura 6D)	Áreas abertas dominadas por plantas herbáceas, porém com ocorrência de pequenos arbustos distribuídos de forma mais espaçada. Principais herbáceas e arbustos: assa-peixe (<i>V. scabra</i>), araticum (<i>A. dioica</i>), mimoso (<i>A. purpusii</i>), grama-do-cerrado (<i>Mesosetum chaseae</i>) e o rabo-de-burro (<i>A. bicornis</i>).
Baía (Figura 6E)	Inclui as baías e salinas. Como o período de monitoramento se estendeu por um ano, parte dos corpos d'água diminuiu dando lugar à vegetação pioneira ou de transição, composta por mimoso (<i>A. purpusii</i>), bernarda (<i>Richardia grandiflora</i>), assa-peixe (<i>V. scabra</i>).

Figura 6 - Hábitats considerados no estudo: Floresta (A), Cerrado (B), Campo Cerrado (C), Campo (D), Baía (E)

2.2.2 Obtenção dos Dados

2.2.2.1 Captura e Monitoramento dos Animais

Foram capturados e marcados com brincos do tipo ovino e colares GPS radiotransmissores 8 veados-catingueiros em julho de 2011, sendo 5 machos e 3 fêmeas. Os machos foram identificados como M313, M316, M318, M319 e M320, e as fêmeas como F314, F315 e F317 (Tabela 2). Quando avistados, os animais foram seguidos por uma pessoa a pé até uma distância de aproximadamente 15 metros, distância em que foram alvejados por uma arma a gás pressurizado com dardos anestésicos. Esses dardos foram especialmente adaptados para esta captura, possuindo um transmissor VHF em seu interior, pois quando alvejado, o animal desloca-se para o interior da mata, impossibilitando seu acompanhamento visual. Assim, alguns minutos após a fixação do dardo anestésico no animal, tempo necessário

para sua queda, foi possível segui-lo e encontrá-lo por meio de um receptor VHF aparelhado com uma antena.

Os indivíduos foram submetidos à biometria, colheita de material biológico (sangue, pêlo, pele, fezes e ectoparasitos) e pesagem, tendo sua idade estimada baseada na dentição (Figuras 7B e 7C). Os dados e materiais coletados na captura foram encaminhados para a base de dados do NUPECCE. Após o retorno da anestesia, os animais foram observados por algumas horas subsequentes para julgar sua adaptação ao colar. Nesse momento de observação, optou-se por retirar o colar da fêmea F315, pois ela apresentou uma reação muito forte e agressiva de desconforto com o colar.

Tabela 2 - Informação dos animais capturados

Identificação	Sexo	Idade Estimada	Peso	Chifres
M313	Macho	1 ano e 3 meses	18kg	ausente
F314	Fêmea	1 ano e 2 meses	16kg	.
F315	Fêmea	10 meses	16kg	.
M316	Macho	8 meses	17kg	ausente
F317	Fêmea	2 anos	16kg	.
M318	Macho	3 anos	18kg	Encapado
M319	Macho	5 anos	22kg	Desencapado
M320	Macho	6 anos	20kg	Desencapado

Durante os 30 dias subsequentes à captura, todos os animais foram acompanhados diariamente para observação de qualquer problema ainda decorrente da adaptação aos colares. Ao longo do período de coleta, o monitoramento presencial de cada animal foi feito pelo menos uma vez ao mês, sendo sua localização feita com o uso de receptor de VHF (TR2 - Telonics Inc.) e antena direcional de 3 elementos. Esse monitoramento teve o intuito de poder detectar possíveis eventos de morte durante o desenvolvimento do projeto e, se possível, avaliar visualmente o estado físico do animal (Figura 7D). O animal M319 veio a óbito em abril de 2012, sendo recuperados o colar GPS e o esqueleto do animal, cuja causa da morte não pôde ser definida (Figura 7A). O animal fora visualizado cerca de 20 dias antes da data de sua morte, sendo avaliado como fisicamente normal. O monitoramento mensal, além de

possibilitar a identificação do óbito, também propiciou a observação de filhotes junto às duas fêmeas marcadas, caracterizando clara adaptação dos animais ao colar.

Figura 7 - Esqueleto do animal morto em campo (A), macho capturado e marcado (B), procedimento de biometria (C) e fêmea monitorada (D)

2.2.2.2 Coleta de dados com colares GPS

As localizações individuais foram obtidas e armazenadas por colares GPS modelo LOTEK 6000SL. A programação dos colares foi estabelecida para tomada de localização a cada 13 horas, a fim de assegurar a distribuição dos pontos em todas as horas do dia. Essa coleta ocorreu do período de 1º de outubro de 2011 até 30 de setembro de 2012 (Tabela 3). Após o fim do período de coleta, os colares foram desprendidos dos animais por meio de seu sistema “drop-off” (queda remota) e encontrados por meio de seu transmissor VHF. Uma falha do sistema de rádio do macho M313 impediu a recuperação de seu colar e, consequentemente, de seus dados. O funcionamento e a coleta de pontos pelos colares foram satisfatórios para os 6 animais restantes, com um número reduzido de pontos não coletados ou descartados.

Tabela 3 - Período e número de localizações coletadas pelos colares GPS ao longo de todo o estudo

Animal	Programação Primária (a cada 13h)		
	Período	Esforço Amostral	
		Tempo	Nº Localizações
*M319	1º-10-2011 a 19-04-2012	*6,5 meses	*290
M320	1º-10-2011 a 18-09-2012	11,5 meses	626
F314	1º-10-2011 a 12-09-2012	11,5 meses	597
F317	1º-10-2011 a 30-09-2012	12 meses	566
M316	1º-10-2011 a 12-10-2012	12,5 meses	704
M318	1º-10-2011 a 24-09-2012	12 meses	612

.*O animal M319 veio a óbito.

2.2.2.3 Coleta de Fezes

O ponto central de captura dos animais foi utilizado como balizador para o estabelecimento de uma área de aproximadamente 400 ha (2 km x 2 km), que foi avaliada pelo DNA fecal. Essas dimensões possibilitariam, segundo os dados da literatura, abarcar com segurança toda a área utilizada por, pelo menos, um indivíduo, podendo abarcar mais de um também. Nessa área, foi estabelecida uma grade de coleta composta de 11 trajetos com 2 km de comprimento, paralelos e distantes 200 m entre si (Figura 8).

Figura 8 - Esquema do posicionamento da grade de amostragem fecal

O conjunto de trajetos foi percorrido mensalmente ao longo de um ano para coleta de amostras fecais. A coleta realizou-se com o apoio de uma cadela farejadora treinada para encontrar amostras de várias espécies de cervídeos. O cão trabalhou solto, sem guia, e percorreu não somente a trilha, mas a região ao redor do pesquisador também. A área efetiva de busca do cão foi considerada como uma faixa de 10 m de cada lado do trajeto realizado pelo pesquisador, faixa com alta probabilidade de encontro de amostras (OLIVEIRA et al., 2012). Assim, a área de amostragem mensal totalizou cerca de 45 ha. O mês de agosto foi o único prejudicado, não sendo possível completar a amostragem devido à lesão sofrida pelo cão farejador, que ficou impossibilitado de completar os trajetos.

A busca de fezes totalizou 830 amostras coletadas. Cada uma teve sua coordenada geográfica registrada e foi armazenada em tubos cônicos de 50 mL, com 20 gramas de sílica isoladas na parte inferior do tubo por uma barreira de papel-filtro, sendo mantida congelada (Figura 9). Usando esses dois métodos de conservação, dessecação por sílica e congelamento, esperou-se evitar ao máximo a degradação do DNA até à etapa de extração, segundo indicado por Beja-Pereira et al. (2009). As amostras fecais foram classificadas visualmente como “fresca” (com muco em volta, sem fungos e com a cor original, n= 59) ou “velha” (sem muco, escurecidas e/ou quebradiças, algumas com fungos, n= 771).

Figura 9 - Tubo de coleta e armazenamento das amostras (esquerda) e fezes frescas coletadas em campo (direita)

2.2.2.4 Identificação Molecular das Amostras Fecais

Para a análise molecular das amostras de fezes, primeiramente foi realizada a extração do DNA fecal pelo protocolo de sílica adaptado por Glenn et al. (2004) (Anexo A). Todas as etapas de extração e amplificação contaram com brancos para o controle de possíveis contaminações.

A identificação genética da espécie fez-se necessária, uma vez que na área de estudo é constatada a presença de outras espécies de cervídeos, além do veado-catingueiro, no caso o veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) e o veado-mateiro (*Mazama americana*). Para tanto, foi amplificada uma região de 224 pb do citocromo b com os iniciadores específicos IDMAZ-H e IDMAZ-220 desenvolvidos por González et al. (2009). Posteriormente, esse fragmento foi submetido à digestão pela enzima de restrição SspI, que gera um padrão de corte possível de diferenciar as espécies de cervídeos da área (GONZALEZ et al., 2009; SOUZA et al., 2013). O resultado foi visualizado em gel de agarose a 3% (Figura 10).

Figura 10 - Gel de agarose a 3% mostrando o resultado da hidrólise com a enzima de restrição. Controles positivos: Ma= *Mazama americana*; Mg= *Mazama gouazoubira*, e Oz= *Ozotoceros bezoarticus*

A individualização das amostras foi realizada com a genotipagem a partir de marcadores microssatélites. O primeiro passo foi definir o conjunto de loci a ser utilizado. Para tanto, foi realizada uma seleção dentre iniciadores desenhados especificamente para *M. gouazoubira* pelo laboratório de Genética Molecular do NUPECCE. Foram escolhidos 10 loci perante seu histórico de bom funcionamento, tamanho total (<250bp) e tamanho de repetição (tri e tetras preferencialmente). Para completar o conjunto, foi acrescido mais um locus heterólogo (RT09), utilizado em trabalhos anteriores, totalizando em 11 loci o conjunto escolhido para o presente trabalho (Tabela 4).

