

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO
E MANEJO DE VIDA SILVESTRE

**CONSERVAÇÃO DA ONÇA-PINTADA (*PANTHERA ONCA* LINNAEUS,
1758) NA MATA ATLÂNTICA DE TABULEIRO DO ESPÍRITO SANTO**

ANA CAROLINA SRBEK DE ARAUJO

ORIENTADOR: PROF. DR. ADRIANO GARCIA CHIARELLO

FEVEREIRO DE 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, CONSERVAÇÃO
E MANEJO DE VIDA SILVESTRE

**CONSERVAÇÃO DA ONÇA-PINTADA (*PANTHERA ONCA* LINNAEUS,
1758) NA MATA ATLÂNTICA DE TABULEIRO DO ESPÍRITO SANTO**

Ana Carolina Srbek de Araujo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida
Silvestre da Universidade Federal de Minas Gerais
como requisito à obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Garcia Chiarello

Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de
São Paulo

FEVEREIRO DE 2013

Aos grandes felinos, em especial à onça-pintada,
e a todos os pesquisadores que se dedicam à
conservação destes fascinantes predadores.

AGRADECIMENTOS

As pessoas costumam dizer que produzir uma tese é um parto. Eu prefiro dizer que a minha tese é o fruto de um relacionamento iniciado há anos e que certamente não se encerrará com a conclusão desta etapa. Houve momentos de crise, como há em todo relacionamento, mas os bons momentos e o objetivo final do trabalho - contribuir para a conservação das onças-pintadas - me incentivaram a superar os obstáculos e as dificuldades. Nesta trajetória, muitos foram os colaboradores e há muito a agradecer.

Primeiramente, eu agradeço a Deus, pela dádiva da Vida e pelo “atrevimento” da Biodiversidade, mas também pela realização de um sonho: estar próxima às onças-pintadas.

À minha Família, por me apoiar em minhas escolhas, mesmo que elas representassem minha ausência em vários momentos. À minha Mãe, pela amizade e amor. Ao meu Pai, pela experiência de vida. Aos meus Avós, por tudo o que sou. Ao meu Irmão, pelo exemplo de perseverança na busca por seus sonhos. Aos meus tios e primos, pelo apoio e amizade.

Aos Amigos, de sempre e de agora, pelo simples fato de existirem e estarem sempre ao meu lado, mesmo que à distância.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Adriano Garcia Chiarello, pela longa caminhada até aqui e pela confiança em mim depositada, mais uma vez. Obrigada também por apostar em minhas ideias, mesmo que inicialmente elas parecessem um pouco desvairadas, e por me permitir trabalhar com liberdade.

À minha Tutora, Doutora Cecília Martins Kierulff, pelo incentivo, apoio e amizade. Obrigada também pela inestimável ajuda com o Programa VORTEX e pela revisão dos textos.

Ao Professor Doutor Eduardo Eizirik e à Doutora Taiana Haag, por aceitarem a parceria e me acolherem em seu laboratório, dividindo comigo o trabalho e o mérito das análises genéticas.

Ao Professor Doutor Marcos Pezzi Guimarães, por abrir as portas do seu laboratório para mim, e, em especial, à Juliana Lúcia Costa Santos e Viviane Medeiros pela ajuda com as análises parasitológicas.

Ao Doutor Samuel Enrique Astete Perez, pelo incentivo e fundamental ajuda nas análises populacionais empregando o Programa MARK.

Aos membros da banca de avaliação da tese, pela disponibilidade em participar do processo e por contribuírem para a qualidade do trabalho.

Aos colegas de trabalho em Linhares e todos os companheiros de campo ao longo destes primeiros oito anos de estudo, pelo fundamental apoio, amizade e dedicação, em especial a José Simplício dos Santos (Zezão), Braz Guerini, Jesuíno Barreto (Zuíno), Hermano José Del Duque Júnior, Eduardo de Rodrigues Coelho e toda equipe do Hotel da Reserva Natural Vale.

À equipe de Proteção Ecológica da Reserva Natural Vale e da Reserva Biológica de Sooretama, por combaterem ameaças e protegerem estes tesouros da Mata Atlântica capixaba.

À Vale, pelo total suporte ao estudo, em especial a Renato Moraes de Jesus, por nos permitir iniciar esta jornada, e a Luiz Felipe Campos, por apoiar a continuidade do projeto.

A todos os que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, positiva ou negativamente, para que este momento se realizasse.

Às onças-pintadas, pela motivação e pela paixão que elas fazem aflorar em mim.

Muito Obrigada!

“Que será dos homens sem os animais? Se todos os animais desaparecerem, o homem morrerá de solidão espiritual.”

Trecho da Carta “Manifesto da Terra-Mãe”, escrita em 1854 pelo chefe Seattle, da tribo Suquamish (estado de Washington), depois que o Governo propôs a compra do território ocupado por eles.

ÍNDICE

APRESENTAÇÃO	1
RESUMO	6
ABSTRACT	8
CAPÍTULO 1: Influência do desenho amostral na taxa de captura e na estrutura da comunidade de mamíferos registrada a partir de armadilhas fotográficas no sudeste do Brasil	10
CAPÍTULO 2: Parâmetros populacionais, ecologia espacial e interações sociais da onça-pintada (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) na Reserva Natural Vale, sudeste do Brasil	51
CAPÍTULO 3: Diversidade genética de uma pequena e isolada população de onças-pintadas (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) em remanescente de Mata Atlântica costeira no sudeste do Brasil	126
CAPÍTULO 4: Parasitos intestinais em uma população silvestre de onça-pintada (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil	158
CAPÍTULO 5: Atropelamento de onça-pintada (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) em rodovia federal no Espírito Santo, sudeste do Brasil, e implicações para a conservação da espécie	176
CAPÍTULO 6: Análise de Viabilidade Populacional da onça-pintada (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) no Espírito Santo: ameaças x ações de manejo	191
ANEXO FOTOGRÁFICO	216

APRESENTAÇÃO

A onça-pintada é o maior felino das Américas, estando sua área de ocorrência atual restrita a menos da metade de sua distribuição original. Na Mata Atlântica brasileira, que consiste em um dos biomas mais ameaçados do planeta, a situação da espécie é extremamente crítica. Sua presença foi recentemente confirmada em apenas oito regiões / localidades no bioma e as subpopulações remanescentes encontram-se em declínio.

No Espírito Santo, a onça-pintada está reduzida a uma única população, localizada na porção norte do estado, estando restrita ao bloco Linhares / Sooretama. Este está composto pela Reserva Natural Vale e pela Reserva Biológica de Sooretama, que juntas representam quase 10% da área com cobertura florestal remanescente no Espírito Santo, sendo necessária a adoção de medidas urgentes para conservação da espécie na região.

A presente tese, “Conservação da Onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) na Mata Atlântica de Tabuleiro do Espírito Santo”, está composta por cinco capítulos temáticos, a partir dos quais é avaliada a variação na detectabilidade das espécies de mamíferos em amostragens empregando-se armadilhas fotográficas e realizada a caracterização da população de onças-pintadas presente na Reserva Natural Vale, apontando as principais ameaças à conservação da espécie na região. Os capítulos temáticos estão estruturados como artigos científicos, com exceção do último, que consiste em uma comunicação científica. O segundo capítulo temático está organizado como um manuscrito mais completo, com o objetivo de melhor contribuir para o entendimento do estudo como um todo, e deverá ser ajustado quando da preparação da versão que será submetida à publicação. Após os capítulos temáticos, é apresentado um capítulo final, integrador dos conteúdos abordados nos capítulos

anteriores, no qual é analisada a viabilidade da população em estudo e apresentados os resultados potenciais das ações que compõem a estratégia de manejo proposta para conservação da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama em longo prazo.

Os capítulos que compõem a presente tese são:

Capítulo 1: Influência do desenho amostral na taxa de captura e na estrutura da comunidade de mamíferos registrada a partir de armadilhas fotográficas no sudeste do Brasil

Título original do artigo: *"Influence of camera-trap sampling design on mammal species capture rates and community structures in southeastern Brazil"*

Avalia os registros obtidos a partir de armadilhas fotográficas, considerando a limitação dos dados para a realização de estimativas de abundância de espécies cujos indivíduos não podem ser individualizados, incluindo a análise de aspectos relacionados à variação na detectabilidade das espécies.

Capítulo 2: Parâmetros populacionais, ecologia espacial e interações sociais da onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) na Reserva Natural Vale, sudeste do Brasil

Investiga parâmetros populacionais (número de indivíduos, proporção macho-fêmea, recrutamento de espécimes, entre outros aspectos), determina a área de vida mínima e o padrão de distribuição dos indivíduos registrados, e descreve as interações sociais (sobreposição de áreas de vida, sucessão entre machos, etc.) que caracterizam a população de onças-pintadas presente na Reserva Natural Vale com base em dados obtidos a partir de armadilhamento fotográfico. Neste capítulo são discutidos também os fatores que mantêm a população local e que definem sua composição e distribuição

na área de estudo, destacando as ameaças representadas pelas atividades de caça realizadas na região.

Capítulo 3: Diversidade genética de uma pequena e isolada população de onças-pintadas (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) em remanescente de Mata Atlântica costeira no sudeste do Brasil

Título original do artigo: "*Genetic Diversity of a small and isolated population of jaguars (Panthera onca Linnaeus, 1758) in a Coastal Atlantic Forest remnant in Southeastern Brazil*"

Avalia a variabilidade genética da população de onças-pintadas na Reserva Natural Vale, a partir de método não invasivo de obtenção de DNA (amostras fecais), realizando a comparação entre esta e as outras populações estudadas na Mata Atlântica até o momento, com a inclusão de proposta de manejo visando o resgate genético da espécie a partir de ação integrada com outras populações do bioma.

Capítulo 4: Parasitos intestinais em uma população silvestre de onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil

Caracteriza a comunidade de parasitos intestinais identificados para a onça-pintada na Reserva Natural Vale a partir da análise de amostras fecais, empregando os resultados obtidos como um indicador de saúde da população em estudo.

Capítulo 5: Atropelamento de onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) em rodovia federal no Espírito Santo, sudeste do Brasil, e implicações para a conservação da espécie

Relata o atropelamento de uma onça-pintada na Rodovia BR-101 em trecho localizado entre a Reserva Natural Vale e a Reserva Biológica de Sooretama, destacando o problema representado pela duplicação desta rodovia caso não sejam adotadas medidas especiais para reduzir o risco ou evitar o atropelamento de animais silvestres na região.

Capítulo Final: Análise de Viabilidade Populacional da onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) no Espírito Santo: ameaças x ações de manejo

Avalia a viabilidade da última população de onças-pintadas no estado do Espírito Santo, considerando a execução de modelagens computacionais para o bloco de vegetação nativa composto pela Reserva Natural Vale e pela Reserva Biológica de Sooretama. Este último capítulo também simula o efeito das ameaças levantadas e das ações de manejo indicadas para a população em estudo, conforme apresentado nos capítulos temáticos, objetivando a avaliação da estratégia de conservação proposta para a onça-pintada no Espírito Santo.

Os resultados apresentados no presente estudo contribuem para o cumprimento de Metas definidas para a Mata Atlântica no Plano de Ação Nacional (PAN) para Conservação da Onça-pintada, elaborado em 2010 pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) / Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros (CENAP), em colaboração com diferentes parceiros. Neste sentido, destaca-se a contribuição ao preenchimento de lacunas relacionadas a aspectos demográficos, estrutura social, parâmetros de saúde, variabilidade genética, uso de hábitat e ecologia trófica da onça-pintada no bioma (PAN - Meta 1); estando as ações de manejo propostas alinhadas com a redução da

remoção de indivíduos da natureza (PAN - Meta 3) e o restabelecimento do fluxo gênico entre as populações (PAN - Meta 4).

O presente trabalho reforça o caráter multi e interdisciplinar da conservação e a necessidade de cooperação entre instituições e profissionais de diferentes áreas do conhecimento para desenvolvimento de estudos visando à conservação de espécies ameaçadas de extinção, integrando o levantamento de dados ecológicos, genéticos e parasitológicos, por exemplo, além da aplicação de diferentes ferramentas de análise de dados, para o melhor entendimento do problema e adequada definição de ações para conservação de populações frente às ameaças diagnosticadas.

O cenário de perda de hábitat e isolamento populacional, com redução da população a um pequeno número de indivíduos, é comum a todas as populações de onça-pintada na Mata Atlântica, podendo a situação da espécie ser semelhante em diferentes localidades. Por este motivo, considera-se que as ações de manejo propostas para o bloco Linhares / Sooretama possam ser aplicáveis também a outras regiões do bioma, contribuindo para a conservação da espécie na Mata Atlântica como um todo.

