



# NOVA OCORRÊNCIA DE *MAZAMA AMERICANA* EM FRAGMENTO DE FLORESTA ESTACIONAL SEMI - DECIDUAL NO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO.

M. L. Oliveira

A. M. Mantellatto; P. H. F. Peres; J. M. B. Duarte

Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, FCAV/UNESP, V. Ac. Paulo Donato Castellane s/n, 14884 - 900, Jaboticabal, SP, Brasil. Phone number: 55 16 3209 - 2678-oliveiraml@terra.com.br

## INTRODUÇÃO

A IUCN enquadra a espécie *Mazama americana* na categoria “Dados Deficientes”, reconhecendo a necessidade de mais estudos sobre sua história natural. A taxonomia desta espécie ainda é incerta quanto ao número de subespécies ou até mesmo quanto ao desdobramento destas subespécies para espécie (Duarte, 1998). Evidências citogenéticas sugerem a existência de sete citótipos de *M. americana*: Rio Negro, Manaus, Jarí, Acre, Rondônia, Carajás e Rio Paraná (Duarte; Jorge, 1998). Existe grande probabilidade de estas variantes cariotípicas serem espécies válidas e nesse caso a conservação de cada uma delas, independentemente, se torna relevante. Um desses citótipos abarca as populações de veados - mateiro da bacia do rio Paraná, especialmente nos remanescentes da Floresta Estacional Semidecidual. Uma vez que esse ecossistema está em crítica ameaça de extinção, essa espécie pode também estar em situação de eminente risco de extinção, merecendo esforços relevantes para sua conservação. Sendo assim, urge detectar a ocorrência desta espécie nos remanescentes florestais e refinar sua distribuição geográfica.

## OBJETIVOS

Detectar a ocorrência da espécie *Mazama americana* através de metodologia não invasiva

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

A pesquisa foi realizada em um fragmento de floresta estacional semidecidual primária e secundária, de 660 ha, localizado no município de Cajuru, estado de São Paulo (21º 25' S e 47º 16' W). Trata-se de um fragmento de formato irregular localizado às margens do rio Cubatão (afluente do rio Pardo), em duas colinas, e circundado por uma matriz agrícola composta principalmente por cana-de-açúcar e

pasto. Nas proximidades encontram-se outros fragmentos, todos com tamanhos menores.

### Coleta das Amostras

A coleta de fezes foi feita diariamente de maneira intensiva para se alcançar o total de amostras almejado, no menor período de tempo possível. Essa coleta utilizou-se um cão farejador de propriedade do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, treinado para este fim, percorrendo transectos no interior do fragmento de maneira a realizar uma amostragem completa da área.

O local de coleta de cada amostra teve a sua coordenada geográfica anotada para posterior georreferenciamento. As amostras foram armazenadas, durante as expedições no interior do fragmento, em tubos de centrifuga com tampa de rosca (50 ml). Na base de campo, foi adicionado etanol absoluto aos tubos.

As amostras foram classificadas visualmente em frescas (com muco em volta, sem fungos e com a cor original), intermediárias (sem muco, sem fungos e escurecidas) e velhas (sem muco, com fungos e escurecidas).

### Extração do DNA

A extração do DNA fecal foi realizada utilizando-se do kit de extração QIAamp® DNA Stool Mini Kit, seguindo protocolo do próprio fabricante.

### Identificação da Espécie

Um fragmento de 224 pb do gene citocromo b foi amplificado por meio de PCR, com iniciadores capazes de amplificar amostras de todas as espécies do gênero *Mazama*, desenhados por Gonzalez *et al.*, (2004). Após a amplificação, os produtos de PCR de 224 pb foram corados com GelRed™ (Biotium), submetidos à eletroforese em gel de agarose 2% e, sob transiluminador de luz ultravioleta, fotodocumentados.

Após a confirmação da amplificação, os produtos foram submetidos à hidrólise com as enzimas de restrição SspI e AflIII. Essas enzimas promovem o corte específico do fragmento de 224 pb em fragmentos de tamanhos diferentes, que resultam na identificação das espécies (Gonzalez *et al.*, 2004). Após a digestão, os fragmentos foram corados com GelRed™ (Biotium), analisados por eletroforese em gel de agarose 3%, e

visualizados sob luz ultravioleta. O resultado foi fotodocumentado.

## RESULTADOS

Após 39 dias de incursões ao campo, totalizando 159 horas de busca efetiva, foram coletadas 52 amostras fecais por toda área de estudo, com exceção dos locais inacessíveis ao cão, devido à presença de muitos espinhos e rochas pontiagudas no solo. Estas amostras tinham idade variando entre as categorias “frescas” a “velhas”.

Obteve - se sucesso no processo de PCR em apenas 59% das amostras (31 amostras), provavelmente devido à presença de inibidores presentes em plantas ingeridas por estes animais. Após submeter estas amostras à digestão com as enzimas de restrição SspI e AflIII, foi possível identificar que todas pertenciam à espécie *Mazama americana*, não sendo constatada nenhuma outra espécie.

A idade das amostras apresentou correlação negativa fortíssima ( - 0,99) com o sucesso na amplificação.

## CONCLUSÃO

Confirma - se na área a presença da espécie *Mazama americana*.

Quanto mais frescas as amostras, mais sucesso haverá no processo de PCR.

## REFERÊNCIAS

Duarte, J. M. B. Et al. Reestruturação taxonômica do gênero *Mazama* no Brasil através de características genéticas e morfológicas. in Duarte, J. M. B. Botucatu, Instituto de Biociências-UNESP. Tese de Doutorado. 1998.

Duarte, J. M. B. & Jorge, W. Descrição morfológica e citogenética de uma nova espécie brasileira de *Mazama* (*Mazama intermedia*), in Duarte, J. M. B. Botucatu, Instituto de Biociências-UNESP. Tese de Doutorado. 1998.

Gonzalez, S. *et al.*, Determinación de *Mazama bororo* utilizando métodos no - invasivos. In: VI Congreso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonía y Latinoamérica, Iquitos p. 102, 2004.