Tabela 4 - Conjunto de marcadores microssatélites utilizados

Lócus	Sequência do Iniciador	Tamanho (bp)	Repetição	T _A (°C)	Fluorescência
Goua3	F' AGTTGGGATCCTTTAGGCTG R' CCTGACATCCAGGTTTCTTG	~106	AAC	55	FAM
Goua7	F'GTCTGATCCAAATCTGAGGGTC R'TCATAGCATCCAAGGCAAATA	~140	CAT	55	HEX
Goua8	F'AAAGGAGATGTCAGGATATGGG R'ACTTGTTGATTTGCTGCTAT	~166	GTG	55	HEX
Goua10	F'TAGTGGGACGTTTGTGTTGTT R'TGGATCTTTGGAGAGGGTCTAA	~110	TTG	55	FAM
Goua16	F'GGGACAGTGATAAACTAGGTGT R'CTAATGAGATAGCAAAGTACGC	~190	TACA	55	NED
Goua19	F'GGCGATAGCTTGGTGTCATTA R'GCAGAGCATCAGTAGAGGTTCA	~134	TCTA	55	NED
Goua20	F'ACAACTGGAGAAAACCCTTGTG R'AGCCTTTAGAGATGTTCTGTTTGG	~189	ATAA	52	NED
Goua21	F'GAGTACAACAGCCATGCAGAGA R'CATTGGGGTTCACCTAGAGAAG	~162	CATA	52	HEX
Goua24	F'AAGAAGCTCAAACCTGCCTGTC R'TCTTATTTCCACCTCTTTCCCA	~152	ACA	55	FAM
Goua25	F'AGGACAACCATGCACCTACTTT R'ATCCCAGCTCCTTTTAACACAA	~177	CAT	55	FAM
RT09	F' TGAAGTTTAATTTCCACTCT R' CAGTCACTTTCATCCCACAT	~100	GT	55	FAM

T_A - temperatura de anelamento

O segundo passo constituiu em caracterizar o polimorfismo desses lócus na população de estudo para assegurar a capacidade de identificação do conjunto de marcadores. Para isso,

os 11 loci foram amplificados a partir de amostras de DNA de pelo de 15 animais capturados na mesma localidade, incluindo os 6 animais monitorados por GPS no presente estudo. A extração de DNA das amostras de pelo foi realizada de acordo com o protocolo de Sambrook et al. (1989), com adaptações (Anexo B).

Uma vez definido o conjunto de marcadores e seu polimorfismo, os primeiros testes com o DNA fecal foram realizados com 50 amostras advindas de diferentes meses de coleta. Foram testadas variações na temperatura de anelamento, diminuindo 2, 3 e 5°C em relação ao estabelecido para trabalho com DNA de pelo, tendo sido adotada a diminuição de 3°C para os trabalhos posteriores. A composição e o protocolo das reações de polimerase em cadeia (PCRs) também foram adaptados no sentido de facilitar a amplificação do DNA-alvo com aumento da concentração de cloreto de magnésio e BSA, assim como o aumento de 35 para 45 ciclos de amplificação (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Programa de amplificação utilizado para as PCRs

Passos	1	2	3	4	5	6
Temperatura	94°C	94°C	anelamento*	72°C	Voltar ao 2° passo 35/45 vezes**	72°C
Tempo	5 min	1 min	1 min	1 min		10 min

*temperatura específica para cada locus

**Foram 35 ciclos para DNA de pelo e 45 ciclos para DNA fecal

Tabela 6 - Composição das PCRs

Reagente	Citocromo-b	Microssatélites Pelos	Microssatélites Fezes
Primer F	1 pM	1 pM	1,4 pM
Primer R	1 pM	1 pM	1,4 pM
Taq (Platinum)	1,5 U	1 U	1,5 U
BSA	0,8 mg/uL	0,6 mg/uL	1 mg/uL
Tampão	1x	1x	1x
dNTP	0,4 mM	0,4 mM	0,6 mM
MgCl	2 mM	1.8 mM	3 mM
DNA	5 uL	45 ng	5 uL
Vol. final reação	25 uL	15 uL	15 uL

Os primeiros testes com 50 amostras permitiram escolher os marcadores com maior sucesso no DNA fecal, o qual foi em média 20% de amplificação. Os cinco melhores (Goua07, Goua03, RT09, Goua21 e Goua 24) foram então aplicados em todas as amostras identificadas como *M. gouazoubira*, sendo o marcador Goua07 insistido uma segunda vez em todas elas. Toda amostra que apresentou alguma amplificação em algum locus (universo de 65 amostras) foi repetidamente submetida à PCR, objetivando-se completar 3 réplicas nos 5 loci.

Duas modificações importantes foram testadas no intuito de melhorar o baixo sucesso de amplificação observado ao longo do trabalho. A primeira foi a extração de 40 amostras fecais com o kit de extração QIAmp® DNA Stool Mini Kit (Quiagen), seguindo o protocolo do próprio fabricante. Esse tipo de kit é amplamente utilizado em trabalhos com amostras não invasivas e poderia contornar algum problema relacionado à extração (BEJA-PEREIRA et al., 2009). A segunda tentativa foi a aplicação do protocolo de PCR “two-step” (PIGOTT et al., 2004). Esse protocolo adiciona uma etapa de pré-amplificação multiplex para depois ser realizada a PCR convencional, sendo considerada uma abordagem que aumenta o sucesso e a acurácia das amplificações (ARANDJELOVIC et al., 2009). Os referidos métodos foram testados e combinados perante sucessivas tentativas de amplificação com os 3 melhores marcadores.

Por fim, 960 PCRs fecais com amplificações constatadas em gel de agarose (~12% de sucesso) foram enviadas para leitura em sequenciador automático ABI 3730xl (Applied Biosystems Inc) no Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica (CREBIO/Unesp Jaboticabal). As reações para leitura foram compostas por 0,5 uL do marcador GeneScan 500 Rox (Applied Biosystems Inc) , 2 uL de produto de PCR e 7,5 uL de formamida ultra-pura. A análise das imagens e a determinação do tamanho dos fragmentos para a identificação dos alelos foram feitas por meio do programa GeneMapper® v4.1. (Applied Biosystems Inc.).

2.2.3 Análise dos Dados

2.2.3.1 Independência Espacial dos Dados de GPS

Uma premissa de alguns métodos estatísticos de análise de área de vida e seleção de habitat é que os pontos de localizações sucessivas sejam independentes, pois a autocorrelação dos dados poderia levar o modelo a um viés (SWIHART; SLADE, 1985; HARRIS et al.,

1990). O pressuposto de independência estabelece que o intervalo de coleta de pontos permita o deslocamento do animal para qualquer outro local de sua área de vida.

Para verificar o nível de autocorrelação espacial dos dados, foram realizadas 2 abordagens. A primeira observou diretamente a capacidade de deslocamento da espécie. Foram utilizados dados de um trabalho paralelo em andamento no NUPECE com os mesmos animais do presente estudo, em que está sendo verificado o padrão de atividade dos animais baseado em informações de deslocamento. Com base no deslocamento aferido em intervalos de coleta de 15 minutos, durante 6 dias, foi calculado o deslocamento total de cada indivíduo em todos os intervalos de 13 h desse período (n=59). Este valor foi comparado com o maior comprimento observado nas áreas de vida estimadas em um ano com o método MPC 95%. Constatada a capacidade, e até mesmo a frequência, de os animais se movimentarem mais que a máxima distância de suas áreas, sugere-se uma situação de independência no regime de coleta realizado (Figura 11).

Figura 11 - Comparação do deslocamento realizado pelos animais estudados em um intervalo de 13 h com a máxima distância de suas respectivas áreas de vida

A segunda análise foi a comparação das distâncias entre as localizações sucessivas com o regime de coleta de intervalo de 13 h e com o regime de coleta rarefeito para um intervalo de 26 h. A ausência de diferença entre os dois regimes ($p=0.7553$) confirma que o maior espaçamento temporal no regime de coleta não aumenta a possibilidade de o animal distanciar-se mais (Figura 12). Nesse sentido, optou-se por não descartar nenhuma localização

de GPS, validando o regime de coleta de 13 h e utilizando todos os pontos para as análises subsequentes.

Figura 12 - Comparação das distâncias entre localizações sucessivas sob dois regimes de coleta

2.2.3.2 Análise de Área de Vida por colares GPS

Os dados coletados pelos colares GPS foram analisados por meio do programa ArcView® GIS versão 10.1 (Environmental Systems Research Institute, Inc.) e de sua extensão Hawth's Analysis Tools. A estimativa da área de vida foi realizada por dois métodos: (1) Mínimo Polígono Convexo – MPC, considerando 100% e 95% das localizações independentes, sendo empregado, para o último, o método de média fixa, e (2) Kernel fixo, considerando 95% e 50% da densidade de probabilidade das localizações independentes, com largura da base do Kernel (h) estimada pelo método de “validação cruzada de quadrados mínimos” (Least Square Cross Validation – LSCV) (WORTON, 1987).

Com intuito de observar a estabilização dos valores de área de vida estimados, construiu-se uma curva cumulativa de área de vida para cada indivíduo. As curvas descreveram o incremento de área pelo método MPC 95% ao decorrer do aumento de localizações coletada, sendo sua estabilização um indicativo de suficiência amostral. Como método objetivo para verificar essa estabilização, foi ajustado à curva cumulativa um modelo de regressão não linear para se estimar os valores teóricos da assíntota. Assim, seguindo os

critérios sugeridos por Zucco (2015), seria confirmada a suficiência amostral se os dados coletados atingissem 95% da área estimada ou das localizações necessárias para se atingir a assíntota.

2.2.3.3 Análise de Seleção de Hábitat por GPS

A análise de seleção de hábitat considerou 5 categorias de hábitat: floresta, cerrado, campo cerrado, campo e baía. Foi seguido o ordenamento hierárquico de Johnson (1980), na direção de uma escala mais ampla para uma menor. Primeiramente, foi avaliada a alocação da área de vida perante o disponível na região de estudo (seleção de segunda ordem). No segundo momento, foi avaliado o exato uso dos habitats em relação ao disponível na área de vida (seleção de terceira ordem).

Para a análise de seleção de segunda ordem, a região de estudo foi definida pelo MPC-100% das localizações de todos os animais monitorados acrescida de um buffer de 1 km (Figura 13). As disponibilidades dos habitats dentro da área de estudo e dentro das áreas de vida (Kernel 95%) foram então contabilizadas. Para a análise de seleção de terceira ordem, foi contabilizada a distribuição das localizações nos diferentes habitats e a disponibilidade destes nas áreas de vida (Kernel 95%).

Para verificar se houve uso desproporcional entre as categorias de habitats e acessar em quais categorias isso ocorreu, foi utilizado o teste qui-quadrado de qualidade de ajustamento (“chi-square goodness-of-fit test”) e posterior estimativa do intervalo simultâneo de confiança de Bonferroni (BYERS et al., 1984; NEU et al., 1974). Foi considerado que houve seleção quando o uso foi desproporcional à disponibilidade, considerando o habitat “preferido” quando a proporção utilizada foi maior do que a disponível (JOHNSON, 1980; BYERS et al., 1984). Por outro lado, os componentes que foram usados muito abaixo de sua disponibilidade foram considerados “evitados”. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Figura 13 - Área de estudo e áreas de vida consideradas no estudo de seleção e hábitat

2.2.3.4 Análise Espacial das Amostras Fecais com a Espécie Identificada

As amostras identificadas no nível de espécie avaliaram a influência dos habitats na distribuição das amostras fecais, testando um possível viés desse tipo de amostragem em relação aos dados de GPS. As amostras do mês de agosto foram excluídas dessas análises pelo fato de a grade de amostragem fecal ter sido incompleta nesse mês.