RESUMO

A presente tese apresenta as ações de manejo para conservação da onça-pintada na Mata Atlântica de Tabuleiro do Espírito Santo, as quais foram propostas a partir da caracterização da população e identificação das principais ameaças à espécie no bloco Linhares / Sooretama, composto pela Reserva Natural Vale (RNV) e pela Reserva Biológica Sooretama (RBS). A população estudada representa a última conhecida no estado do Espírito Santo e uma das últimas populações remanescentes na Mata Atlântica brasileira. Para coleta de dados, foram utilizadas armadilhas fotográficas (2005 a 2013) e amostras fecais (2006 a 2008), tendo sido as últimas empregadas em análises genéticas (DNA fecal) e exames parasitológicos. A onça-pintada foi registrada em praticamente toda RNV, embora a subárea Norte tenha reunido o maior número de registros (64%), com presença confirmada de sete dos nove indivíduos registrados. Não foram realizados registros de filhotes, embora subadultos tenham sido registrados no primeiro ano de estudo. A razão sexual observada na área foi de 1:2 (macho:fêmea) e a densidade populacional foi de 2,8 - 3,1 indivíduos / 100 km². A distância máxima percorrida pelos indivíduos variou entre 5,02 km e 20,43 km (média = 12,39 km). A área de vida mínima variou de 28,26 km² a 335,28 km² (média = 147,69 km²). Como consequência do processo de fragmentação e perda de habitats ocorrido na região, as onças-pintadas permaneceram isoladas e restritas ao bloco Linhares / Sooretama, o que resultou em perda de diversidade genética ($H_o = 0,621$; $H_e = 0,532$; $RA = 3,195$; $N_e = 7,9$ indivíduos). Apesar do baixo grau de diversidade genética observado na RNV, a existência de alelos únicos na população estudada, até então não detectados em outras populações no bioma, reforça sua importância na manutenção da diversidade genética da onça-pintada na Mata Atlântica de forma geral. Os exames parasitológicos revelaram a presença de oito táxons de parasitos e uma alta prevalência de parasitos intestinais na população

estudada (70% das amostras). Cita-se ainda a morte de um indivíduo por atropelamento em 2000, podendo o risco de morte de espécimes ser agravado na região com a duplicação da Rodovia BR-101. Análises de viabilidade indicam que a situação da população estudada é extremamente crítica, com 100% de probabilidade de extinção em 100 anos e previsão média de extinção em até 30 anos. As simulações realizadas indicam que a remoção de espécimes apresenta efeitos negativos sobre a população, mesmo quando aplicadas ações de manejo baseadas na suplementação populacional. Desta forma, como estratégia para conservação da onça-pintada na Mata Atlântica de Tabuleiro do Espírito Santo, propõe-se o desenvolvimento de um conjunto integrado de ações: (1) avaliação da abundância e monitoramento sistemático e contínuo das populações de presas, incluindo a avaliação periódica da dieta da espécie; (2) combate às atividades de caça na RNV e na RBS (intensificação das ações em andamento); (3) investigação e monitoramento da dinâmica de doenças em onças-pintadas e identificação do risco de contração de outras doenças a partir do contato com espécies exóticas; (4) não duplicação da Rodovia BR-101 no trecho de 15 km associados à RBS e à RNV, com a construção de novas passagens de fauna, melhoria das estruturas atualmente existentes e instalação de redutores eletrônicos de velocidade e placas; (5) estruturação e implementação de programa integrado para manejo de indivíduos entre populações geneticamente conhecidas e geneticamente compatíveis de onça-pintada na Mata Atlântica; (6) continuidade do monitoramento da população de onças-pintadas presente no bloco Linhares / Sooretama, incluindo a geração de dados para a RBS. Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam a urgência na implementação de ações de manejo efetivas para conservação da onça-pintada na região em longo prazo, conforme estratégia aqui proposta, podendo as ações citadas serem aplicáveis também a outras populações do bioma.

Palavras-chave: estimativa populacional, genética da conservação, grandes felinos, manejo de indivíduos, viabilidade populacional.

ABSTRACT

This thesis presents the management actions for the conservation of the jaguar in the Atlantic Forest of the state of Espírito Santo. The proposed actions were derived from the characterization of the population and the identification of the main threats to the species in the Linhares / Sooretama block, composed by Reserva Natural Vale (RNV) and Reserva Biológica de Sooretama (RBS). The studied population represents the very last in entire Espírito Santo state and one of the last remaining populations in the Brazilian Atlantic Forest. Camera traps (2005 to 2013) and fecal samples (2006 to 2008) were used for data collection. The fecal samples were employed in genetic (faecal DNA) and parasitological analyzes. The jaguar was recorded in almost all RNV, although the North subarea assembled the largest number of records (64%) with seven confirmed individuals, of all nine individuals recorded. No records of pups were taken, but records of sub-adults were obtained during the first year of sampling. The sex ratio and the population density were 1:2 (male: female) and 2.8 - 3.1 individuals/100 km², respectively. The maximum distance moved by individuals ranged between 5.02 km and 20.43 km (mean = 12.39 km). The minimum home range ranged from 28.26 km² to 335.28 km² (mean = 147.69 km²). As a consequence of the process of fragmentation and habitat loss occurred in the region, the jaguar population was isolated and restricted to Linhares / Sooretama block, resulting in loss of genetic diversity ($H_o = 0.621$, $H_e = 0.532$, $RA = 3.195$; $N_e = 7.9$ individuals). Despite the low degree of genetic diversity observed in RNV, the existence of unique alleles in the studied population, not previously detected in other populations in the biome, highlights the importance of this population to maintain the genetic diversity of jaguars in the Atlantic Forest as a whole. The parasitological analysis revealed the presence of eight taxa of parasites and a high prevalence of intestinal parasites in the studied population (70% of samples). It is also reported the death of an individual by the collision with vehicle in 2000 and the risks of

intensification of further deaths as result of the duplication of the BR-101 are discussed. The population viability analyzes indicated that the situation of the population is extremely critical, with 100% of probability of extinction in 100 years and average forecast of extinction within 30 years. The simulations indicated that the removal of specimens has negative effects on the population, even when management actions based on population supplementation are applied. Thus, as a strategy for conservation of the jaguar in the Atlantic Forest of the state of Espírito Santo, the development of a integrated set of actions is proposed: (1) assessment of the abundance and systematic and continuous monitoring of prey populations, including periodic assessment of the diet of the species; (2) preventing hunting activities in RNV and RBS (intensification of ongoing actions); (3) research and monitoring of the dynamics of disease in jaguars and identification of the risk of contracting other diseases from contact with alien species; (4) non-duplication of the Highway BR-101 in the stretch of 15 km associated with RBS and RNV, with the construction of new wildlife crossings, the improvement of existing structures and the installation of electronic speed monitoring devices and plates; (5) structuring and implementation of an integrated program for the management of jaguars between Atlantic Forest populations genetically studied and genetically compatible; (6) maintaining the monitoring of the population of jaguars in Linhares / Sooretama block, including the data collection also in the RBS. The results obtained in this study suggest the need for urgent implementation of effective management actions to guarantee the long term conservation of jaguar in the region, according to the strategy here proposed. The actions cited can also be applicable to other jaguar populations in the Atlantic Forest.

Keywords: big cats, conservation genetics, management of individuals, population estimates, population viability.

Influência do desenho amostral na taxa de captura e na estrutura da comunidade de mamíferos registrada a partir de armadilhas fotográficas no sudeste do Brasil

Artigo Científico aceito para publicação na revista *Biota Neotropica*

Título original: *Influence of camera-trap sampling design on mammal species capture rates and community structures in southeastern Brazil*

Ana Carolina Srbek-Araujo & Adriano Garcia Chiarello

Influence of camera-trap sampling design on mammal species capture rates and community structures in southeastern Brazil

Short Title: Influence of sampling design on mammal inventory

Ana Carolina Srbek-Araujo^{1,2,4} & Adriano Garcia Chiarello³

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - Avenida Antônio Carlos, n° 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais - CEP 31270-901, Brazil. Email: srbekaraujo@hotmail.com

² Vale S.A. / Reserva Natura Vale - Caixa Postal n° 91, Centro, Linhares, Espírito Santo – CEP 29900-970, Brazil.

³ Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - Avenida dos Bandeirantes, n° 3900, Ribeirão Preto, São Paulo - CEP 14040-901, Brazil.
Email: bradypus@ffclrp.usp.br

⁴ Corresponding author. Email: srbekaraujo@hotmail.com; Telephone: +55 31 91621727.

Influence of camera-trap sampling design on mammal species capture rates and community structures in southeastern Brazil

Abstract: The distribution of species and population attributes are critical data for biodiversity conservation. As a tool for obtaining such data, camera traps have become increasingly common throughout the world. However, there are disagreements on how camera-trap records should be used due to imperfect species detectability and limitations regarding the use of capture rates as surrogates for abundance. We evaluated variations in the capture rates and community structures of mammals in camera-trap surveys using four different sampling designs. The camera traps were installed on internal roads (in the first and fourth years of the study), at 100-200 m from roads (internal edges; second year) and at 500 m from the nearest internal road (forest interior; third year). The mammal communities sampled in the internal edges and forest interior were similar to each other but differed significantly from those sampled on the roads. Furthermore, for most species, the number of records and the capture success varied widely among the four sampling designs. A further experiment showed that camera traps placed on the same tree trunk but facing in opposing directions also recorded few species in common. Our results demonstrated that presence or non-detection and capture rates vary among the different sampling designs. These differences resulted mostly from the habitat use and behavioral attributes of species in association with differences in sampling surveys, which resulted in differential detectability. We also recorded variations in the distribution of records per sampling point and at the same spot, evidencing the stochasticity associated with the camera-trap location and orientation. These findings reinforce that for species whose specimens cannot be individually identified, the capture rates should be best used as inputs for presence and detection analyses and for behavior inferences (regarding the preferential use of habitats and activity patterns, for example). Comparisons between capture rates or among relative abundance indices, even for the same species, should be made cautiously.

Keywords: Atlantic Forest, capture success, detection bias, detection probability, mammal inventory

Influência do desenho amostral na taxa de captura e na estrutura da comunidade de mamíferos registrada a partir de armadilhas fotográficas no sudeste do Brasil

Resumo: A distribuição das espécies e os atributos das populações são dados críticos para a conservação da biodiversidade. Enquanto ferramenta para obtenção de tais dados, as armadilhas fotográficas tem se tornado cada vez mais comuns em estudos em todo o mundo. No entanto, há divergências sobre como os registros fotográficos devem ser utilizados devido a problemas de detectabilidade e limitações relacionadas ao uso das taxas de captura como substitutos de abundância. No presente estudo foram avaliadas variações na taxa de captura e na estrutura da comunidade de mamíferos registrada por meio de armadilhas fotográficas utilizando-se quatro diferentes desenhos amostrais. As armadilhas foram instaladas em estradas internas (primeiro e quarto anos), a 100-200 m de distância das estradas (bordas internas; segundo ano) e a 500 m da estrada mais próxima (interior da mata; terceiro ano). As comunidades de mamíferos amostradas em bordas internas e interior da floresta foram semelhantes entre si, mas diferiram significativamente daquelas amostradas em estradas. Além disso, para a maioria das espécies, o número de registros e o sucesso de captura variaram muito entre os quatro desenhos amostrais. A partir de um experimento desenvolvido paralelamente às amostragens, foi observado ainda que armadilhas fotográficas colocadas em um mesmo tronco de árvore, mas voltadas para direções opostas, registraram poucas espécies em comum. Nossos resultados demonstram que presença ou não detecção e taxas de captura variam entre diferentes desenhos de amostragem. Essas diferenças são atribuídas principalmente ao uso do habitat e atributos comportamentais das espécies, em associação com diferenças no desenho amostral, resultando em diferenças na detectabilidade. Foram também registradas variações na distribuição de registros entre pontos de amostragem e para o mesmo local, evidenciando a estocasticidade associada à localização e orientação das armadilhas. Esses dados reforçam que, para espécies cujos espécimes não podem ser individualmente identificados, os registros fotográficos são mais bem utilizados como insumo para análises de presença e detecção, assim como para obtenção de

informações relacionadas a comportamento (uso preferencial de habitats e padrão de atividade, por exemplo). Comparações entre taxas de captura ou índices de abundância relativa, mesmo para a mesma espécie, devem ser realizadas com cautela.

Palavras-chave: inventário de mamíferos, Mata Atlântica, probabilidade de detecção, sucesso de captura, viés de detecção

Introduction

The distributions of species and population abundance or density are critical data for planning and evaluating research priorities and strategies for biodiversity conservation. The quality of inventories depends on the ability of the surveying team and the adequacy of the procedures, particularly regarding the efficiency of the sampling methods used for each target group. Indeed, the methods used in mammal inventories are generally appropriate for collecting or observing only a fraction of species, given the morphological and behavioral diversity in this group (Voss & Emmons 1996).