A primeira abordagem consistiu em uma análise de seleção de hábitat independente, feito apenas com as fezes, onde as faixas mensais dos trajetos de amostragem fecal (45ha mensalmente) foram usadas como área disponível, e as fezes identificadas geneticamente ($n=649$) como uso observado (Figura 14). A segunda abordagem consistiu em uma comparação direta da distribuição dos pontos de GPS (esperada) com os pontos das fezes (distribuição observada) nos diferentes habitats. Para essa comparação, foram utilizadas apenas as fezes coletadas dentro das áreas de vida previamente estimadas por GPS ($n=320$) e apenas os pontos de GPS contidos dentro das faixas de amostragem fecal ($n=304$) (Figura 15). Para ambas as análises, a verificação se houve uso desproporcional entre as categorias de habitats em relação à disponibilidade, e acessar em qual categoria isso ocorreu, foi utilizado o

teste qui-quadrado de qualidade de ajustamento e posterior estimativa do intervalo simultâneo de confiança de Bonferroni com um nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 14 - Delineamento da análise de seleção de habitat utilizando somente a metodologia fecal

Figura 15 - Delineamento amostral da comparação entre as localizações das fezes e as dos animais monitorados por GPS

2.2.3.5 Individualização e Análise Espacial das Amostras Genotipadas

Objetivou-se que as reações com DNA fecal fossem realizadas em triplicata para determinação de inconsistências do processo de genotipagem fecal (perda de alelos e falsos alelos) como sugerem Pompanon et al. (2005). O genótipo consenso de cada amostra de fezes foi estabelecido ao atingir, pelo menos, duas cópias para um heterozigoto e 3 cópias para um homozigoto.

A confiança nos resultados de individualização é aferida pela probabilidade de identidade ($P_{(ID)}$, “probability of identity”), a qual representa a probabilidade de dois indivíduos compartilharem o mesmo perfil, para dados marcadores. Essa probabilidade foi estimada com base no cálculo com correção para tamanho de amostra (“unbiased $P_{(ID)}$ ”) proposto por Paetkau et al. (1998) e também pela correção sugerida por Waits et al. (2001), que leva em conta o parentesco ($P_{(I)sibs}$). A $P_{(ID)}$ foi calculada para todos os loci a partir do polimorfismo observado nos animais capturados, sendo a $P_{(ID)}$ total de uma identificação igual ao produto da probabilidade de cada locus que compõe a identificação. Utilizou-se do programa GIMLET v1.3.3 para todos os cálculos (VALIÈRE, 2002). As identificações foram consideradas confiáveis quando a $P_{(ID)}$ foi menor que 0.01 ou 0,05 (para $P_{(ID)sibs}$), como sugerida por Mills et al. (2000).

Sob as amostras individualizadas com segurança, foi aplicado um buffer de raio igual a 400 metros para se averiguar possíveis sobreposições de uso por diferentes animais, incluindo as áreas de vida estimadas com os dados de GPS. O valor deste raio foi baseado na menor área de vida observada por GPS (animal M318), sendo ele a metade do comprimento observado nela.

2.3 Resultados

2.3.1 Área de Vida por GPS

As curvas cumulativas obtidas mostraram estabilidade das áreas estimadas para todos os animais do estudo, segundo os critérios previamente estabelecidos (Figura 16 e Tabela 7).

Tabela 7 - Valores de estabilização da área de vida e esforço necessário

Animal	Área Estimada		Localizações Necessárias		Crítérios Atingidos
	95% da Assíntota	Observado	95% da Assíntota	Observado	
M319	43,51	46,33	302	250	sim
M320	69,255	67,08	110	589	sim
F314	74,4895	91,64	323	560	sim
F317	48,925	52,4	216	529	sim
M316	91,105	97,67	950	672	sim
M318	32,965	33,87	457	572	sim

Os valores de área de vida pelo método do MPC 95% variaram de 33 ha a 97 ha e pelo método Kernel com 95% das localizações variaram de 17 ha a 77 ha. Com a utilização de 50% das localizações com o estimador Kernel, também foi possível definir áreas núcleos dos animais, ficando estes valores com a média de 7,6 ha (Tabela 8). As distribuições e os contornos das áreas de vida estão nas Figuras 17 e 18. Destaca-se que a área de vida de dois machos (M320 e M319) e grande parte da área de vida de uma fêmea (F314) estiveram inseridas na grade de amostragem fecal (Figura 19).

Tabela 8 - Área de vida obtida pelos colares GPS para o veado-catingueiro

Animal	N	MPC (ha)		Kernel (ha) com LSCV		
		100%	95% (média fixa)	95%	50%	Fator h
M319	250	54,91	46,33	64,92	11,85	59,36
M320	589	172,91	67,08	64,76	8,83	61,05
F314	560	136,5	91,64	77,16	11,83	64,26
F317	529	56	52,4	52,33	5,87	54,42
M316	672	176,7	97,67	77,75	6,69	63,35
M318	572	160,5	33,87	17,12	0,98	35,75

Figura 16 - Curvas cumulativas de área de vida por esforço amostral e suas linhas de tendência para os indivíduos estudados

Figura 17 - Áreas de vida por todas as metodologias aplicadas nos dados de GPS

Figura 18 - Áreas de vida por todas as metodologias aplicadas nos dados de GPS

Figura 19 - Distribuição das áreas de vida dos 6 animais e dos trajetos de amostragem fecal.

2.3.2 Seleção de Hábitat por GPS

Em relação ao uso e seleção de hábitat, os animais alocaram suas áreas de vida conforme a disponibilidade dos hábitats na área de estudo ($P= 0.0728$, **Figura 20**). Sendo assim, a proporção de hábitat dentro da área de vida, em média, foi igual ao disponível no perímetro considerado como a área de estudo, não havendo seleção de segunda ordem. Já em relação à seleção de terceira ordem, a distribuição das localizações dos animais, em média, não foi igual à disponibilidade dos ambientes dentro das áreas de vida, havendo então seleção ($P<0,001$). Nessa escala, houve preferência pelos ambientes de cerrado e campo cerrado, e o ambiente de campo foi evitado. Os hábitats de floresta e baía foram utilizados em igual proporção ao disponível (Figura 20 e Tabela 9).

Figura 20 - Seleção dos tipos de hábitat pelo veado-catingueiro ao longo de um ano. O valor do X^2 indica se houve uso desproporcional em relação à disponibilidade, e os sinais ao lado das barras indicam o uso maior (+), e menor (-) do que o disponível avaliado através do intervalo simultâneo de confiança de Bonferroni para $p < 0,05$

Tabela 9 - Estimativas de seleção de hábitat para o nível hierárquico de 3ª ordem

Hábitat	Proporção Disponível	Proporção Utilizada	Intervalo de Bonferroni		Seleção	Prob.	GL
			Inferior	Superior			
Baía	0,0333	0,0361	0,0274	0,0448	Indiferente	($P > 0,05$)	4
Campo	0,5352	0,4442	0,4210	0,4673	Evita	($P < 0,0001$)	4
Campo Cerrado	0,1682	0,2020	0,1833	0,2208	Prefere	($P < 0,001$)	4
Cerrado	0,0855	0,1347	0,1188	0,1506	Prefere	($P < 0,0001$)	4
Floresta	0,1779	0,1830	0,1649	0,2010	Indiferente	($P > 0,05$)	4

2.3.3 Identificação Molecular das Amostras Fecais

Foram identificadas ao nível específico 745 amostras, sendo 670 de veado-catingueiro (*M. gouazoubira*, Figura 21) e 75 de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*). Essa quantia representa um sucesso de identificação de aproximadamente 90% das amostras.

Figura 21 - Trajetos de amostragem fecal, amostras coletadas e as espécies identificadas

A probabilidade de identidade aferida para o conjunto de marcadores em 15 animais da população foi bem satisfatória, conforme os índices sugeridos por Mills et al. (2000) e Waits et al. (2001) ao utilizar qualquer combinação de, pelo menos, 3 loci (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10 - Genótipos da população de estudo. *Animais monitorados por GPS

Lócus Microssatélites											
Animal	Goua7	Goua3	Goua10	RT09	Goua21	Goua25	Goua16	Goua24	Goua20	Goua8	Goua19
298	150150	110110	112136	100106	162162	177177	207211	152155	193197	169172	134138
299	136143	106110		106108	146154	177186	191219	158164	189189	166166	134134
300	140140	106110	112133	100110	159162	177180	211215	152158	197205	172172	134138
301	143143	106110		106106	162166	180183	195215	161164	189189	169172	134134
302	143150	106110	112112	100100	146162	177177		155155		169169	
303	143146	110110		100102	146170	180183	207219	152161	185185	166172	134134
307	146146	110110	109109	98104	150162	177180	119215	152161	193193	169169	134168
313	146146	110110	112133	100106	162162	180180	195211	164167	193205	169169	134168
F314*	140146	106110		100100	166166	174174	195223	161164	193197	169175	134160
315	143143	110110		98098	154166	174180	191219	164164	189193	154154	134134
M316*	140140	106110	112118	100100	154162	177177	191219	158158	189201	169172	134164
F317*	140146	110110		100102	154166	180180	191219	158161	178185	166169	134134
M318*	146146	106110	106112	104104	142154	177180	203207	152164	185193	169172	134172
M319*	146146		112130	98104	150162	180192	191219	164167	193193	169169	134134
M320*	143143	106110	121130	98100	162162	177183	191207	152155	197201	169172	134134

Tabela 11 - Caracterização de oito lócus microssatélites na população do pantanal

Lócus	N _a	EHW	H _E	H _O	P _(ID)	P _{(ID)sibs}
Goua7	5	0,0025	0,72	0,33	0,08848	0,4188
Goua3	2	0,0007	0,41	0,53	0,3938	0,6543
Goua10	8	0,5038	0,75	0,47	0,03279	0,3941
RT09	7	0,7156	0,76	0,6	0,04682	0,3919
Goua21	8	0,1355	0,77	0,73	0,04001	0,3871
Goua25	6	0,6069	0,71	0,6	0,09402	0,4288
Goua16	9	0,5106	0,85	0,93	0,01506	0,3353
Goua24	6	0,0462	0,81	0,8	0,03389	0,3602
Goua20	7	0,5207	0,8	0,6	0,03457	0,3677
Goua8	5	0,1841	0,66	0,53	0,1219	0,4646
Goua19	6	0,1388	0,42	0,47	0,2602	0,6253
Média	6	1	0,7	0,6	0,1055	0,4389

N_A, número de alelos; H_E, heterozigosidade esperada; H_O, heterozigosidade observada; P_(ID), probabilidade de identidade e P_{(ID)sib}, probabilidade de identidade com correção para parentesco. *Com exceção dos lócus Goua7, Goua3 e Goua24 (p<0.05), os demais estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EWH)

Quando aplicados às fezes, os cinco marcadores de maior sucesso resultaram em 35 amostras com um genótipo consenso para, pelo menos, um marcador (**Tabelas 12 e 13**).

Dessas, 4 amostras obtiveram consenso em 4 marcadores, 7 em 3 marcadores, e 12 em 2 marcadores. Foram identificadas 15 amostras com genótipo único através da presença de alelos exclusivos, outras 6 poderiam corresponder, respectivamente, a recapturas de 6 animais assim identificados. No entanto, todas essas apresentaram valores não confiáveis de identificação. As demais 14 amostras com consenso tiveram resultados ambíguos, podendo pertencer a qualquer genótipo identificado nas fezes ou nos pelos. Os métodos alternativos de extração por um kit comercial e a amplificação em duas etapas não renderam nenhuma melhora, e seu uso não foi ampliado no trabalho.

Tabela 12 - Sucesso de genotipagem e individualização para cada marcador

Lócus	Goua 07	Goua 03	Goua 21	Goua 24	RT 09
Amostras Genotipadas	66	31	25	23	22
Amostras sem Consenso	47	16	9	7	15
Amostras com Consenso	19	15	16	16	7

Tabela 13 - Genótipos consenso obtidos com os 5 melhores marcadores

Amostra	Lócus					Genótipos Únicos
	Goua 07	Goua 03	Goua 21	Goua 24	RT 09	
79	133140		154158			x
96		106110	150154			x
97		106110	150154			
99	136143	110110				x
248	136143					
257	133140					
314		102110				
315			150170	164176		
352					94096	
367	136143	106110	150170	152164		x
389	140146		150162	164167		x
470					96100	
513			162166		98100	x
576	136143		162162	152155		x
610		102106				
615	133140		150154	155155		x
619		106110				
624		102106	162162			x
635		106110	154158	152161		x
638	140143	106110		152155		
658	136143	106110	154154	152161		x
661		106110		152155		
662	140143					
664	136136	106110	154151	152161		x
666	136143					x
667	133136					
672				152164	102104	
673	140146		150162	158164		x
686					100108	
693	136143	102106	150162	152161		x
708	136143	102106		152155		x
716	136143					
722	136143		162162			
727				152155	100102	
760				152161	100104	

2.3.4 Análise Espacial das Amostras Fecais com a Espécie Identificada

A análise de seleção de habitat a partir das amostras fecais obteve resultado semelhante ao observado pela seleção de terceira ordem obtida com os dados de GPS. Observou-se uso desproporcional dos habitats em relação a sua disponibilidade ($p=0,001$, Figura 22), sendo

cerrado e campo, mais uma vez, preferidos e evitados, respectivamente (Tabela 14). A comparação direta entre a distribuição dos conjuntos de localizações por GPS e de fezes nos diferentes habitats revelou iguais distribuições ($p=0,1785$, Figura 22).

Figura 22 - Comparação entre a distribuição dos pontos coletados pelos colares GPS e pelas fezes (à esquerda). Análise de seleção de habitat apenas com as localizações de fezes (à direita). O valor de $p < 0,05$ indica se o observado diferiu do esperado

Tabela 14 - Estimativas de seleção de habitat para o veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) através da amostragem fecal

Seleção de Habitat - Amostragem Fecal							
Habitat	Proporção Disponível	Proporção Utilizada	Intervalo de Bonferroni		Seleção	Prob	GL
			Lower	Upper			
Baía	0,0205	0,0216	0,0069	0,0363	Indiferente	($P > 0,05$)	4
Campo	0,6083	0,5131	0,4626	0,5636	Evita	($P < 0,05$)	4
Campo Cerrado	0,1645	0,2003	0,1598	0,2408	Indiferente	($P > 0,05$)	4
Cerrado	0,0678	0,1356	0,1010	0,1702	Prefere	($P < 0,0001$)	4
Floresta	0,1389	0,1294	0,0955	0,1634	Indiferente	($P > 0,05$)	4

A distribuição das amostras de fezes dos genótipos únicos sugeriu um padrão de alta sobreposição de uso entre diferentes indivíduos. Todas as áreas estimadas para elas

apresentaram algum grau de sobreposição (**Figura 23**). Das áreas observadas, 4 amostras fecais são temporalmente, além de espacialmente, coincidentes com o animal M319 que morreu no meio do estudo.

Figura 18 - Sobreposição das áreas de vida estimadas pelas fezes e por GPS

2.4 Discussão

Buscando ser conservador nas abordagens realizadas, este trabalho manteve a preocupação de avaliar a independência das localizações nas análises de área de vida e seleção de habitat. Do contrário, historicamente, argumenta-se que a não independência amostral poderia enviesar tais análises (SWIHART; SLADE, 1985; THOMAS; TAYLOR, 1990; POWELL, 2000). A visão mais recente sobre a independência das localizações questiona sua necessidade (FIEBERG, 2007) e, muito pelo contrário, utiliza-se justamente da dependência entre as localizações para inferir sobre uso do ambiente e movimentação (BOYCE, 2010). Mais do que buscar a independência amostral, é postulado que os

delineamentos deveriam priorizar o aumento da regularidade em regimes que sistematizem a coleta por todo o período amostral, preocupação também aplicada no presente estudo (OTIS; WHITE 1999; KIE et al., 2010). Tendo tais diretrizes em mente e testando medidas biológicas coerentes, como o deslocamento, entende-se que o regime de coleta utilizado foi adequado e suficiente para os valores de área e seleção estimados.

O monitoramento apresentado foi o mais amplo já feito com *Mazama*, sendo observados valores de área de vida semelhantes aos poucos estudos existentes para a espécie (Tabela 15). No entanto, é preciso ressaltar que os estudos anteriores se caracterizam por um número baixo de animais (na maioria apenas único, com exceção de Marques e Santos-Júnior (2003), cujos animais foram translocados) ou curto tempo de monitoramento, o que fragiliza maiores comparações entre biomas e espécies. Apenas Antunes (2012) observou a mesma espécie, no mesmo sítio, mas obteve valores de uso menores que os dispostos aqui. O próprio autor, porém, discute o pouco tempo amostral e a falta de estabilização das áreas observadas.

Tabela 15 - Revisão de estudos de área de vida com o gênero *Mazama*

Estudo	Espécie	Bioma	Área de vida (MPC/ ha)	Tempo (meses)	N
Pinder, 1997	<i>M. gouazoubira</i>	Pantanal	150	18	1
Leeuwenberg et al., 1999	<i>M. gouazoubira</i>	Cerrado	97	4	1
Vogliotti, 2003	<i>M. gouazoubira</i>	Mata Atlântica	348	24	1
Marques e Santos-Júnior, 2003	<i>M. gouazoubira</i>	Cerrado	22-276	*	7
Antunes, 2012	<i>M. gouazoubira</i>	Pantanal	18-26	1/1/4/4	4
Marques e Santos Junior, 2003	<i>M. americana</i>	Cerrado	67	*	1
Maffei e Tabber, 2003	<i>M. americana</i>	Chaco	52	2	1
Vogliotti, 2003	<i>M. bororo</i>	Mata Atlântica	11-48	4/5	2
Atual	<i>M. gouazoubira</i>	Pantanal	33-97	6-12	6

*Tempo de monitoramento não encontrado.

A identificação de áreas-núcleo, com maior intensidade de uso, foi realizada por Vogliotti (2003) na Mata Atlântica (54 ha) e Antunes (2012) e Pinder (1997) no Pantanal (17/19ha). As áreas-núcleo identificadas nesse estudo confirmaram-se bastante restritas, compreendendo uma média de 7 ha, e um máximo de 11 ha. Entende-se que a extensão do espaço utilizado por herbívoros está intimamente ligada à produtividade local, sendo a alta

produtividade do Pantanal um fator importante para a manutenção de áreas de vida tão pequenas (LINDSTEDT et al., 1986; HARESTAD; BUNNEL, 1979; ALHO et al., 2011).

Poucos dos monitoramentos citados acima quantificaram os ambientes disponíveis e utilizados pelos animais. Leeuwenberg et al. (1999) descrevem o uso de fitofisionomias mais fechadas e ambientes antropizados para a espécie no cerrado. Pinder (1997) quantificou os habitats disponíveis e utilizados no pantanal concluindo que o veado-catingueiro evita vegetações abertas e seleciona ambientes arbustivos e de borda. Antunes (2012) também quantificou os habitats do estudo e mediu a alocação da área de vida e a proporção dos habitats utilizados. O trabalho encontrou seleção na alocação das áreas, porém não no uso delas. Para alocação das áreas, alguns indivíduos preferiram a floresta e o campo, outros rejeitaram a floresta, a baía e o campo cerrado. As análises realizadas no presente trabalho seguiram a metodologia utilizada por Antunes (2012) e, apesar de serem sobre a mesma população, contrastaram em relação ao resultado. Os dados observados aqui mostraram que apesar de não ocorrer seleção para a alocação da área de vida do veado-catingueiro, houve seleção na distribuição das localizações dentro da área de vida dos mesmos. Essa seleção evidenciou a preferência pelo cerrado e campo cerrado, mas indicou o campo como um ambiente evitado em relação ao disponível. A diferença dos dois trabalhos pode, em muito, decorrer do esforço utilizado em cada estudo (135 localizações em 2012 e 3.395 no atual trabalho).

Estudos baseados em outras técnicas também avaliaram o uso de habitat pelo veado-catingueiro. Oliveira-Santos (2009) utilizou armadilhas fotográficas e encontrou *M. gouazoubira* como único ungulado a ter sua presença positivamente associada aos ambientes com arbustos de médio porte. Já Desbiez et al. (2009), a partir de visualizações em trajetos, obtiveram que a espécie seleciona cerrados e bordas de floresta. Ambos os trabalhos foram realizados na mesma região do Pantanal que o presente estudo, porém falharam em detectar a presença da espécie no campo. Os registros do veado-catingueiro em campo aberto compuseram 5,9% das visualizações da espécie, sendo que o campo compunha 57% dos trajetos realizados (DESBIEZ et al., 2009). A não funcionalidade das armadilhas fotográficas em campo aberto, por si, já é um fator limitante, questão que levou o estudo a instalá-las somente em áreas florestais, com trilhas de animais. Os habitats ao redor das armadilhas, porém, foram contabilizados para análise, mas o campo não influenciou na presença do veado-catingueiro (OLIVEIRA-SANTOS, 2009).

O campo representou praticamente metade do uso observado (43%) e da composição das áreas de vida da espécie (53%), apesar de evitado, se comparado à sua disponibilidade. A análise de seleção de hábitat utilizando as fezes, ao contrário das outras técnicas, foi condizente com as observadas por colares GPS. A distribuição das fezes refletiu a intensidade de uso dos animais quanto aos hábitats e, principalmente, detectou a intensidade de uso do campo. Destaca-se também que as 75 fezes identificadas como de veado-campeiro se encontraram no ambiente de campo, como o esperado para a espécie, que está intimamente ligada a esse ambiente (GONZÁLEZ et al., 2010).