Failures to detect species are common errors in surveys and are related to the detection probability of each species (Gu & Swihart 2004). The detection of mammals may vary depending on the animal's sex, age, social status (alpha or beta and resident or transient) and territoriality (Larrucea et al. 2007), the distribution of reproductive females, the local abundance of prey (Guil et al. 2010), intraspecific and interspecific interactions (Harmsen et al. 2010), human pressure and the physical environment (Guil et al. 2010). Furthermore, the seasonality of the species can change the intensity with which a given species is recorded (Yasuda 2004), and the capture rate is influenced by the temporal and seasonal activity patterns of the species (Larrucea et al. 2007). Differences in detectability among species also can be caused by relatively subtle differences in behavior (Harmsen et al. 2010). It is thus important to evaluate differences in capture efficiency to distinguish true absence from the non-detection of a species in mammal inventories (Jennelle et al. 2002). And detection is indicative of presence, but non-detection is not equivalent to absence (MacKenzie et al. 2002).

Camera traps have become increasingly common in studies conducted in several parts of the world, especially during the last decade. These devices have been widely used in mammal inventories and are especially effective for detecting elusive, cryptic and/or rare species (e.g., Srbeek-Araujo & Chiarello 2005, Tobler et al. 2008, Ahumada et al. 2011, Espartosa et al. 2011). In addition to this usual application, Carbone et al. (2001) consider that the use of indices to estimate the relative abundance of mammals would increase the use of this tool because only a small fraction of the species may have the individuals

identified and studied using capture-recapture methods based on camera traps. However, these indices use the rates of camera-trap capture as the main input to estimate abundance (e.g., Carbone et al. 2001, O'Brien et al. 2003), and the variation in the detection probability of each species is not considered. Thus, for relative abundance indices to be useful, some authorities recommend the calibration of indices using camera trap data (Carbone et al. 2001) and the evaluation of the index accuracy (Diefenbach et al. 1994) to demonstrate the existence of a functional relationship between the index and the true value (Diefenbach et al. 1994). However, the calibration process is not trivial, and there is no firm consensus on the best strategy to follow (e.g., O'Brien et al. 2003, Rowcliffe et al. 2008, Rovero & Marshall 2009).

Notwithstanding the increase in the popularity of camera traps, the imperfect detectability and the appropriate application of capture rates remain very important issues, particularly regarding the use of camera-trap records as surrogates for abundance and population density of species whose individuals cannot be identified (Carbone et al. 2001, Carbone et al. 2002, Jennelle et al. 2002, Yasuda 2004, Larrucea et al. 2007, Srbek-Araujo & Chiarello 2007, Rowcliffe et al. 2008, Rovero & Marshall 2009, Harmsen et al. 2010). Despite these limitations and recommendations, the index of relative abundance, without calibration, obtained from the rate or frequency of capture has been widely used in camera-trap studies (e.g., Jácomo et al. 2004, O'Brien et al. 2003, Silveira et al. 2003, Trolle & Kéry 2005, Weckel et al. 2006, Kasper et al. 2007, Rowcliffe et al. 2008, Rovero & Marshall 2009), without consideration of the variations in species capture probability (Gu & Swihart 2004). These issues are relevant and need to be better understood because camera-trap data have been used in management and conservation studies around the world, including ratings of the distribution and monitoring of threatened species.

In this study, we report the results of four years of camera-trapping inventories in a protected area of Atlantic Forest in Brazil. We evaluate the variation of mammal capture rates from each survey and the influence of the sampling design on the mammal community recorded. We also discuss whether the capture rates represent reliable inputs for relative abundance indices. We hypothesized that detection does not change significantly and that capture rates are similar for a given mammal species sampled in the same area among subsequent camera-trap surveys, despite differences in the sampling designs (null

hypothesis). If this hypothesis is true, the sampling design does not interfere with the community recorded, and the capture rates could be considered sufficient input to calculate the relative abundance indices; therefore, the calibration of the indices may be overlooked.

Material and Methods

1. Study Area

The study was conducted in Reserva Natural Vale (RNV; Vale Natural Reserve), which is located 30 km north of the Doce River between the municipalities of Linhares and Jaguaré in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil (19°06' S, 39°45' W and 19°18' S, 40°19' W). The RNV (~23,000 ha) encompasses approximately 5% of the remaining forest in the state (FSOSMA & INPE 2011) and is adjacent to the Reserva Biológica de Sooretama (RBS; Sooretama Biological Reserve: ~24,250 ha).

The topography in RNV is relatively flat, with the elevation ranging between 28 and 65 m above sea level (Jesus & Rolim 2005). The climate is tropical hot and humid (Awi, following the Köppen system) with wet summers (October to March) and dry winters (April to September) (Jesus & Rolim 2005). The average annual temperature is 23.3°C (14.8 and 34.2°C average minimum and maximum, respectively). The average annual rainfall is 1,202 mm, with high inter-annual variability (Jesus & Rolim 2005). During the years of study, for example, the annual rainfall ranged from 857 mm (2007) to 1,638 mm (2006), and the average annual rainfall was 1,194 mm.

Most of the reserve is covered by dense lowland forest located on flat terrain (Tabuleiro Forest), classified as perennial seasonal forest (Jesus & Rolim 2005). RNV has an internal system of unpaved roads (126 km in total length). These roads are approximately 4 m wide and were built decades ago to allow access to all parts of the reserve for reserve staff and authorized researchers only. The perimeter of RNV is irregularly shaped and is surrounded mostly by pastures and crops, especially fruit and coffee

cultivation (Jesus & Rolim 2005). In recent years, particularly after 2007, there has been an increase in *Eucalyptus* plantations surrounding the reserve.

2. Data Collection

The sampling designs used in the four years were designed primarily to meet the requirements for estimating jaguar (*Panthera onca*) abundance and density. We used four different sampling designs over approximately 48 months: June 2005 to June 2006 (first year or year 1); June 2006 to August 2007 (second year or year 2); August 2007 to October 2008 (third year or year 3); and June 2009 to February 2010 (fourth year or year 4). Cam Trakker game cameras (Cam Trak South Inc., USA) were used in the first year; in the other years, we used Tigrinus cameras (conventional model; Tigrinus Research Equipment, Brazil). Both brands of equipment have a passive infrared sensor and 35 mm cameras, which were loaded with 36-exposure / 200 or 400 ASA negative films. The camera traps were operated 24 hours/day, and the delay between photographs was set to 20 seconds. The equipments were checked every 30 days for cleaning and to replace the batteries and film. The camera traps were attached to tree trunks at approximately 45 cm above the ground. In the first year, all trapping stations contained a pair of cameras, and the units were installed facing each other. In the other years, we used only one camera trap per trapping station. No baits were used.

In the first year, the reserve was divided into three areas (“north”, “south” and “west”), and sampling was conducted in each of these areas sequentially. In the remaining years, a fixed number of sampling points or trap stations were established throughout the whole area of the reserve (years 2 and 3) or in just the northern part of the reserve (year 4) (Figure 1). The cameras were installed on internal roads (in the first and fourth years), at 100-200 m from roads (internal edges; second year) and at 500 m from the nearest internal road (forest interior; third year). In years 2 and 3, the sampling points were selected by searching for the presence of signs (such as footprints and animal trails or tracks) or odors indicating recent mammal activity. A narrow trail (~1 m width) was opened to access the trap stations in the second

and third years. The camera-trap sampling points were always set in the predominant type of forest existing in RNV (Tabuleiro Forest). The main differences among the sampling designs are summarized in Table 1.

Figure 1

Table 1

In the second year, we set up a 30-day experiment to test whether two cameras installed at the same spot would result in the same list of species. For this experiment, we used 8 pairs of Tigrinus cameras (the year 2 sampling point or principal camera [C1] and an additional camera [C2]) scattered throughout RNV. Every pair of cameras was positioned on the same tree trunk but faced in opposing directions (one camera rotated 180 degrees from the other) and remained operational for 30 days. We directed both of the cameras from each pair at points with similar characteristics to minimize sampling differences related to habitat conditions (e.g., the presence of tracks and/or other signs of animal activity).

3. Data Analysis

Each photograph taken by the camera traps was considered a record. However, when more than one photograph of the same species was obtained from the same trapping station within a period of 1 hour, only the first photograph was considered valid for analytical purposes. The sampling effort was calculated by multiplying the number of camera traps (or pairs of equipment in year 1) by the number of sampling days (the time between the first and last records in each month of sampling). The capture success was calculated by dividing the number of records by the sampling effort and multiplying the result by 100, as used in previous studies (e.g., Srbeek-Araujo & Chiarello 2005). The armadillos *Dasyopus novemcinctus* and *Dasyopus septemcinctus* were analyzed together, as were the deer *Mazama americana*

and *Mazama gouazoubira*, due to difficulties in distinguishing each congeneric species from most of the photographs. Only native species were considered in the statistical analyses.

The Mao Tau estimator (the accumulation of the observed species) was used to calculate randomized species accumulation curves considering 10-day bins of camera trapping as units of sampling effort. The lower and upper bounds of the 95% confidence interval (CI) were graphed. We used the first-order Jackknife (Jackknife 1) to estimate the species richness for each sampling design. This non-parametric estimator is based on the number of unique species contained in each observation (Smith & Pontius 2006), and according to Tobler et al. (2008), it performs better than other estimators for data sets derived from large numbers of camera days. We also selected this estimator for its reduced bias and because it is based on the presence or absence of a species rather than on the abundance of the species (Smith & Pontius 2006). For these analyses, we used the program EstimateS (version 7.5.2), and for randomizations, we used 1,000 runs.

The Spearman rank correlations and the qualitative cluster analysis (based on the Jaccard coefficient) were used to compare the mammal communities recorded by the four sampling designs (n=27 cases). Both of the analyses were performed using the presence-absence data only (with values of “1” when a mammal species was detected by a sampling design and “0” when it was not). For these analyses, the program Statistica was used (version 7.1).

Given the differences in the sampling effort, we calculated the capture success of each mammal species ($[\text{number of records for each species} / \text{sampling effort}] \times 100$) to obtain comparable capture rates for each species among the years. We used the Spearman rank test to investigate whether there were correlations in the capture rates of each species among the sampling designs. For this analysis, only species recorded in two or more years (n=23 cases) were included to reduce the occurrence of spurious correlations arising from the high frequency of zeros (four native species were detected in only one year). The tests were performed in the program Statistica (version 7.1).

We assessed the variation in capture success among the sampling designs by calculating the 95% CI for each species. For this analysis, each sampling point was considered a replicate of a given sampling

year, and the capture success of each species was calculated for every sampling point from each year of study. The program SPSS (version 8.0) was used for this analysis. And the results were displayed graphically to species with more contrasting detection rates (more than 10 records for the whole study). We complemented this analysis by contrasting the capture success of each species among the sampling designs using a Kruskal-Wallis one-way analysis of variance. For these analyses, the capture success values of each species were used as dependent variables, using the sampling points as replicates (n=58 cases), and the years of sampling were the grouping variable (categorical). Only the species recorded in two or more years (n=23 cases) were considered in the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance. For these analyses, the program Statistica was used (version 7.1). The variation in the capture success was assessed because these data can be used as an indicative of variation in the capture or detection probability of species.

4. Assumptions

Because weather variation can influence the detection of mammals and therefore the camera-trap results, we conducted preliminary tests to evaluate whether the capture success was significantly influenced by the inter-annual variability in climate conditions. For this analysis, we correlated the monthly capture success of native mammal species with climate variables (i.e., average monthly rainfall, total monthly rainfall and average monthly temperature) using the Spearman rank correlation. Each year was analyzed separately, and only months with 30 days of sampling were considered (11 cases for year 1, 14 cases for years 2 and 3, and seven cases for year 4). These tests were performed in the program Statistica (version 7.1). We obtained climatic data from the Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE; National Institute of Spatial Research), and the data were collected at a meteorological station located in Sooretama, the closest city to the study site. The results of these tests indicated no consistent pattern in the relation between the climate variables and capture success. Significant correlations (Spearman Rank, $p < 0.05$) between the climate variables (mostly for average monthly temperature) and

capture success were observed for only 11 species (40.74%), and most cases were restricted to one year (nine species). For two species, there were significant correlations (Spearman Rank, $p < 0.05$) for two years, but for one of those species, the correlation between the average monthly temperature and capture success was positive in one year and negative in the other year. These results suggest a small influence of annual climate variation on the capture rates and leave us comfortable in assuming that the variations in our camera-trap data result mostly from differences among the sample designs.