A discussão sobre a fidelidade do resultado obtido pelas fezes ocorre porque tal vestígio poderia estar sujeito a uma série de vieses. A degradação ou a detectabilidade diferenciada das fezes, conforme o ambiente ou a estação, poderia enviesar as observações (NORRIS; MICHALSKI, 2010; RIVERO et al., 2005). Por esses motivos, Rivero et al. (2005) evitaram realizar um estudo de seleção de hábitat das espécies *M. americana* e *M. gouazoubira* com as fezes e limitaram-se a analisar cada hábitat separadamente. Ao longo da atual amostragem, não foram observadas alterações aparentes no encontro das fezes pelo cão, conforme o ambiente ou estação, o que deve ter contribuído para o resultado semelhante ao obtido por GPS. A diferença de detectabilidade pode ter sido minimizada devido à superioridade de detecção com o uso de cães, cujo número de fezes encontradas é muito superior ao coletado por humanos (REED et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012). Por exemplo, o faro do cão farejador, diferentemente da visão humana, é imune a fatores como a densidade vegetal e a iluminação diferenciada entre ambientes.

No mesmo sentido dos fatores metodológicos, o comportamento dos animais poderia favorecer algumas questões espaciais ou representar um sério viés. As fezes como marcações olfativas são comuns em espécies territorialistas, e sua espacialização pode diferir, concentrando-se nas bordas de um território; em trilhas, quando a vegetação é muito densa, ou apenas nos núcleos de atividade, quando a área utilizada é muito extensa (GOSLING; ROBERTS 2001). Para os cervídeos do Hemisfério Norte é discutido se o ato de defecação não estaria ligado aos sítios de alimentação ou de repouso (COLLINS; URNESS, 1981; LOFT; KIE, 1988). Para os “Pequenos Cervídeos Florestais Solitários”, observa-se que a defecação, de fato, não é um comportamento aleatório, mas possui posturas corporais específicas e estaria ligada à marcação do território (BLACK-DÉCIMA, 2000). Para o veado-catingueiro, em uma situação de semicativeiro, Black-Décima (2000) relata mais marcação por machos do que por fêmeas, sendo a marcação masculina nas bordas dos territórios, e a

feminina, mais restrita às áreas núcleo. Os dados observados aqui sob a ótica do tipo de hábitat sugerem que a defecação dos animais segue a intensidade de uso do ambiente, o que estaria compatível com o observado para as fêmeas da espécie em relação às suas áreas de vida (BLACK-DÉCIMA, 2000). A individualização das amostras fecais geneticamente, em uma situação de vida livre, elucidaria de forma mais clara qual o padrão observado para o veado-catingueiro em relação à intensidade de uso das áreas de vida.

Somando a estratégia de marcação, é sugerido o uso de latrinas para o gênero *Mazama* (BLACK-DÉCIMA et al., 2010). Rivero et al. (2005) descrevem latrinas de 3-5 pilhas de fezes próximas, mas separadas para *M. americana* e *M. gouazoubira*, e Black-Décima e Santana (2011) observaram comportamento de contramarcação em *M. gouazoubira*, porém com raros eventos de marcação exatamente sobre a marca anterior. No presente trabalho, a distribuição das amostras fecais na área de estudo foi tão abrangente e com relativas raras amostras próximas, o que nos leva a questionar o uso predominante de latrinas no ato de defecação da espécie. A predominância de latrinas descrita em vida livre pode ser fruto de um viés amostral, uma vez que uma latrina é muito mais detectável que uma amostra sozinha.

Um avanço considerável no uso de amostras fecais foi a identificação individual a partir de genotipagens com marcadores microssatélites (TABERLET, 1997). Apesar de seu uso remeter há quase duas décadas e serem inúmeros os trabalhos realizados pelo mundo, o presente trabalho é apenas o sexto a ser realizado no Brasil (MIOTTO et al., 2012; MANTELLATTO, 2011; MICHALSKI et al., 2011; OLIVERIA; DUARTE, 2013; TRINCA et al., 2013). O sucesso encontrado aqui foi de 12% de amplificação e 5% de amostras identificadas. Oliveira e Duarte (2013) reportam um sucesso de amplificação de 45%, mas nenhuma amostra, de um total de 52, foi identificada. Michalski et al. (2011) obtiveram um sucesso de amplificação de 26%, com 2 amostras identificadas perante um total de 66. Trinca et al. (2013) reportaram que 33% das amostras (total de 220) foram identificadas, e Miotto et al. (2012), 52% (total de 75). Ambos os trabalhos, porém, não relatam o sucesso de amplificação para a obtenção desses resultados. Fica latente a falta de padronização da técnica para replicação nas regiões neotropicais perante o sucesso comum de mais de 80% de amplificação nuclear em demais trabalhos internacionais, muitos oriundos de regiões temperadas (REDDY et al., 2012; DEMAY et al., 2014)

Vários fatores influenciam no sucesso de amplificação, sendo a degradação do DNA e a inibição por PCR os principais empecilhos ao lidar com amostras não invasivas (BEJA-PEREIRA et al., 2009). Condições climáticas favoráveis e o correto armazenamento,

aparentemente, melhoram os resultados pela menor degradação ocorrida nessas situações (NSUBUGA et al., 2004; BRINKMAN et al., 2010). Adicionalmente, a presença de compostos secundários do metabolismo vegetal, oriundos de uma dieta herbívora, é reportada como forte inibidora de PCR (THORNTON; PASSEN, 2004). Entende-se que as condições da coleta do presente trabalho, envolvendo um herbívoro seletivo, com temperaturas chegando a máximas de 40°C e 92% de amostras consideradas velhas, estão longe de ser facilitadoras e podem ter sido os fatores decisivos no baixo sucesso laboratorial.

Apesar do baixo sucesso, optou-se por manter níveis de confiança corretos na individualização das amostras. O número de réplicas para obter um genótipo consenso e superar erros no processo de genotipagem (falsos alelos e perda de alelos) é uma etapa essencial que, caso não levada em consideração, pode levar a erros na genotipagem resultando em frequências alélicas alteradas e, principalmente, em aumento na homozigose. Em estimativas populacionais, os referidos erros podem afetar a identificação individual, levando à superestimação de até 200% o número populacional (POMPANON et al., 2005). Da mesma forma, a probabilidade de identidade pode levar a sérios vieses devido à identificação errônea, sendo sugerida a utilização de vários loci (MILLS et al., 2000). Diminuir o padrão de qualidade no processo de genotipagem resultaria em mais amostras com possíveis identificações, mas certamente comprometeria as análises subsequentes.

O baixo sucesso de amplificação e sua inconstância na obtenção de réplicas comprometeram o presente estudo e devem ser ainda intensamente trabalhados para sua viabilidade. Perante esse cenário, é imperativa a necessidade de dominar técnicas que têm sugerido melhores resultados, sendo a principal delas o PCR em tempo real (MORIN et al., 2001; BEJA-PEREIRA et al., 2009). As alternativas de método de extração e PCR “two-step” experimentadas no presente estudo, porém não testadas objetivamente, ainda podem representar avanços perante o avanço oferecido em outros estudos (PIGOTT et al., 2004; ARANDJELOVIC et al., 2009). Diferentes técnicas de extração e controle de inibidores em fezes de ruminantes também deveriam ser mais bem exploradas (THORNTON; PASSEN, 2004; WEHAUSEN et al., 2004; STENGLEIN et al., 2010). Por fim, é preciso ter premente o esforço, o custo e o número de amostras necessários frente ao objetivo e ao delineamento de trabalhos ecológicos que envolvam DNA fecal.

Com as fezes individualizadas, foi possível gerar áreas de uso teóricas dos indivíduos detectados. Apesar de exploratória e com claras limitações, essa análise sugeriu bastante sobreposição dos animais residentes na área de estudo. Essa informação é interessante no

sentido de que o gênero *Mazama* é tido como fortemente territorialista, e sugere-se que toda sua área de vida seria um território, apesar do baixo número de dados de campo avaliando, de fato, essa característica (BARRETTE, 1987; BLACK-DÉCIMA, 2000). Entende-se que, para o veado-catingueiro, as áreas de vida de indivíduos adultos do mesmo sexo não se sobrepõem, mas que a área de um macho comportaria áreas de mais de uma fêmea e que indivíduos subadultos são tolerados (BLACK-DÉCIMA et al., 2010). Mesmo que as amostras identificadas possam pertencer a jovens ou animais do sexo oposto, muitas áreas sobrepuseram-se. Cerca de 4 vezes diferentes, por exemplo, sobrepuseram-se às áreas de dois machos observados por GPS. Este fato torna-se mais interessante pelo fato de as vezes representarem um indicativo de marcação de território, o que sugeriria a idéia de sobreposição de áreas de vida sobre territórios alheios.

Maior tolerância na sobreposição de áreas de vida, restringindo o território, de uso exclusivo, às áreas-núcleo, pode emergir como um mecanismo envolvido na alta densidade em que o veado-catingueiro se encontra no local. As fêmeas observadas em semicativeiro, no trabalho de Black-Décima (2000) podem, por marcarem suas áreas-núcleo e não toda a extensão de área de vida, estar em situação semelhante. O territorialismo está ligado a menores áreas de vida, pois áreas maiores consomem muito mais energia em sua defesa, apesar da exclusividade no uso do recurso (GRANT, 1992). Na prática, mecanismos comportamentais como maior sobreposição de áreas de vida e a diminuição da extensão dessas áreas, estão intimamente ligados às altas densidade e produtividade (HARESTAD; BUNNEL, 1979; EAST, 1984; LINDSTEDT et al., 1986). É notória a densidade de ungulados no pantanal, sendo especificamente altas as densidades estimadas de veado-catingueiro na região (SCHALLER, 1983; DEZBIEZ et al., 2009; BLACK-DÉCIMA et al., 2010). Certamente, para se testar essa sobreposição, é necessário ampliar as identificações fecais para gerar áreas de uso mais refinadas, e dados de parentesco e sexagem, mas o resultado sugere rever o que seria de fato o território para *M. gouazoubira*.

Por fim, é preciso ressaltar que o presente trabalho objetivou a comparação entre colares GPS e amostras fecais sob o prisma de avaliar a qualidade e as possibilidades que tal amostragem não invasiva traria. Em nenhum momento se postula que tal amostragem será mais eficiente que as metodologias e análises de GPS já consagradas para estimar o uso do espaço e movimentação, uma vez que tais análises pressupõem coletas intensivas e a exata dimensão temporal das localizações (SPENCER, 2012). A amostragem não invasiva, porém, representa a única alternativa para diversos táxons cuja captura é praticamente impossível na

natureza e cujos indivíduos não podem ser identificados morfológicamente. Assim, seu uso não é uma questão de custo ou maior qualidade na informação. Para essas espécies, informações populacionais, como densidade, estrutura social, sobrevivência e uso do espaço, mesmo que em escalas grosserias, são inviáveis, e as fezes representam a possibilidade real de obtê-las. Tais informações são ferramentas úteis para a avaliação do status de conservação da espécie e para o planejamento de um manejo adequado (IUCN, 2001). Apesar do presente estudo ter obtido um número alto de amostras apenas com a identificação específica e poucas individualizadas, já foi possível obter informações ricas sem a necessidade de captura. O avanço das técnicas laboratoriais e a identificação em larga escala das fezes possibilitariam reais avanços no entendimento ecológico das espécies florestais no Neotrópico.

3 CONCLUSÕES

- O veado-catingueiro apresenta áreas de vida no Pantanal com utilização concentrada, dispostas conforme a disponibilidade de hábitat, mas utilizadas de forma seletiva em uma direção favorável ao Cerrado e ao Campo Cerrado.
- As fezes refletiram com a mesma intensidade, em termos de uso de hábitat, o observado por monitoramento GPS.
- É necessário aplicar e testar maior gama de técnicas laboratoriais que visem a melhorar o sucesso de genotipagem com DNA fecal.
- O território para o veado-catingueiro pode estar mais relacionado às áreas núcleo do que à área de vida como um todo, mas tal fato carece de maiores observações.

REFERÊNCIAS

- AJMAT, M.T.; CHAMUT, S.; BLACK-DÉCIMA, P. A histological study of cutaneous skin glands in the brown brocket deer. **Acta Theriologica**, Berlin, v. 49, n. 1, p. 93-102, 2004.
- ALDRIDGE, C.L.; BOYCE, M.S. Linking occurrence and fitness to persistence: habitat-based approach for endangered greater sage-grouse. **Ecological Applications**, Washington, v. 17, n. 2, p. 508-526, 2007.
- ALHO, C.J.R.; CAMARGO, G.; FISCHER, E. Terrestrial and aquatic mammals of the Pantanal. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 1, p. 297-310, 2011.
- ALLEN, J.R.; MCINENLY, L.E.; MERRILL, E.H.; BOYCE, M.S. Using resource selection functions to improve estimation of elk population numbers. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 72, n. 8, p. 1798-1804, 2008.
- ANDRIOLO, A.; RODRIGUES, F.P.; ZERBINI, A.; BARRIO, J. Population estimates. In: DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S. **Neotropical cervidology**. Jaboticabal: FUNEP, 2010. p. 119-132.
- ANTUNES, V.S. **Área de uso e seleção de habitats por veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814) no Pantanal da Nhecolândia-MS**. 2012. 74 p. Dissertação (Mestrado de Ecologia Aplicada) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- ARANDJELOVIC, M.; GUSCHANSKI, K.; SCHUBERT, G.; HARRIS, T. R.; THALMANN, O.; SIEDEL, H.; VIGILANT, L. Two-step multiplex polymerase chain reaction improves the speed and accuracy of genotyping using DNA from noninvasive and museum samples. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 9, n. 1, p. 28-36, 2009.
- BARRETTE, C. The comparative behaviour and ecology of chevrotains, musk deer and morphologically conservative deer. In: WEMMER, C.M. (Ed.). **Biology and management of the Cervidae**. Washington; London: Smithsonian Institution Press, 1987. pt. 1: Review papers and theoretical issues, p. 200-213.
- BEJA-PEREIRA, A.; OLIVEIRA, R.; ALVES, P.C.; SCHWARTZ, M.K. ; LUIKART, G. Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 9, n. 5, p. 1279-1301, 2009.
- BELLEMAIN, E.; SWENSON, J.E.; TALLMON, D.; BRUNBERG, S.; TABERLET, P. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected faeces: four methods for brown bears. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 150-161, 2005.
- BLACK, P.; VOGLIOTTI, A. *Mazama gouazoubira*. In: INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. **The IUCN red list of threatened species**: version 2015.2. 2008. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

BLACK-DÉCIMA, P. Home range, social structure, and scent marking behavior in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) in a large enclosure. **SAREM. Mastozoología Neotropical**, Argentina, v. 7, p. 5-14, 2000.

BLACK-DÉCIMA, P.; ROSSI, R.V.; VOGLIOTTI, A.; CARTES, J.L.; MAFFEI, L.; DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S.; JULIÁ, J.P. Brown brocket deer *Mazama gouazoubira* (Fischer 1814). In: DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S. **Neotropical cervidology**. Jaboticabal: FUNEP, 2010. p. 119-132.

BODMER, R.E. Ungulate biomass in relation to feeding strategy within Amazonian forests. **Oecologia**, Berlin, v. 81, n. 4, p. 547-550, 1989.

BONIN, A.; BELLEMAIN, E.; EIDSEN, P.B.; POMPANON, F.; BROCHMANN, C.; TABERLET, P. How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 13, n. 11, p. 3261-3273, 2004.

BOYCE, M.S.; PITT, J.; NORTHRUP, J.M.; MOREHOUSE, A.T.; KNOPFF, K.H.; CRISTESCU, B.; STENHOUSE, G.B. Temporal autocorrelation functions for movement rates from global positioning system radiotelemetry data. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 365, n. 1550, p. 2213-2219, 2010.

BRINKMAN, T.J.; SCHWARTZ, M.K.; PEARSON, D.K.; PILGRIM, K.L.; HUNDERTMARK, K.J. Effects of time and rainfall on PCR success using DNA extracted from deer fecal pellets. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 11, n. 4, p. 1547-1552, 2010.

BROQUET, T.; PETIT, E. Quantifying genotyping errors in noninvasive population genetics. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 13, n. 11, p. 3601-3608, 2004.

BROWN, J.L.; ORIAN, G.H. Spacing patterns in mobile animals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 1, n. 1, p. 239-262, 1970.

BURT, W.H. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. **Journal of Mammalogy**, Lincoln, v. 24, n. 3, p. 346-352, 1943.

BYERS, C.R.; STEINHORST, R.K.; KRAUSMAN, P.R. Clarification of a technique for analysis of utilization-availability data. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 48, n. 3, p. 1050-1053, 1984.

CABALLERO, M. **Comparación de la dieta de la urina (*Mazama gouazoubira*) durante las épocas lluviosa y seca en la zona del Izozog Santa Cruz, Bolivia**. 2001. 45 p. Tese (Tesis de Licenciatura) - Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz de la Sierra, 2001.

CAGNACCI, F.; BOITANI, L.; POWELL, R.A.; BOYCE, M.S. Animal ecology meets GPS-based radiotelemetry: a perfect storm of opportunities and challenges. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 365, n. 1550, p. 2157-2162, 2010.

COLLINS, W.B.; URNESS, P.J. Habitat preferences of mule deer *Odocoileus-Hemionus* as rated by pellet-group distributions. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 45, n. 4, p. 969-972, 1981.

CREEL, S.; SPONG, G.; SANDS, J.L.; ROTELLA, J.; ZEIGLE, J.; JOE, L.; MURPHY, K.M.; SMITH, D. Population size estimation in yellowstone wolves with error-prone noninvasive microsatellite genotypes. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 12, n. 7, p. 2003-2009, 2003.

DEMAY, S.M.; RACHLOW, J.L.; WAITS, L.P.; BECKER, P.A. Comparing telemetry and fecal DNA sampling methods to quantify survival and dispersal of juvenile pygmy rabbits. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 39, n. 2, p. 413-421, 2015.

DEMAY, S.; RACHLOW, J.L.; WAITS, L.; BECKER, P.A. Comparing telemetry and fecal DNA sampling methods to quantify survival and dispersal of juvenile pygmy rabbits. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 39, n. 2, p. 413-421, 2015.

DESBIEZ, A.L.J.; SANTOS, S.A.; TOMAS, W.M. Habitat partitioning and biomass of four species of deer in the central region of the Brazilian Pantanal. **IUCN Deer Specialist Group Newsletter**, Gland, v. 23, p. 8-16, 2009.

DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J.E. The surprising evolutionary history of South American deer. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Detroit, v. 49, p. 17-22, 2008.

DUARTE, J.M.B.; VOGLIOTTI, A.; GARCIA, J.E.; TALARICO, A.C.; RODRIGUES, F.P.; OLIVEIRA, E.J.F.; GONZÁLES, S.; MALDONADO, J.E. Distribution and abundance of the small red brocket deer (*Mazama bororo* DUARTE, 1996): is it an endangered species? In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR CONSERVATION BIOLOGY, 2005, Brasília. **Book of abstracts...** Brasília: UnB, 2005. p. 62.

EAST, R. Rainfall, soil nutrient status and biomass of large African savanna mammals. **African Journal of Ecology**, Pretoria, v. 22, n. 4, p. 245-270, 1984.

FIEBERG, J. Kernel density estimators of home range: smoothing and the autocorrelation red herring. **Ecology**, New York, v. 88, n. 4, p. 1059-1066, 2007.

FIEBERG, J.; BÖRGER, L. Could you please phrase “home range” as a question? **Journal of Mammalogy**, Lincoln, v. 93, n. 4, p. 890-902, 2012.

GAUTESTAD, A.O.; MYSTERUD, I. Intrinsic scaling complexity in animal dispersion and abundance. **The American Naturalist**, Chicago, v. 165, n. 1, p. 44-55, 2005.

GLENN, T.; BAVIS, R.; BOLLBACK, J. **DNA extraction protocols using silica**. Laboratory of molecular systematics MRC 534. Washington: Smithsonian Institution, [1998?]. Disponível em: <http://www.uga.edu/srel/DNA_Lab/protocols.htm>. Acesso em: 29 mar. 2004.

GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J.E.; ORTEGA, J.; TALARICO, A.C.; BIDEGARAY-BATISTA, L.; GARCIA, J.E.; DUARTE, J.M.B. Identification of the endangered small red brocket deer (*Mazama bororo*) using noninvasive genetic techniques (Mammalia; Cervidae). **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 9, p. 754-758, 2009.

GONZÁLEZ, S.; COSSÉ, M.; GÓSS BRAGA, F.; VILA, A.R.; MERINO, M.L.; DELLAFIORE, C.; CARTES, J.L.; MAFFEI, L.; DIXON, M.G. Pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus 1758). In: DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S. **Neotropical cervidology**. Jaboticabal: FUNEP, 2010. p. 119-132.

GOSLING, L.M.; ROBERTS, S.C. Scent-marking by male mammals: cheat-proof signals to competitors and mates. **Advances in the Study of Behavior**, Amsterdam, v. 30, p. 169-216, 2001.

GRANT, J.W.A.; CHAPMAN, C.A.; RICHARDSON, K.S. Defended versus undefended home range size of carnivores, ungulates and primates. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Berlin, v. 31, n. 3, p. 149-161. 1992.

HARESTAD, A.S.; BUNNELL, F.L. Home range and body weight: a re-evaluation. **Ecology**, New York, v. 60, n. 2, p. 389-402, 1979.