Another limitation of our sampling design is that due to the theft of equipment and maintenance problems of some of the units, we had to choose a different brand of cameras in the second year. We are aware that variations in the efficiency and capability to record species among different brands or models of camera traps can influence the results (Srbek-Araujo & Chiarello 2007), particularly when film and digital cameras are compared (Kelly & Holub 2008). Because of that influence, it might be difficult to distinguish whether the variation in the number of records in a given survey is due to differences in trapping success among species or among the cameras (Kelly & Holub 2008). Fortunately, only film cameras were used in our study, and the differences between the equipment are relevant only to year 1, when Cam Trakker cameras were used, but not the other years (including the 30-day experiment), when only Tigrinus cameras were used. It is also relevant to stress that overall, the results from the first and fourth years were more similar to each other than to the second and third years, though different brands of cameras were used. For these reasons, we assumed that the use of two brands of cameras had no significant influence on our main findings.

Results

The sampling effort accumulated during the four years of study (10,567 camera-days) resulted in 2,790 records of 30 mammal species, including the domestic dog (*Canis lupus familiaris*) (Table 2). Although the number of recorded species was similar among the sampling designs (19 to 23 species), the capture success was lower in the first and fourth years, when the cameras were located along roads. The

community composition also varied among the sampling designs: 12 species (40.0%) were recorded in all four designs; four species (13.3%) were recorded in three designs; nine species (30.0%) were recorded in two designs; and five species (16.7%) were recorded in only one design. Six species (20.0%) were recorded only on roads, and four (13.3%) were recorded only on internal edges and/or in the forest interior. Some of the species recorded frequently along roads were rarely or not at all recorded when the cameras were set up away from roads, especially *Panthera onca*, *Leopardus pardalis*, *Cerdocyon thous*, *Procyon cancrivorus* and *Sylvilagus brasiliensis* (Table 2). In contrast, some species were recorded mostly away from roads: *Dasybus* sp., *Nasua nasua*, *Pecari tajacu*, *Mazama* sp., *Cuniculus paca* and *Dasyprocta leporina*.

Table 2

Records of species not previously photographed occurred in all of the sampling periods, and the last inclusion of new species occurred in the 43rd month of the study. The sample-based species accumulation curve for the first year leveled off, indicating a more complete survey (Figure 2), although the number of recorded species was much lower than the total number of observed species for the whole study. The curves for the other three years of sampling, as well as the curve for the whole study, did not reach an asymptote and showed a wide 95% CI interval (Figure 2). Wider confidence intervals were observed for years 2 and 4.

Figure 2

The species richness estimated using the whole data set (all four years) was 29.98 ± 1.71 species, which is similar to the observed richness ($n = 29$ native species). The estimated richness was also similar to the observed richness in the third year ($19.95 [\pm 1.36]$ species) (observed richness = 20 species). However, for the second ($22.90 [\pm 2.34]$ species) and fourth ($26.74 [\pm 2.48]$ species) years, the estimated

richness was higher than the observed value (21 and 23 species, respectively); for the first year (16.97 [\pm 0.97] species), the estimated richness was lower than the observed value (18 native species).

A significant correlation of the mammal communities (list of species) was found only between the second and third years (Spearman Rank, $r_s=0.402$, $p<0.05$, $n=27$ pairs), when the camera traps were placed away from roads. The cluster analyses indicated that the most dissimilar community was sampled during the last year, which was closer to the first year (with the samplings on roads) than to the other two years (Figure 3). Similarly, the distribution of the capture success in the set of species recorded was highly correlated between the first and fourth years (Spearman Rank, $r_s=0.588$, $p<0.05$, $n=23$ pairs) and between the second and third years (Spearman Rank, $r_s=0.914$, $p<0.05$, $n=23$ pairs).

Figure 3

Although the results from the internal edges (second year) and forest interior (third year) were more similar to each other, the capture rate (and therefore the capture success) for most species varied among the years (Table 2). The same pattern was also found between the first and fourth years. Overall, the variation in capture success tended to be lower for the first year (with a smaller confidence interval and higher precision), but this parameter varied widely both within species among years and among species within years (Figure 4). For several species, the 95% CI showed no overlap among the sample designs, notably for *Dasypus* sp., *Nasua nasua*, *Leopardus pardalis*, *Panthera onca*, *Mazama* sp., *Dasyprocta leporina* and *Cuniculus paca* (Figure 5). Additionally, the difference in capture success among the sampling designs was statistically significant for 14 species (Kruskal-Wallis, $df=3$, $n=58$ cases, $p \leq 0.05$) (Table 3). The number of species recorded at each sampling point ranged from 1 to 15 (mean = 6.86), and the total number of records for the trap stations ranged from 1 to 201 (mean = 48.07). When analyzing each species separately, the distribution of records among the sampling points was also variable, even for the species with the highest number of records in each sampling year (Table 3).

Figure 4

Figure 5

Table 3

During the 30-day experiment, the number of species recorded by both of the cameras (C1+C2) and the interceptions of records from each pair were very low (Table 4). Only the units from three pairs (37.5%) shared 50% or more of the list of species recorded by the pair. For the remaining five pairs (62.5%), each unit shared $\leq 25\%$ of the species pool (Table 4). Four species (*Eira barbara*, *Nasua nasua*, *Panthera onca* and *Puma yagouaroundi*) were recorded during the 30-day experiment only by the additional unit (C2) and were not recorded by the principal camera (C1) even during the 14 months of sampling by this unit. Discrepancies were also observed between units of each pair when compared the total number of records of each species and the overall number of records (sum of the records from all the species).

Table 4

Discussion

We recorded substantial variations in the detection (presence or non-detection) and capture rates of mammals among the four sampling periods. Some species were missed in one or more years, and singular assemblages of elusive species (≤ 5 records/species) were recorded in each of the four sampling designs. Some of these species maintain their “status” of elusive or rarely recorded even when the whole sampling period is considered, such as *Cabassous tatouay*, *Euphractus sexcinctus*, *Tamandua tetradactyla*, *Puma concolor*, *Leopardus wiedii* and *Galictis cuja*, and new species were recorded during

all four years of study. According to Tobler et al. (2008), the recording of more elusive species requires larger sampling efforts, and these species are the ones that determine how much time is needed to complete an inventory (Tobler et al. 2008). In fact, despite the relatively long sampling time in the present study, the camera-trapping inventory of medium-sized and large mammals is not yet complete in RNV. Two elusive species recently recorded in the study area (after 2006) using other methods and potentially recordable by camera traps have not been registered to date: *Priodontes maximus* (Kerr, 1792) (giant armadillo; Srbek-Araujo et al. 2009) and *Leopardus tigrinus* (Schreber, 1775) (oncilla; A.C. Srbek-Araujo, unpublished data). The slope of the sample-based species accumulation curve and the 95% CI interval for the whole study also corroborate the previous affirmation.

For MacKenzie & Royle (2005), the optimal strategy for sampling rare species is to conduct fewer surveys at more sampling points, while for common species, it is more efficient to conduct more intensive surveys at fewer stations. However, Srbek-Araujo & Chiarello (2007) showed that the number of recorded species (common and rare species) is strongly correlated with sampling effort, recommending a sampling effort of at least 250 camera-days at each trapping station for mammal inventories. Additionally, Tobler et al. (2008) concluded that the camera spacing and total area covered have little influence on the number of species recorded and the survey success, with the survey effort being the main factor determining the number of recorded species. Our present data corroborate these last two studies and reinforce the importance of survey effort for recording elusive or rare species in camera-trapping inventories. In contrast, in occupancy studies, the number of sampling points can be as or more important than the number of sampling days at each trap station (MacKenzie et al. 2002). However, for these studies, the sampling points and the timing of repeat surveys must be defined appropriately, as described by MacKenzie & Royle (2005).

The total number of species recorded in each sampling survey was similar in years 1 to 3, despite the higher number of trap stations sampled during the first year. The sampling effort was almost three times smaller in year 4 than in the other years, with the smallest number of sampling points, but the number of species was higher in the last year of sampling than in the other three survey periods. All of the

sampling surveys performed poorly at estimating the total number of species present across the whole study area, and the list of species recorded each year was different among the surveys. The different results among the years highlight that species inventories also need to achieve good spatial replication and cover a range of habitat types to adequately characterize a mammal community (Colwell & Coddington 1994, Engeman 2005; Tobler et al. 2008). In addition to the differences related to the set of species recorded each year, the differences among the sampling designs are also represented by differences in the capture rate for most of the species recorded during the present study.

We consider that the differences in capture rates obtained for the same species during our study resulted mostly from habitat use (i.e., species presence and frequency of use) and the behavioral attributes of the species in association with differences in the sampling design, which resulted in differential detectability and different capture success. Different species were more likely to be recorded on or off roads/trails, corroborating studies conducted elsewhere (Trolle & Kéry 2005, Srbek-Araujo & Chiarello 2007, Harmsen et al. 2010, Weckel et al. 2006). Some species were detected exclusively or preferentially on roads (e.g., *Panthera onca*, *Leopardus pardalis*, *Sylvilagus brasiliensis*, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*) and can be referred to as “trail followers”. Other taxa, the “generalist users”, were detected equally on roads and away from them (*Tapirus terrestris* and *Tayassu peccary*). The remaining species, the “trail crossers”, seemed to avoid roads and were mostly recorded on the forest edge or in the forest interior. These distinctions are relevant given that both roads and trails have been widely used for sampling mammals, either because they offer easy access into the forest or because some species, particularly carnivores, might be highly “captured” in these places (e.g., Silveira et al. 2003, Trolle & Kéry 2005, Beisiegel 2009). Therefore, the risk of tendentious sampling must be considered when designing studies for mammal community inventories.

Furthermore, differences in patterns of habitat use may not be similar even when the same species is compared between sampling sites. In a study by Weckel et al. (2006), for example, *Tayassu peccary* and *Pecari tajacu* failed to show preferences in habitat use, while in our study, the latter species was recorded almost exclusively in the forest edge and interior. In the same study, *Panthera onca* was never

photographed using forested areas (Weckel et al. 2006), while in RNV, jaguar was recorded, although rarely, on internal edges and forest interior. In our study, *Panthera onca* and *Leopardus pardalis* were frequently recorded on roads, and both species have low capture rates outside roads, while *Puma concolor* was captured only once and in forest interior. Harmsen et al. (2010) recorded *Leopardus pardalis* only on trails (0.5 to 4.5 m width) and the capture sites of *Panthera onca* were also adequate for capturing *Puma concolor*. Differences between our study and Harmsen et al. (2010) were also observed for *Tayassu peccary*, *Mazama* sp. and *Nasua nasua* regarding their tendency to follow or cross trails. These examples of differences between studies suggest idiosyncratic habitat use patterns for some mammal species, which can induce erroneous comparisons of data even when applied to similar sample designs. These data also corroborate those of Jennelle et al. (2002), who cited site-specific detection probabilities as one of the sources of variation in camera-trap data. Therefore, if individual species may have consistent differences in detectability in different areas, the survey designs should not automatically follow designs that have been useful in other areas, even for the same target species.

Environmental seasonality is known to influence the activity patterns and home-range size in mammals (Harestad & Bunnell 1979). In turn, the variation in the intensity of movement of individuals may result in increased or decreased detection probabilities, thereby influencing the capture rates. However, there was a lack of significant correlation between climatic variables and capture success for most of the species recorded in the present study (see Methods for details), and the inter-annual variation in rainfall may have not contributed significantly to the variation in the capture rate among the years. Although camera traps are well suited to standardization when compared to other sampling methods for mammals (Ahumada et al. 2011), the places where the data are collected influences the efficiency in obtaining adequate measurements of species studied (Engeman (2005), and the choices about where and when the camera traps will be placed can influence the sampling process. These choices can lead to biased results because species use the environment differently and researchers use different criteria to define the best sampling locations (Larrucea et al. 2007).

We observed a wide variation in the capture success at each sampling point, both within and among the sampling periods, for most of the species recorded at RNV. The 30-day experiment with paired cameras also revealed that the variation in camera-trap records may be high at the same spot. These data illustrate the stochasticity associated with camera location and orientation and lend support to the idea that there are other biotic or abiotic factors, not yet fully understood, influencing the delivery of camera-trap records and interfering with probability of detection of species over time. Similarly, Silveira et al. (2010) noticed that the “long-term” fluctuation in capture rate is more complex than the seasonal variation in the number of records obtained by camera traps. And there are not enough data to identify the source of these variations (Silveira et al. 2010). In another study, five of the 15 species recorded by Espartosa et al. (2011) were captured only by camera trapping or track counts using sampling units consisting of one camera trap and four sand plots set at 5 m around the camera. These findings corroborate our previous study (Srbek-Araujo & Chiarello 2007), in which we suggested that factors intrinsic to the place at which the equipment was installed might influence the records obtained. Our results further exemplify how much variability can be present in camera-trap data, which can restrict the application of records and blur conclusions, even when the same sampling methods are used and similar sampling designs are applied. Because of that variability, researchers conducting camera-trap surveys in time series should try to ensure a consistent setup of cameras (e.g., leaving cameras in situ for a long time) to reduce the stochasticity effect.