HARRIS, S.; CRESSWEL, W.J.; FORDE, P.G.; TREWHELLA, W. J.; WOLLARD, T.; WRAY, S. Home range analysis using radio-telemetry data: a review of problems and techniques particularly as applied to the study of mammals. **Mammal Review**, Oxford, v. 20, n. 2/3, p. 97-123, 1990.

HARRISON, R.L. A comparison of survey methods for detecting bobcats. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v. 34, n. 2, p. 548-552, 2006.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. **IUCN red list categories and criteria**: IUCN species Survival Commission; version 3.1. Gland, Cambridge, 2001. 30 p.

_____. **The IUCN red list of threatened species**: version 2015.2. Gland; Cambridge, 2015. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 24 jun. 2015.

JOHNSON, D.H. The comparison of usage and availability measurements for evaluating resource preference. **Ecology**, New York, v. 61, n. 1, p. 65-71, 1980.

KENKRE, V.M.; GIUGGIOLI, L.; ABRAMSON, G.; CAMELO-NETO, G. Theory of hantavirus infection spread incorporating localized adult and itinerant juvenile mice. **The European Physical Journal B**, Rome, v. 55, n. 4, p. 461-470, 2007.

KIE, J.G.; MATTHIOPOULOS, J.; FIEBERG, J.; POWELL, R.A.; CAGNACCI, F.; MITCHELL, M.S.; GAILLARD, J.M.; MOORCROFT, P.R. The home-range concept: are traditional estimators still relevant with modern telemetry technology? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B. Biological Sciences**, London, v. 365, n. 1550, p. 2221-2231, 2010.

KOHN, M.H.; WAYNE, R.K. Facts from feces revisited. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 12, n. 6, p. 223-227, 1997.

LACERDA, A.C.R. **Ecologia e estrutura social do veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) no Pantanal**. 2008. 194 p. Dissertação (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LEEUWENBERG, F.; OLIVEIRA-CABRAL, I.; LARA-RESENDE, S. Gray brocket deer (*Mazama gouazoubira*) in the Brazilian Savanna. **IUCN Deer Specialist Group News**, Gland, v. 15, p. 14, 1999.

LEEUWENBERG, F.J.; RESENDE, L.S.; RODRIGUES, F.H.G.; BIZERRIL, M.X.A. Home range, activity and habitat use of the pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* L., 1758 (Artiodactyla, Cervidae) in the Brazilian Cerrado. **Mammalia**, Paris, v. 61, p. 487-495, 1997.

LEWIS, M.A.; MURRAY, J.D. Modeling territoriality and wolf deer interactions. **Nature**, London, v. 366, n. 6457, p. 738-740, 1993.

LINDSTEDT, S.L.; MILLER, B.J.; BUSKIRK, S.W. Home range, time, and body size in mammals. **Ecology**, New York, v. 67, n. 2, p. 413-418, 1986.

LOFT, E.R.; KIE, J.G. Comparison of pellet-group and radio triangulation methods for assessing deer habitat use. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 52, n. 3, p. 524-527, 1988.

LONG, R.A.; DONOVAN, T.M.; MACKAY, P.; ZIELINSKI, W.J.; BUZAS, J.S. Effectiveness of scat detection dogs for detecting forest carnivores. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 71, n. 6, p. 2007-2017, 2007.

MANTELLATTO, A.M.B. **Estrutura social em fêmeas de veado- campeiro (*Ozotoceros Bezoarticus*) no Pantanal**. 2011. 80 p. Dissertação. (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2011.

MARQUES, S.R.; SANTOS-JUNIOR, T.S. Mamíferos terrestres de médio e grande porte. In: ALHO, C.J.R. **Conservação da biodiversidade da bacia do alto Paraguai: monitoramento da fauna sob impacto ambiental**. Campo Grande: Ed. Uniderp, 2003. p. 302-340.

MERINO, M.L.; ROSSI, R.V. Origin, systematics, and morphological radiation. In: DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ, S. **Neotropical cervidology**, Jaboticabal, FUNEP, 2010. p. 2-11.

MICHALSKI, F.; VALDEZ, F.P.; NORRIS, D.; ZIEMINSKI, C.; KASHIVAKURA, C.K.; TRINCA, C.S.; SMITH, H.B.; VYNNE, C.; WASSER, S.K.; METZGER, J.P.; EIZIRIK, E. Successful carnivore identification with faecal DNA across a fragmented Amazonian landscape. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 11, n. 5, p. 862-871, 2011.

MILLS, L.S.; CITTA, J.J.; LAIR, K.P.; SCHWARTZ, M.K.; TALLMON, D.A. Estimating animal abundance using non-invasive DNA sampling: promise and pitfalls. **Ecological Applications**, Washington, v. 10, n. 1, p. 283-294, 2000.

MIOTTO, R.A.; CERVINI, M.; BEGOTTI, R.A.; GALETTI JR, P.M. Monitoring a puma (*Puma concolor*) population in a fragmented landscape in Southeast Brazil. **Biotropica**, Washington, v. 44, n. 1, p. 98-104, 2012.

MORIN, P.A.; CHAMBERS, K.E.; BOESCH, C.; VIGILANT, L. Quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate microsatellite genotyping of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 10, n. 7, p. 1835-1844, 2001.

MUNERATO, M.S. **Avaliação da suplementação intranasal de oxigênio em diferentes protocolos anestésicos em veados-campero (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758) de vida livre**. 2012. 104 p. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita" Filho, Jaboticabal, 2012.

NEU, C.W.; BYERS, C.R.; PEEK, J.M. A technique for analyses of utilization-availability data. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 38, n. 3, p. 541-545, 1974.

NORRIS, D.; MICHALSKI, F. Implications of faecal removal by dung beetles for scat surveys in a fragmented landscape of the Brazilian Amazon. **Oryx**, Cambridge, v. 44, n. 3, p. 455-458, 2010.

NSUBUGA, A.M.; ROBBINS, M.M.; ROEDER, A.D.; MORIN, P.A.; BOESCH, C.; VIGILANT, L. Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape faeces and the identification of an improved sample storage method. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 13, n. 7, p. 2089-2094, 2004.

OLIVEIRA, M.L.; DUARTE, J.M.B. Amplifiability of mitochondrial, microsatellite and amelogenin DNA loci from fecal samples of red brocket deer *Mazama americana* (Cetartiodactyla, Cervidae). **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 44-52, 2013.

OLIVEIRA, M.L.; NORRIS, D.; RAMÍREZ, J.F.M.; PERES, P.H.F.; GALETTI, M.; DUARTE, J.M.B. Dogs can detect scat samples more efficiently than humans: an experiment in a continuous Atlantic Forest remnant. **Zoologia**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 183-186, 2012.

OLIVEIRA-SANTOS, L.G.R. **Ecologia e conservação de ungulados florestais em uma área do Pantanal**. 2009. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

OTIS, D.L.; WHITE, G.C. Autocorrelation of location estimates and the analysis of radio tracking data. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 63, n. 3, p. 1039-1044, 1999.

PAETKAU, D.; WAITS, L.P.; CLARKSON, P.L.; CRAIGHEAD, L.; VYSE, E.; WARD, R.; STROBECK, C. Variation in genetic diversity across the range of North American brown bears. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 12 p. 418-429, 1998.

PEREIRA, R.J.G.; DUARTE, J.M.B.; NEGRÃO, J.A. Seasonal changes in fecal testosterone concentrations and their relationship to the reproductive behavior, antler cycle and grouping patterns in free-ranging male Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, p. 2113-2125, 2005.

PERES, P.H.F. **A busca pela última população de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) do estado de São Paulo**. 2010. 46 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2010.

PIGGOTT, M.P.; BELLEMAIN, E.; TABERLET, P.; TAYLOR, A.C. A multiplex pre-amplification method that significantly improves microsatellite amplification and error rates for faecal DNA in limiting conditions. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 5, n. 3, p. 417-420, 2004.

PINDER, L. **Niche overlap among brown brocket deer, pampas deer and cattle in the Pantanal of Brazil**. 1997. 230 p. Dissertation (M.S.) - University of Florida, Gainesville, 1997.

PINDER, L.; LEEUWENBERG, F. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). In: DUARTE, J.M.B. (Ed). **Biologia e conservação de cervídeos sul americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama***. Jaboticabal: FUNEP, 1997. p. 60-68.

POMPANON, F.; BONIN, A.; BELLEMAIN, E.; TABERLET, P. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 6, n. 11, p. 847-846, 2005.

POMPANON, F.; DEAGLE, B.E.; SYMONDSON, W.O.C.; BROWN, D.S.; JARMAN, S.N.; TABERLET, P. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 21, n. 8, p. 1931-1950, 2012.

POWELL, R.A. Animal home ranges and territories and home range estimators. In: BOITANI, L.; FULLER, T.K. (Ed.). **Research techniques in animal ecology: controversies and consequences**. New York: Columbia University Press, 2000. p. 65-110.

POWELL, R.A.; MITCHELL, M.S. What is a home range? **Journal of Mammalogy**, Lincoln, v. 93, n. 4, p. 948-958, 2012.

PRUGH, L.R.; RITLAND, C.E.; ARTHUR, S.M.; KREBS, C.J. Monitoring coyote population dynamics by genotyping faeces. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 14, n. 5, p. 1585-1596, 2005.

PUTMAN, R.J. Facts from faeces. **Mammal Review**, London, v. 14, n. 2, p. 79-97, 1984.

_____. **The natural history of deer**. London: Christopher Helm, 1988. 191 p.

RAMOS, H.G.C.; MANTOVANI, J.E.; VOGLIOTTI, A.; PIOVEZAN, U.; BALTA, O.S.; ANDRIOLO, A. Radiotelemetry. In: DUARTE, J.M.B.; GONZÁLEZ S. **Neotropical cervidology: biology and medicine of Latin American deer**. Jaboticabal: FUNEP, 2010. p. 393.

REDDY, P.A.; BHAVANISHANKAR, M.; BHAGAVATULA, J.; HARIKA, K.; MAHLA, R.S.; SHIVAJI, S. Improved methods of carnivore faecal sample preservation, DNA extraction and quantification for accurate genotyping of wild tigers. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 10, p. 1-7, 2012.

REED, S.E.; BIDLACK, A.L.; HURT, A.; GETZ, W.M. Detection distance and environmental factors in conservation detection dog surveys. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 75, n. 1, p. 243-251, 2011.

RIVERO, C.K.; RUMIZ, D.L.; TABER, A.B. Differential habitat use by two sympatric brocket deer species (*Mazama gouazoubira* and *Mazama americana*) in a seasonal Chiquitano forest of Bolivia. **Mammalia**, Paris, v. 69, n. 2, p. 169-183, 2005.

RODELA, L.G. **Unidades de vegetação e pastagens nativas do Pantanal da Nhecolândia, Mato Grosso do Sul**. 2006. 222 p. Tese (Doutorado em Geografia) – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RODRIGUES, F.H.G.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Home range and activity patterns of pampas deer in Emas National Park, Brazil. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 81, p. 1136-1142, 2000.

RODRIGUES, T.F.; CERVEIRA, J.; DUARTE, J.M.B. Uso de áreas agrícolas por *Mazama gouazoubira* (Mammalia, Cervidae) no Estado de São Paulo. **Iheringia**, Série Zoologia, Porto Alegre, v. 104, n. 4, p. 439-445, 2014.

ROLLAND, R.M.; HAMILTON, P.K.; KRAUS, S.D.; DAVENPORT, B.A.R.B.A.R.A.; GILLET, R.M.; WASSER, S.K. Faecal sampling using detection dogs to study reproduction and health in North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*). **Journal of Cetacean Research and Management**, Washington, v. 8, n. 2, p. 121-125, 2006.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. v. 2, 77 p.

SCHALLER, G.B. Mammals and their biomass on a Brazilian ranch. **Arquivos de Zoologia**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 1-36, 1983.

SMITH, D.A.; RALLS, K.; HURT, A.; ADAMS, B.; PARKER, M.; MALDONADO, J.E. Assessing reliability of microsatellite genotypes from kit fox fecal samples using genetic and GIS analyses. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 15, n. 2, p. 387-406, 2006.

SMITH, D.A.; RALLS, K.; HURT, A.; ADAMS, B.; PARKER, M.; DAVENPORT, B.; SMITH, M.C.; MALDONADO, J.E. Detection and accuracy rates of dogs trained to find scats of San Joaquin kit foxes (*Vulpes macrotis mutica*). **Animal Conservation**, Cambridge, v. 6, n. 4, p. 339-346, 2003.

SORIANO, B.M.A.; OLIVEIRA, H.; CATTO, J.V.; COMASTRI-FILHO, J.A.; GALDINO, S.; SALIS, S.N. **Plano de utilização da Fazenda Nhumirim**. Corumbá: Embrapa, CPAP, 1997. 72 p.

SOUZA, J.N.; OLIVEIRA, M.L.; DUARTE, J.M.B. A PCR/RFLP methodology to identify non-Amazonian Brazilian deer species. **Conservation Genetics Resources**, Dordrecht, v. 5, n. 3, p. 639-641, 2013.

SPENCER, W.D. Home ranges and the value of spatial information. **Journal of Mammalogy**, Lincoln, v. 93, n. 4, p. 929-947, 2012.

STALLINGS, J.R. Notes on feeding habits of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. **Biotropica**, Washington, v. 16, p. 155-157, 1984.

STENGLEIN, J.L.; DE BARBARA, M.; AUSBAND, D.E.; WAITS, L.P. Impacts of sampling location with in a faeces on DNA quality in two carnivore species. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 10, n. 1, p. 109-114, 2010.

SWIHART, R.K.; SLADE, N.A. Testing for independence of observations in animal movements. **Ecology**, Tempe, v.66, p. 1176-1184, 1985.

TABER, A.B.; NOVARO, A.J.; NERIS, N.; COLMAN, F. The food habits of sympatric jaguar and puma in the Paraguayan Chaco. **Biotropica**, Washington, v. 29, n. 2, p. 204-213, 1997.

TABERLET, P.; WAITS, L.P.; LUIKART, G. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 14, n. 8, p. 323-327, 1999.

TABERLET, P.; GRIFFIN, S.; GOOSSENS, B.; QUESTIAU, S.; MANCEAU, V.; ESCARAVAGE, N.; WAITS, L.P.; BOUVET, J. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 24, n. 16, p. 3189-3194, 1996.

TABERLET, P.; CAMARRA, J.J.; GRIFFIN, S.; UHRES, E.; HANOTTE, O.; WAITS, L.P.; PAGANON, C.; BURKE, T.; BOUVET, J. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 6, n. 9, p. 869-876, 1997.

THOMAS, D.L.; TAYLOR, E.J. Study designs and tests for comparing resource use and availability. **The Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 54, p. 322-330, 1990.

THORNTON, C.G.; PASSEN, S. Inhibition of PCR amplification by phytic acid, and treatment of bovine fecal specimens with phytase to reduce inhibition. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 43-52, 2004.

TRINCA, C.S.; JAEGER, C.F.; EIZERIK, E. Molecular ecology of the Neotropical otter (*Lontra longicaudis*): non-invasive sampling yields insights into local population dynamics. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 109, n. 4, p. 932-948, 2013.

VALIÈRE, N. GIMLET: a computer program for analysing genetic individual identification data. **Molecular Ecology Resources**, Vancouver, v. 2, n. 3, p. 377-379, 2002.

VERSIANI, N.F. **Área de vida e uso de habitat por fêmeas de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) nos diferentes períodos reprodutivos, no Pantanal Sul-Matogrossense**. 2011. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

VOGLIOTTI, A. **História natural de *Mazama bororo* (Artiodactyla; Cervidae) através da etnozootologia, monitoramento fotográfico e rádio-telemetria**. 2003. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

_____. **Partição de habitats entre os cervídeos no Parque Nacional do Iguaçu**. 2008. 69 p. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

VYNNE, C.; MACHADO, R.B.; MARINHO-FILHO, J.; WASSER, S.K. Scat detection dogs seek out new locations of *Priodontes maximus* and *Myrmecophaga tridactyla* in Central Brazil. **Edentata**, Gland, v. 8, n. 10, p. 13-14, 2009.

VYNNE, C.; SKALSKI, J.R.; MACHADO, R.B.; GROOM, M.J.; J´ACOMO, A.T.A.; MARINHO-FILHO, J.; RAMOS NETO, M.B.; POMILLA, C.; SILVEIRA, L.; SMITH, H.; WASSER, S.K. Effectiveness of scat-detection dogs in determining species presence in a Tropical Savanna landscape. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 25, n. 1, p. 154-162, 2011.

WAITS, L.P.; PAETKAU, D. Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 69, n. 4, p. 1419-1433, 2005.

WAITS, L.P.; LUIKART, G.; TABERLET, P. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 10, n. 1, p. 249-256, 2001.

WANG, M.; GRIMM, V. Home range dynamics and population regulation: an individual-based model of the common shrew *Sorex ayaneus*. **Ecological Modelling**, Washington, v. 205, n. 3, p. 397-409, 2007.

WASSER, S.K.; DAVENPORT, B.; RAMAGE, E.R.; HUNT, K.E.; PARKER, M.; CLARKE, C.; STENHOUSE, G. Scat detection dogs in wildlife research and management: Applications to grizzly and black bears in the yellow head Ecosystem, Alberta, Canada. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 82, n. 3, p. 475-492, 2004.

WEBER, M.; GONZALEZ, S. Latin American deer diversity and conservation: a review of status and distribution. **Ecoscience**, Québec, v. 10, n. 4, p. 443-454, 2003.

WEHAUSEN, J.D.; RAMEY, R.R.; EPPS, C.W. Experiments in DNA extraction and PCR amplification from bighorn sheep faeces: the importance of DNA extraction method. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 95, n. 6, p. 503-509, 2004.

WILSON, D.E.; REEDER, D.M. **Mammal species of the world**: a taxonomic and geographic reference. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2005. 2142 p.

_____. A review of models of home range for animal movement. **Ecological Modelling**, Washington, v. 38, n. 3, p. 277-298, 1987.

WORTON, B.J. Kernel methods for estimating the utilization distribution in home-range studies. **Ecology**, New York, v. 70, n. 1, p. 164-168, 1989.

ZUCCO, C.A. **Pampas deer on the move**: spatial ecology and activity of *Ozotoceros bezoarticus* in the Central Pantanal of Brazil. 2015. 231 p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

ZUCCO, C.A.; MOURÃO, G.M. Low-cost global positioning system harness for Pampas deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 73, p. 452-457, 2009.

ANEXOS

Anexo A

Protocolo de Extração por Sílica

1. Adicione 1 síbala e **1 mL** do tampão de extração em um tubo de 1,5 mL.
2. Incubar a **60°C** por uma hora, agitando esporadicamente.
3. Centrifugue (**1 min. a 12.000 rpm**) e transfira **500 µL** do sobrenadante para um novo tubo. (cuidado para não pipetar fezes)
4. Adicione **500 µL** do tampão de extração e **40 µL** da solução de sílica.
5. Espere 10 min em temperatura ambiente.
6. Agite no vórtex para misturar a sílica e centrifugue por **20 s a 12.000 rpm**. Descarte o sobrenadante.
7. Adicione **1 mL** do tampão de lavagem, agite no vórtex, centrifugue por **20 s a 12.000 rpm** e descarte o sobrenadante.
8. Repita o passo 7.
9. Adicione **1 mL** de etanol a 70% , agite no vórtex, centrifugue por **20 s a 12.000 rpm** e descarte o sobrenadante.
10. Repita o passo 9.
11. Deixe o pellet secar (aproximadamente 3 horas).
12. Ressuspenda o pellet em **75 µL de TE** (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA).
13. Agite no vórtex e incube overnight a **55°C**.
14. Agite no vórtex. Centrifugue por **2 min a 12.000 rpm**. Transfira o sobrenadante para um novo tubo.
15. Adicione **75 µL de TE**, centrifugue por **2 min a 12.000 rpm**. Transfira o sobrenadante para um novo tubo. Se uma quantidade significativa de sílica for arrastada para o novo tubo, centrifugue novamente e transfira o sobrenadante.
16. Armazenar a 4°C (poucos dias) ou -20°C(muitos dias).

Anexo B

Protocolo de Extração de Sangue e Tecidos

1. Coletar 100 mg de tecido.
2. Adicionar 1 mL de TTKM e centrifugar por 5 minutos a 5.000 rpm.
3. Descartar o sobrenadante e repetir o passo 2.
4. Descartar o sobrenadante.
5. Ressuspender o precipitado com:
 - a. 80 μ L de 5 x tampão de proteinase k;
 - b. 20 μ L de solução de proteinase k;
 - c. 40 μ L de SDS a 10%;
 - d. 260 μ L de água;
6. Agitar o tubo e incubar overnight a 60°C.
7. Centrifugar 5 minutos a 10.000 rpm.
8. Separar o sobrenadante em um tubo limpo.
9. Extrair com um volume de fenolclorofórmio.
10. Centrifugar 15 min a 14.000 rpm.
11. Coletar a fase aquosa e colocar em outro tubo.
12. Extrair com 1 volume de clorofórmio.
13. Centrifugar 15 min a 14.000 rpm.
14. Coletar a fase aquosa e colocar em outro tubo.
15. Precipitar o DNA adicionando 0.1 volume de acetato de sódio 3M e 2 volumes de etanol absoluto(100%).
16. Centrifugar 15 min a 14.000 rpm.
17. Lavar o precipitado com etanol a 70%.
18. Centrifugar 5 min a 10.000 rpm.
19. Secar o precipitado.
20. Dissolver o precipitado em 50 μ L.