Despite the set of factors influencing the detection probability of species (e.g., Yasuda 2004, Larrucea et al. 2007, Guil et al. 2010, Harmsen et al. 2010), there is a growing demand for the use of camera traps as a tool for estimating population parameters or monitoring the population tendencies of threatened species. When the same sampling survey is adopted, it is reasonable to evaluate the trend of camera-trap records against a detectable perturbation or impact (e.g., the start of hunting activities or the detection of pest animals), but it is necessary to determine whether the trends of decline or increase are real or whether they result from other sampling factors (Tomas & Miranda 2003).

According to Johnson (2008), for the valid use of indices to detect changes in density or abundance, the variation in detectability needs to be substantially lower than the variation in population size. Based on this premise, imperfect detectability or changes in species detection can make the use of rates of camera-trap capture non-viable as surrogates of abundance estimates or inputs for relative abundance indices. The capture success calculated for each species in the present study, for example, which is similar to the index of relative abundance “RAI-2” described by O'Brien et al. (2003), varied highly among the sampling designs for almost all of the species. Furthermore, for several species, there was no overlap in capture success among years, and the capture rate varied in both directions (rise and decline) over consecutive years, with very large differences in values. However, we assumed that the mammal community structure did not change dramatically in RNV over the four years of study and, therefore, that the variation in capture success among years and survey designs has another source. In this sense, it is noteworthy that smaller mammals experience more dramatic seasonal declines in abundance than do larger mammals (Harestad & Bunnell 1979). Additionally, variations in the abundance of medium and large mammal populations are not expected to occur as sudden events of high magnitude under stable environmental conditions (Vaughan et al. 2000). This pattern is reasonable to expect for RNV due to the existence of an effective surveillance system against poaching, logging and forest-fire intrusions. These activities help keep the local fauna and flora buffered against anthropogenic threats and disturbances, which currently occur at low intensities. Although changes in the abundance of medium-size and large mammals may occur as a result of significant changes in the availability of food resources (e.g., Groot-Bruinderink et al. 1994) or intensive poaching (e.g., Chiarello 1999), for example, it is often difficult to detect population declines over relatively short periods, unless the rates are catastrophic (Tomas & Miranda 2003). Furthermore, it is unlikely that the changes affect, in a short time, a comprehensive set of species with different ecological requirements and different levels of hunting pressure, with abrupt variations of abundance indices, as observed in the present study. Therefore, the variation in the specific capture success in RNV indicates a lack of real functional relationship between the camera-trapping rate and population abundance.

Our results provide further support to previous studies, indicating that detection is not similar for all species, neither in the same area nor between similar sampling designs (e.g., Tobler et al. 2008, Harmsen et al. 2010), which is aggravated by the stochasticity associated with the camera-trap location and orientation. Consequently, the capture rate obtained by camera traps is not standard and cannot be correlated with population size; therefore, the capture rate does not represent a precise input to assess the relative abundance of species without suitable data processing. To use the number of records in the evaluation of quantitative attributes of a species over time and among sampling sites, it is necessary to obtain comparable capture rates (Jennelle et al. 2002, Engeman 2005). To do so, we must ensure that the field protocols are standardized and simultaneously applied (Espartosa et al. 2011) and assume that the detection probability of target species is similar among the studied sites (Harmsen et al. 2010). Moreover, for abundance analyses, camera-trap surveys must conform to an appropriate sampling design (with adequate spatial and temporal replication) to produce indices with a useful level of precision (Engeman 2005), and the indices must be calibrated (Carbone et al. 2001). Otherwise, the use of photographic records per se for population inferences can lead to erroneous interpretations of the number of individuals composing the populations, leading to under- or over-estimates of the populations of species whose specimens cannot be individually identified.

The influence of habitat use on the detection probabilities and capture rates of mammals (e.g., Srbe-Araujo & Chiarello 2005, Larrucea et al. 2007, Tobler et al. 2008, Harmsen et al. 2010) is one of the main sources of variation in camera-trap data, reinforcing the fact that comparisons of relative abundance indices between species should always be made with caution (Harmsen et al. 2010). The same caution should be applied to compare the same species in the same site or among areas based on similar or different sampling surveys. Corroborating the reports of other authors (Carbone et al. 2001, Jennelle et al. 2002, Srbe-Araujo & Chiarello 2007, Harmsen et al. 2010), we recommend that data on the capture rates of species should only be used as a surrogate for abundance when the probability of detection of each taxon has been ascertained and the indices based on capture rates have been calibrated. If these tasks cannot be accomplished, we suggest that camera-trapping rates should be best used as inputs for presence

and detection analyses and for behavior inferences (regarding the preferential use of habitats and activity patterns, for example). Alternatively, the camera-trap data from appropriate sampling designs could be used to estimate species occupancy, which may be used as a surrogate for abundance (MacKenzie et al. 2002, MacKenzie & Royle 2005), as applied by Ahumada et al. (2011). When it is possible to distinguish individuals, camera-trap data can be used to estimate population parameters through the use of capture-recapture probabilistic models, as proposed by Karanth (1995) and Karanth & Nichols (1998).

Conclusions

Our results indicate that the sampling design influences the mammal community recorded by camera traps, reinforcing that the risk of tendentious sampling must be taken into account when designing species inventories. The differences observed for the same species among the sampling years resulted mostly from habitat use and behavioral attributes in association with differences in the sampling design, which resulted in differential detectability and in different capture rates. We also observed a wide variation in the distribution of records per sampling point, within and among sampling periods, for most of the species recorded at RNV, and the variation in camera trap records may be high at the same spot. These data demonstrated the stochasticity associated with equipment location and orientation, reinforcing the idea that camera-trap surveys conducted in time series should try to ensure a consistent setup of cameras to reduce the stochasticity effect. The variation in specific capture success in RNV, at a high level and in both directions over consecutive years, indicates a lack of a real functional relationship between the camera-trapping rate and population abundance. Consequently, the use of rates of camera-trap capture per se for abundance inferences can lead to under- or over-estimates of the populations of mammalian species that are not individually identifiable.

Acknowledgments

The data in this paper are part of the research project “Population Size, Density and Habitat Use by Jaguar (*Panthera onca*, Carnivora, Felidae) in Reserva Natural Vale, Linhares, Espírito Santo / Brazil”. We thank Vale S.A. / Instituto Ambiental Vale for their financial support. H.J. Del-Duque Junior, E.R. Coelho, B. Guerin and J. Simplício for their help with the field activities and E.C. Landau from Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) for the inestimable help with the climatic variables data. We thank anonymous reviewers for comments that helped to improve the paper. A. G. Chiarello is sponsored by CNPq (303273/2008-9 and 306848/2011-2).

References

- AHUMADA, J.A., SILVA, C.E.F., GAJAPERSAD, K., HALLAM, C., HURTADO, J., MARTIN, E., MCWILLIAM, A., MUGERWA, B., O'BRIEN, T., ROVERO, F., SHEIL, D., SPIRONELLO, W.R., WINARNI, N. & ANDELMAN, S.J. 2011. Community structure and diversity of tropical forest mammals: data from a global camera trap network. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B* 366:2703-2711.
- BEISIEGEL, B.M. 2009. First camera-trap record of bush dogs in the state of São Paulo, Brazil. *Canid News* 12.5. http://www.canids.org/canidnews/12/Bush_dogs_in_Sao_Paulo.pdf (last accessed on 08 July 2010).
- CARBONE, C., CHRISTIE, S., CONFORTI, K., COULSON, T., FRANKLIN, N., GINSBERG, J.R., GRIFFITHS, M., HOLDEN, J., KAWANISHI, K., KINNAIRD, M., LAIDLAW, R., LYNAM, A., MACDONALD, D.W., MARTYR, D., MCDUGAL, C., NATH, L., O'BRIEN, T.O., SEIDENSTICKER, J., SMITH, D.J.L., SUNQUIST, M., TILSON, R. & WAN SHAHRUDDIN, W.N. 2001. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals. *Anim. Conserv.* 4(1):75-79.

- CARBONE, C., CHRISTIE, S., CONFORTI, K., COULSON, T., FRANKLIN, N., GINSBERG, J.R., GRIFFITHS, M., HOLDEN, J., KINNAIRD, M., LAIDLAW, R., LYNAM, A., MACDONALD, D.W., MARTYR, D., MCDUGAL, C., NATH, L., O'BRIEN, T.O., SEIDENSTICKER, J., SMITH, D.J.L., TILSON, R. & WAN SHAHRUDDIN, W.N. 2002. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals: response to Jennelle et al. *Anim. Conserv.* 5(2):121-132.
- CHIARELLO, A.G. 1999. Effects of fragmentation of the Atlantic Forest on mammal communities in south-eastern Brazil. *Biol. Conserv.* 89:71–82.
- COLWELL, R.K. & CODDINGTON, J.A. 1994.. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 345:101-118.
- DIEFENBACH, D.R., CONROY, M.J., WARREN, R.J., JAMES, W., BAKER, L.A. & HON, T. 1994. A test of the scent-station survey technique for bobcats. *J. Wildl. Manage.* 58:10–17.
- ENGEMAN, R.M. 2005. Indexing principles and a widely applicable paradigm for indexing animal populations. *Wildl. Res.* 32:203–210.
- ESPARTOSA, K.D., PINOTTI, B.T. & PARDINI, R. 2011. Performance of camera trapping and track counts for surveying large mammals in rainforest remnants. *Biodiv. Conserv.* 20(12):2815-2829.
- FSOSMA & INPE. 2011. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2008-2010. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo.
http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2008-10_relatorio%20final_versao2_julho2011.pdf (last accessed on 10 August 2012).
- GROOT-BRUINDERINK, G.W.T.A., HAZEBROEK, E. & VAN DER VOOT, H. 1994. Diet and condition of wild boar, *Sus scrofa scrofa*, without supplementary feeding. *J. Zool.* 233:631–648.
- GU, W. & SWIHART, R.K. 2004. Absent or undetected? Effects of non-detection of species occurrence on wildlife-habitat models. *Biol. Conserv.* 116:195-203.
- GUIL, F., AGUDÍN, S., EL-KHADIR, N., FERNANDEZ-OLALLA, M., FIGUEREDO, J., DOMÍNGUEZ, F.G., GARZON, P., GONZALEZ, G., MUÑOZ-IGUALADA, J., ORIA, J. &

- SILVESTRE, F. 2010. Factors conditioning the camera-trapping efficiency for the Iberian lynx (*Lynx pardinus*). Eur. J. Wildl. Res. 56(4):633-640.
- HARESTAD, A.S. & BUNNEL, F.L. 1979. Home Range and Body Weight--A Reevaluation. Ecology 60(2):389-402.
- HARMSSEN, B.J., FOSTER, R.J., SILVER, S., OSTRO, L. & DONCASTER, C.P. 2010. Differential Use of Trails by Forest Mammals and the Implications for Camera-Trap Studies: A Case Study from Belize. Biotropica 42(1):126-133.
- JÁCOMO, A.T.A., SILVEIRA, L. & DINIZ-FILHO, J.A.F. 2004. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab-eating fox (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brazil. J. Zool. 262:99-106.
- JENNELLE, C.S., RUNGE, M.C. & MACKENZIE, D.I. 2002. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals: a comment on misleading conclusions. Anim. Conserv. 5(2):119-120.
- JESUS, R.M. & ROLIM, S.G. 2005. Fitossociologia da Mata Atlântica de Tabuleiro. Boletim Técnico da Sociedade de Investigações Florestais 19:1-149.
- JOHNSON, D.H. 2008. In Defense of Indices: The Case of Bird Surveys. J. Wildl. Manage. 72:857-868.
- KARANTH, K.U. 1995. Estimating tiger (*Panthera tigris*) populations from camera-trap data using capture-recapture models. Biol. Conserv. 71:333-338.
- KARANTH, K.U. & NICHOLS, J.D. 1998. Estimation of tiger densities in India using photographic captures and recaptures. Ecology 79:2852-2862.
- KASPER, C.B., MAZIM, F.D., SOARES, J.B.G., OLIVEIRA, T.G. & FABIÁN, M.E. 2007. Composição e abundância relativa dos mamíferos de médio e grande porte no Parque Estadual do Turvo, Rio Grande do Sul, Brasil. Rev. Bras. Zool. 24(4):1087-1100.
- KELLY, M.J. & HOLUB, E.L. 2008. Camera Trapping of Carnivores: Trap Success Among Camera Types and Across Species, and Habitat Selection by Species, on Salt Pond Mountain, Giles County, Virginia. Northeast. Nat. 15(2):249-262.

- LARRUCEA, E.S., BRUSSARD, P.F., JAEGER, M.M. & BARRETT, R.H. 2007. Cameras, coyotes, and the assumption of equal detectability. *J Wildl Manage* 71(5):1682–1689.
- MACKENZIE, D.I., NICHOLS, J.D., LACHMAN, G.B., DROEGE, S., ROYLE, J.A. & LANGTIMM, C.A. 2002. Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. *Ecology* 83:2248–2255.
- MACKENZIE, D.I. & ROYLE, J.A. 2005. Designing occupancy studies: general advice and allocating survey effort. *J. Appl. Ecol.* 42:1105–1114.
- O'BRIEN, T.G., KINNAIRD, M.F. & WIBISONO, H.T. 2003. Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey populations in a tropical forest landscape. *Anim. Conserv.* 6(2):131-139.
- ROVERO, F. & MARSHALL, A.R. 2009. Camera trapping photographic rate as an index of density in forest ungulates. *J. Appl. Ecol.* 46:1011–1017.
- ROWCLIFFE, J.M., FIELD, J., TURVEY, S.T. & CARBONE, C. 2008. Estimating animal density using camera traps without the need for individual recognition. *J. Appl. Ecol.* 45:1228–1236.
- SILVEIRA, L., JACOMO, A.T.A. & DINIZ-FILHO, J.A.F. 2003. Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biol. Conserv.* 114:351-355.
- SILVEIRA, L.F., BEISIEGEL, B.M., CURCIO, F.F., VALDUJO, P.H., DIXO, M., VERDADE, V.K., MATTOX, G.M.T. & CUNNINGHAM, P.T.M. 2010. Para que servem os inventários de fauna? *Estudos Avançados* 24:173-207.
- SMITH, C.D. & PONTIUS, J.S. 2006. Jackknife Estimator of Species Richness with S-PLUS. *Journal of Statistical Software* 15:1-12. <http://www.jstatsoft.org/> (last accessed on 22 January 2012).
- SRBEK-ARAUJO, A.C. & CHIARELLO, A.G. 2005. Is camera-trapping an efficient method for surveying mammals in Neotropical forests? A case study in south-eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 21(1):121-125.
- SRBEK-ARAUJO, A.C. & CHIARELLO, A.G. 2007. Armadilhas fotográficas na amostragem de mamíferos: considerações metodológicas e comparação de equipamentos. *Rev. Bras. Zool.* 24(3):647-656.

- SRBEK-ARAUJO, A.C., SCOSS, L.M., HIRSCH, A. & CHIARELLO, A.G. 2009. Recent records of the giant-armadillo *Priodontes maximus* (Kerr, 1792) (Cingulata, Dasypodidae), in the Atlantic Forest of Minas Gerais and Espírito Santo: last refuges of the species in the Atlantic forest? *Zoologia* 26(3):461-468.
- TOBLER, M.W., CARRILLO-PERCASTEGUI, S.E., LEITE PITMAN, R., MARES, R. & POWELL, G. 2008. An evaluation of camera traps for inventorying large- and medium-sized terrestrial rainforest mammals. *Anim. Conserv.* 11(3):169-178.
- TOMAS, W.M. & MIRANDA, G.H.B. 2003. Uso de equipamento fotográfico automático em levantamentos populacionais. In *Métodos de Estudo em Biologia da Conservação & Manejo da Vida Silvestre* (L.Cullen Jr, R. Rudran. & C. Valladares-Padua, eds.). Editora UFPR, Curitiba, p. 243-267.
- TROLLE, M. & KÉRY, M. 2005. Camera-trap study of ocelot and other secretive mammals in the northern Pantanal. *Mammalia* 69(3-4):405-412.
- VAUGHAN, T.A., RYAN, J.E. & CZAPLEWSKI, N.J. 2000. *Mammalogy*. 4 ed. Thomson Learning Academic Resource Center, Stanford.
- VOSS, R.S. & EMMONS, L. 1996. Mammalian diversity in Neotropical lowland rainforests: a preliminary assessment. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 230:1-115.
- WECKEL, M., GIULIANO, W. & SILVER, S. 2006. Jaguar (*Panthera onca*) feeding ecology: distribution of predator and prey through time and space. *J. Zool.* 270:25-30.
- YASUDA, M. 2004. Monitoring diversity and abundance of mammals with camera traps: a case study on Mount Tsukuba, central Japan. *Mammal Study* 29:37-46.

Tables

Table 1. Features of the sampling designs used in each year of the study in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010).

	Sampling coverage	Camera placement	Number of trapping stations	Sampling duration (number of months)	Sampling time/sampling station	Camera spacing (km)*
Year 1	Areas north, south and west	Internal roads	30 (10/area)	12	4 months/area (2 months/wet season and 2 months/dry season)	2.35 (1.96)
Year 2	Areas north, south and west	Forest interior at 100-200 m from the nearest internal road	10	14	Fixed	4.40 (4.05)
Year 3	Areas north, south and west	Forest interior at 500 m from the nearest internal road	10	14	Fixed	5.14 (3.93)
Year 4	Area north	Internal roads	8	8	Fixed	2.31 (1.75)

* Average distance between adjacent sampling points. The minimum spacing between cameras is shown in brackets.

Table 2. Number of records (n) and capture success (CS) for each mammal species recorded by four camera trapping sampling designs in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010). The species richness, sampling effort (camera-days) and total capture success are also shown for each sampling design separately and in total.

Order	Species	Year 1 (roads)		Year 2 (internal edges)		Year 3 (forest interior)		Year 4 (roads)		Total
		n	CS	n	CS	n	CS	n	CS	
		Didelphimorphia	<i>Didelphis aurita</i> (Wied-Neuwied, 1826)	5	0.16	21	0.61	3	0.10	
	<i>Metachirus nudicaudatus</i> (Desmarest, 1817)			7	0.20					7
	<i>Cabassous tatouay</i> (Desmarest, 1804)			1	0.03			1	0.10	2
Cingulata	<i>Dasypus</i> sp. (Linnaeus, 1758) ^a	10	0.33	74	2.13	38	1.25	11	1.06	133
	<i>Euphractus sexcinctus</i> (Linnaeus, 1758)	1	0.03			1	0.03			2
Pilosa	<i>Tamandua tetradactyla</i> (Linnaeus, 1758)			1	0.03			1	0.10	2
	<i>Callithrix geoffroyi</i> (É. Geoffroy in Humboldt, 1812)							1	0.10	1
Primates	<i>Sapajus robustus</i> (Kuhl, 1820)			2	0.06			3	0.29	5
	<i>Canis lupus familiaris</i> (Linnaeus, 1758)	2	0.07							2
Carnivora	<i>Cerdocyon thous</i> (Linnaeus, 1766)	24	0.79					34	3.29	58

	<i>Galictis cuja</i> (Bell, 1826)							1	0.10	1
	<i>Nasua nasua</i> (Linnaeus, 1766)	17	0.56	71	2.05	47	1.55	1	0.10	136
	<i>Procyon cancrivorus</i> (G. Cuvier, 1798)	17	0.56					1	0.10	18
	<i>Eira barbara</i> (Linnaeus, 1758)			7	0.20	3	0.10			10
	<i>Leopardus pardalis</i> (Linnaeus, 1758)	67	2.21	13	0.37	5	0.16	16	1.55	101
	<i>Leopardus wiedii</i> (Schinz, 1821)			1	0.03	2	0.07	2	0.19	5
	<i>Panthera onca</i> (Linnaeus, 1758)	80	2.64	3	0.09	2	0.07	32	3.10	117
	<i>Puma concolor</i> (Linnaeus, 1771)					1	0.03			1
	<i>Puma yagouaroundi</i> (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1803)	3	0.10	9	0.26	3	0.10	4	0.39	19
Perissodactyla	<i>Tapirus terrestris</i> (Linnaeus, 1758)	68	2.24	51	1.47	50	1.65	8	0.77	177
	<i>Tayassu pecari</i> (Link, 1795)	5	0.16	2	0.06	3	0.10			10
Artiodactyla	<i>Pecari tajacu</i> (Linnaeus, 1758)			51	1.47	46	1.52	2	0.19	99
	<i>Mazama</i> sp. (Rafinesque, 1817) ^b	57	1.88	378	10.90	563	18.56	34	3.29	1,032
	<i>Sciurus aestuans</i> (Linnaeus, 1766)			16	0.46	17	0.56			33
Rodentia	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> (Linnaeus, 1766)	5	0.16			2	0.07	3	0.29	10
	<i>Cuniculus paca</i> (Linnaeus, 1766)	4	0.13	194	5.59	91	3.00	18	1.74	307

	<i>Dasyprocta leporina</i> (Linnaeus, 1758)	16	0.53	231	6.66	152	5.01	16	1.55	415
Lagomorpha	<i>Sylvilagus brasiliensis</i> (Linnaeus, 1758)	42	1.39					2	0.19	44
Number of Records		423		1,133		1,029		205		2,790
Number of Species		17 (19)		19 (21)		18 (20)		21 (23)		28 (30)
Sampling Effort		3,032		3,468		3,034		1,033		10,567
Capture Success		13.95		32.67		33.92		19.85		26.40

^a *Dasyopus novemcinctus* (Linnaeus, 1758) and *Dasyopus septemcinctus* (Linnaeus, 1758).

^b *Mazama americana* (Erxleben, 1777) and *Mazama gouazoubira* (G. Fischer, 1814).

Table 3. Number of sampling points (p), amplitude of records per trap station (am) and average number of records per sampling point (av) for each of the mammal species recorded using four camera trapping sampling designs in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010). Kruskal-Wallis one-way analysis of variance results are also shown for each species tested (df=3, n=58 cases).

Species	Year 1			Year 2			Year 3			Year 4			Kruskal-Wallis
	p	am	av	p	am	av	p	am	av	p	am	av	
<i>C. tatouay</i>	-	-	-	1	1	1.00	-	-	-	1	1	1.00	H = 4.6318, p = 0.201
<i>C. geoffroyi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1.00	-
<i>S. robustus</i>	-	-	-	1	2	2.00	-	-	-	1	3	3.00	H = 4.6318, p = 0.201
<i>C. thous</i>	10	1 - 4	2.40	-	-	-	-	-	-	4	2 - 18	8.50	H = 11.103, p = 0.011
<i>C. paca</i>	4	1	1.00	10	1 - 50	19.40	8	1 - 38	11.38	4	1 - 14	4.50	H = 30.3992, p < 0.001
<i>D. leporina</i>	6	1 - 4	2.67	10	5 - 47	23.10	10	1 - 58	15.20	4	2 - 9	4.00	H = 31.7385, p < 0.001
<i>Dasypus</i> sp.	4	1 - 4	2.50	9	3 - 15	8.22	5	1 - 26	7.60	2	4 - 7	5.50	H = 18.6732, p < 0.001
<i>D. aurita</i>	3	1 - 3	1.67	7	1 - 8	3.00	3	1	1.00	3	4 - 5	4.67	H = 12.2507, p = 0.007
<i>E. barbara</i>	-	-	-	4	1 - 4	1.75	2	1 - 2	1.50	-	-	-	H = 14.2842, p = 0.003
<i>E. sexcinctus</i>	1	1	1.00	-	-	-	1	1	1.00	-	-	-	H = 1.8327, p = 0.608
<i>G. cuja</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1.00	-
<i>H. hydrochaeris</i>	5	1	1.00	-	-	-	2	1	1.00	2	1 - 2	1.50	H = 2.5263, p = 0.471

<i>L. pardalis</i>	18	1 - 21	3.72	5	1 - 6	2.60	3	1 - 3	1.67	5	2 - 5	3.20	H = 8.4012, p = 0.039
<i>L. wiedii</i>	-	-	-	1	1	1.00	2	1	1.00	2	1	1.00	H = 7.406, p = 0.060
<i>Mazama sp.</i>	19	1 - 8	3.00	10	27 - 68	37.80	10	14 - 92	56.30	6	1 - 16	5.67	H = 35.5118, p < 0.001
<i>M. nudicaudatus</i>	-	-	-	2	2 - 5	3.50	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. nasua</i>	5	1 - 7	3.40	10	1 - 20	7.10	10	1 - 9	4.70	1	1	1.00	H = 28.5303, p < 0.001
<i>P. onca</i>	24	1 - 14	3.33	3	1	1.00	2	1	1.00	7	1 - 16	4.57	H = 24.4249, p < 0.001
<i>P. tajacu</i>	-	-	-	10	1 - 11	5.10	8	1 - 24	5.75	2	1	1.00	H = 40.7603, p < 0.001
<i>P. cancrivorus</i>	9	1 - 5	1.89	-	-	-	-	-	-	1	1	1.00	H = 7.9002, p = 0.048
<i>P. concolor</i>	-	-	-	-	-	-	1	1	1.00	-	-	-	-
<i>P. yagouaroundi</i>	3	1	1.00	6	1 - 2	1.50	3	1	1.00	4	1	1.00	H = 9.2832, p = 0.026
<i>S. aestuans</i>	-	-	-	5	1 - 9	3.20	7	1 - 6	2.43	-	-	-	H = 29.1555, p < 0.001
<i>S. brasiliensis</i>	8	1 - 15	5.25	-	-	-	-	-	-	2	1	1.00	H = 6.3342, p = 0.096
<i>T. tetradactyla</i>	-	-	-	1	1	1.00	-	-	-	1	1	1.00	H = 4.6318, p = 0.201
<i>T. terrestris</i>	19	1 - 11	3.58	2	1 - 14	25.50	10	1 - 11	5.00	4	1 - 3	2.00	H = 2.6301, p = 0.452
<i>T. pecari</i>	5	1	1.00	2	1	1.00	3	1	1.00	-	-	-	H = 2.4932, p = 0.477

Table 4. Number of species recorded by each camera separately (C1 and C2), in total (C1+C2) and the intersection of records (number of species [n] and percentage [%] of the total species recorded) during the 30-day period from two cameras positioned on the same tree and facing opposite directions. The results from the pairs of cameras were arranged in increasing rate of intersection of records. See Methods for details.

Samples (pairs)	Cameras			Intersection	
	C1	C2	C1+C2	n	%
2	5	0	5	0	0.0
3	5	4	8	1	12.5
4	5	3	7	1	14.3
1	1	5	5	1	20.0
6	1	4	4	1	25.0
5	2	1	2	1	50.0
7	1	2	2	1	50.0
8	3	4	4	3	75.0
Total	12	11	15	8	53.3

Figure Legends

Figure 1. Reserva Natural Vale (Espírito Santo state) and locations of the camera traps in the four different sampling designs (June 2005 to February 2010).

Figure 2. Sample-based species-accumulation curves (Mao Tau estimator) for the mammal species recorded during camera trapping surveys in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010), including the lower and upper bounds of the 95% CI: year 1 (a), year 2 (b), year 3 (c), year 4 (d) and the whole study (e). Each sampling unit (x axis) represents 10 camera-days.

Figure 3. Dendrogram produced by the cluster analyses of the presence/absence data (Jaccard coefficient) of the species recorded by the camera traps in the four sampling designs in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010).

Figure 4. Means and confidence intervals (95% CI) of the capture success per sampling point for each camera trap design in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010).

Figure 5. Means and confidence intervals (95% CI) of the capture success per sampling point for Carnivora species (Families Canidae, Procyonidae and Felidae) (a) and other Orders (Families Didelphidae, Dasypodidae, Tayassuidae, Cervidae, Tapiridae, Dasyproctidae, Cuniculidae and Leporidae) (b) recorded in four camera trap designs in Reserva Natural Vale (June 2005 to February 2010).

Figures

Figure 1

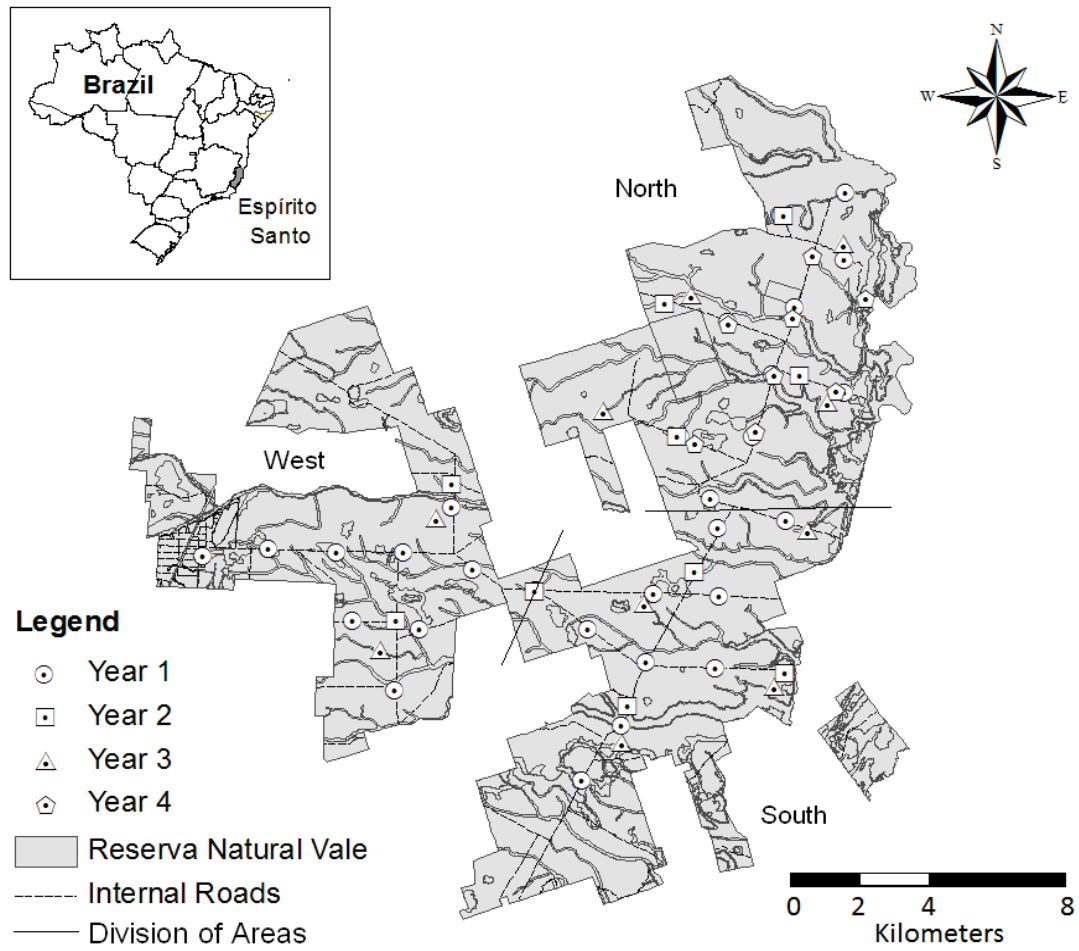


Figure 2

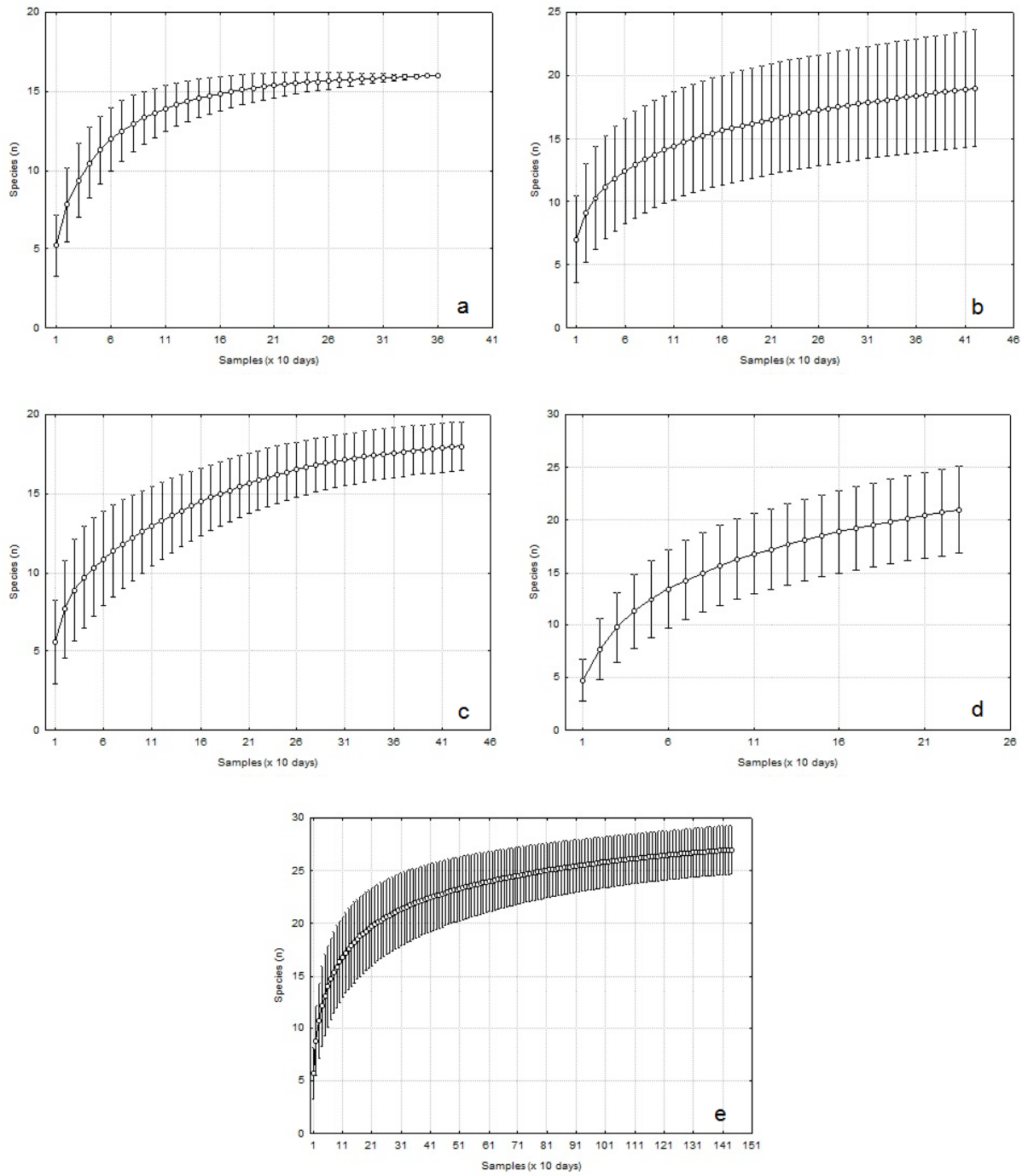


Figure 3

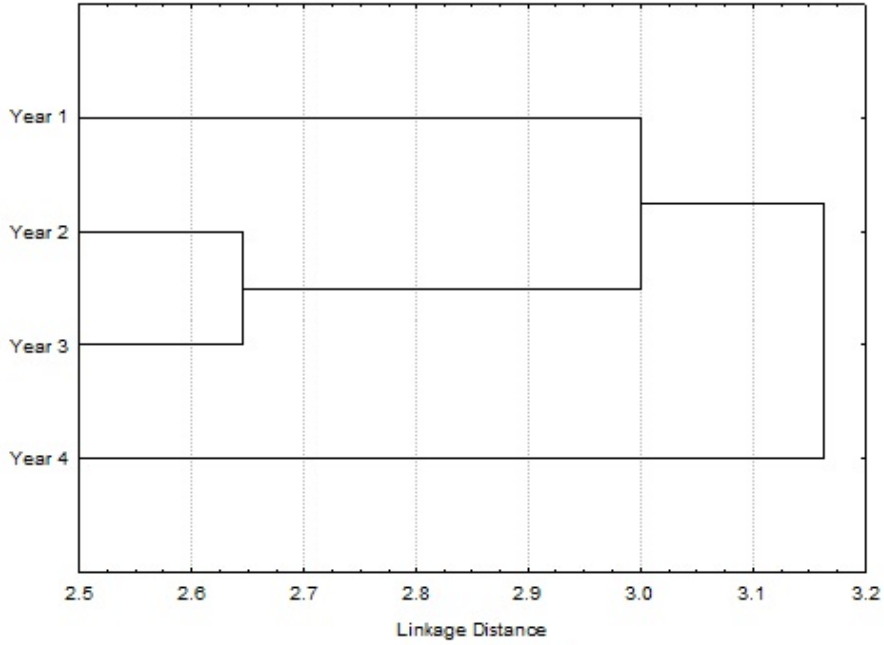


Figure 4

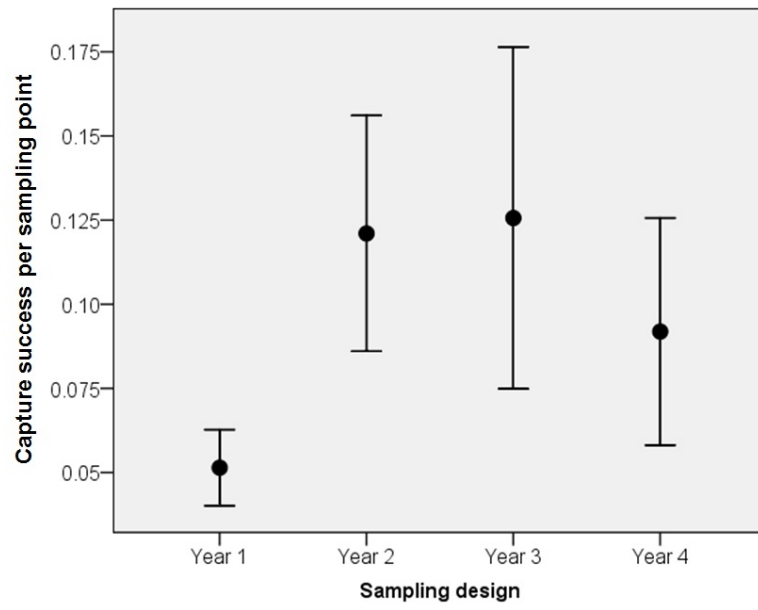
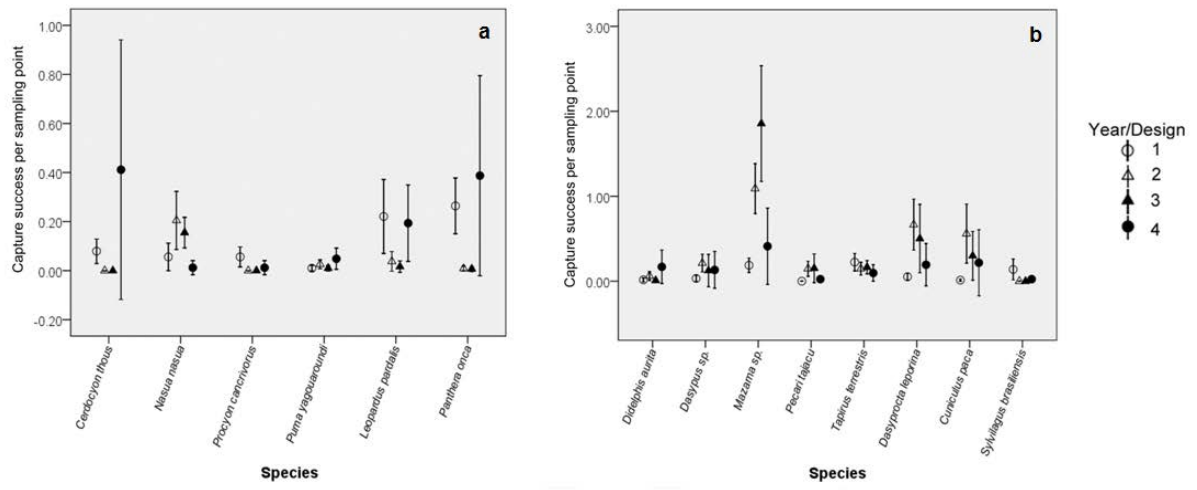


Figure 5



Parâmetros populacionais, ecologia espacial e interações sociais da onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) na Reserva Natural Vale, sudeste do Brasil

1. Introdução

A Mata Atlântica é classificada como uma das áreas de grande riqueza biológica mais ameaçadas no planeta, apresentando elevadas taxas de perda de hábitat e grande número de endemismos, o que a torna um dos 34 *Hotspots* mundiais de Biodiversidade (Mittermeier *et al.* 2004).

Com uma área original de aproximadamente 1.300.000 km² de extensão, que corresponde a cerca de 15% do território nacional, o bioma Mata Atlântica abrange 17 estados brasileiros, se estendendo do Rio Grande do Sul ao Piauí, e abriga cerca de 61% da população brasileira (aproximadamente 112 milhões de pessoas) (FSOSMA & INPE 2009). A Mata Atlântica encontra-se atualmente restrita a menos de 12% de sua cobertura florestal original (FSOSMA & INPE 2011) e menos de 40% da área total remanescente no bioma encontram-se inseridos em áreas oficialmente destinadas à conservação da Biodiversidade (Myers *et al.* 2000).

Acrescida à significativa perda de área total, a área remanescente no bioma está dividida em cerca de 245 mil fragmentos (Ribeiro *et al.* 2009). O tamanho médio dos remanescentes sobre proteção legal é considerado relativamente pequeno, chegando a aproximadamente 9.210 ha, e parte expressiva da área total e do número de remanescentes encontram-se inseridos em fragmentos de pequeno tamanho, que

apresentam área inferior a 5.000 ha (Gascon *et al.* 2000). Segundo Ribeiro *et al.* (2009), mais de 83% dos fragmentos remanescentes de Mata Atlântica possuem menos de 50 ha de extensão e apenas 0,3% são maiores que 10.000 ha.

Neste contexto, os remanescentes passam a atuar como reservatórios de pequenos estoques populacionais que, em conjunto, guardam todo o repertório genético das espécies. Destaca-se, entretanto, que o tamanho das áreas é um dos aspectos relacionados à sua efetividade na manutenção dos processos biológicos das espécies, influenciando também a composição das comunidades mantidas nos remanescentes em longo prazo. Populações pequenas e isoladas estão submetidas a efeitos negativos de estocasticidade ambiental, demográfica e genética, tornando-se mais vulneráveis à extinção (Gilpin & Soulé 1986, Lynch & Lande 1998), onde se destacam o aumento da consanguinidade, a redução da variabilidade genética, a redução das taxas de reprodução e de sobrevivência, entre outros problemas populacionais (Michalski *et al.* 2001). Neste sentido, a perda de variabilidade genética e, conseqüentemente, a perda de flexibilidade evolucionária, podem limitar a habilidade das populações em se adaptarem a transformações ambientais em médio e longo prazo. Destaca-se também que populações em áreas reduzidas podem apresentar maior suscetibilidade a doenças devido ao aumento da densidade populacional e favorecimento da transmissão de infecções (Gilbert 1994), alterando a longevidade das espécies pela redução do tempo de vida dos indivíduos (Primack & Rodrigues 2001).

Dentre os mamíferos, os carnívoros constituem um grupo com amplas exigências de área de vida, em decorrência da elevada demanda por recursos alimentares, sendo necessárias grandes áreas para a conservação das espécies. De acordo com Carbone & Gittleman (2002), a densidade populacional das espécies de carnívoros está em geral positivamente correlacionada com a biomassa das presas e o número de carnívoros suportado por determinada biomassa diminui com o decréscimo do

tamanho corporal das presas. Isso se deve ao fato da massa corporal do predador estar positivamente relacionada com a massa corporal de sua presa mais comum (Carbone *et al.* 1999). Estima-se que carnívoros pesando mais de 21,5 kg, especialmente canídeos e felídeos, utilizem principalmente presas que apresentam cerca de 45% de sua própria massa, sendo basicamente predadores de vertebrados (Carbone *et al.* 1999). Neste sentido, a necessidade energética dos grandes felinos é um importante fator na compreensão de sua vulnerabilidade (Carbone *et al.* 1999), ressaltando que áreas pequenas não suportam uma comunidade de presas suficiente para suprimento energético de uma comunidade complexa de carnívoros, especialmente considerando espécies de maior tamanho corporal. Segundo Carbone & Gittleman (2002), deve-se considerar também aspectos da biologia das espécies, tais como predação interespecífica e competição com outras espécies, como fatores principais que influenciam a densidade populacional de carnívoros.

A onça-pintada (*Panthera onca*) é o maior felino das Américas e, portanto, o maior predador terrestre do Brasil. Sua distribuição histórica se estendia do sudoeste dos Estados Unidos ao norte da Argentina (Seymour 1989), sendo atualmente considerada extinta em parte de sua distribuição original (Sanderson *et al.* 2002). A área atual de ocorrência da espécie está dividida em 48 regiões e corresponde a menos de 46% de sua distribuição original (Sanderson *et al.* 2002, Zeller 2007). No Brasil, as populações mais expressivas estão localizadas no Pantanal e na Amazônia (Cavalcanti *et al.* 2012, Oliveira *et al.* 2012, Silveira & Crawshaw 2008), sendo a Mata Atlântica o bioma no qual a espécie encontra-se mais ameaçada (Beisiegel *et al.* 2012, Ferraz *et al.* 2012, Sanderson *et al.* 2002).

A presença da onça-pintada foi recentemente confirmada em oito regiões / localidades na Mata Atlântica brasileira e as subpopulações remanescentes encontram-se em declínio (Beisiegel *et al.* 2012). A população total ao longo do bioma não é maior do que 156-180 indivíduos adultos reprodutivos e menos de 50 indivíduos são estimados

para a maioria das localidades com registro atual da espécie (Beisiegel *et al.* 2012). Estima-se que pouco mais de 10% da área total remanescente da Mata Atlântica seja adequada para a ocorrência da onça-pintada (Ferraz *et al.* 2012) e a área potencial de uso pela espécie no bioma está restrita a áreas extremamente fragmentadas e isoladas (Tôrres *et al.* 2008). Neste cenário, ainda que a área potencial de uso atualmente disponível para a espécie não sofra alterações futuras, a redução da abundância da onça-pintada nos remanescentes irá favorecer sua extinção local, sendo necessárias medidas urgentes para a manutenção da viabilidade das populações (Tôrres *et al.* 2008).

O estado do Espírito Santo possuía originalmente todo seu território ocupado por formações vegetacionais naturais da Mata Atlântica, correspondendo a aproximadamente 4.614.841 ha (FSOSMA & INPE 2011). Atualmente, os remanescentes de vegetação nativa do estado ocupam apenas 510.753 ha (11,1% da área original), considerando áreas de floresta, restinga e mangue. Se analisados apenas os remanescentes de floresta, estes valores chegam a 478.088 ha (10,4% da área original) (FSOSMA & INPE 2011).

Inseridas neste contexto de perda e descaracterização dos ambientes naturais no Espírito Santo estão a Reserva Natural Vale (RNV) e a Reserva Biológica de Sooretama (RBS), que juntas representam cerca de 9,8% da área de cobertura florestal remanescente no estado (FSOSMA & INPE 2011) e a maior formação em florestas contínuas do Espírito Santo. A população de onças-pintadas presente no bloco composto pela RNV e pela RBS representa a última do Espírito Santo e uma das últimas populações da espécie em todo o bioma Mata Atlântica. Desta forma, mostra-se necessária a obtenção de informações que permitam avaliar a real situação da onça-pintada na região visando à proposição de medidas efetivas para a conservação desta espécie de grande felino no estado do Espírito Santo em longo prazo.

O presente capítulo tem como objetivo investigar os parâmetros populacionais (número de indivíduos, proporção macho-fêmea, recrutamento de espécimes, entre outros aspectos), determinar a área de vida mínima e o padrão de distribuição dos indivíduos registrados, e descrever as interações sociais (sobreposição territorial, sucessão entre machos, etc.) que caracterizam a população de onças-pintadas presente na RNV com base em dados obtidos a partir de armadilhamento fotográfico. Os resultados apresentados neste trabalho constituem os primeiros esforços para caracterizar e avaliar a situação da população de onças-pintadas presente na reserva em estudo, não havendo também informações prévias para a espécie na RBS.

2. Metodologia

2.1. Área de Estudo

O presente estudo foi realizado na Reserva Natural Vale (RNV), localizada na porção norte do estado do Espírito Santo, a 30 km ao norte do rio Doce, entre os municípios de Linhares e Jaguaré (19°06' – 19°18' S e 39°45' – 40°19' W) (Figura 1). A RNV é uma área protegida privada, de propriedade da Vale S.A., que possui 22.711 ha e é adjacente à Reserva Biológica de Sooretama (RBS; 24.250 ha). Juntas estas reservas formam um bloco contínuo de vegetação nativa (bloco Linhares / Sooretama), interceptado pela Rodovia BR-101, e representam quase 10% da área com cobertura florestal remanescente no Espírito Santo (FSOSMA & INPE 2011).

A RNV está inserida em uma das áreas de extrema importância biológica para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica (Ministério do Meio Ambiente *et al.* 2000), no Corredor Central da Mata Atlântica, e integra o Sítio do Patrimônio Natural

Mundial da Costa do Descobrimento (criado pela UNESCO em 1999). Em 2008, em reconhecimento às atividades realizadas na área para uso sustentável dos recursos naturais, incentivo e apoio ao desenvolvimento de conhecimento científico sobre a Mata Atlântica, e realização de ações para proteção da Biodiversidade local e regional, a RNV recebeu o título de Posto Avançado da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, concedido pela UNESCO.

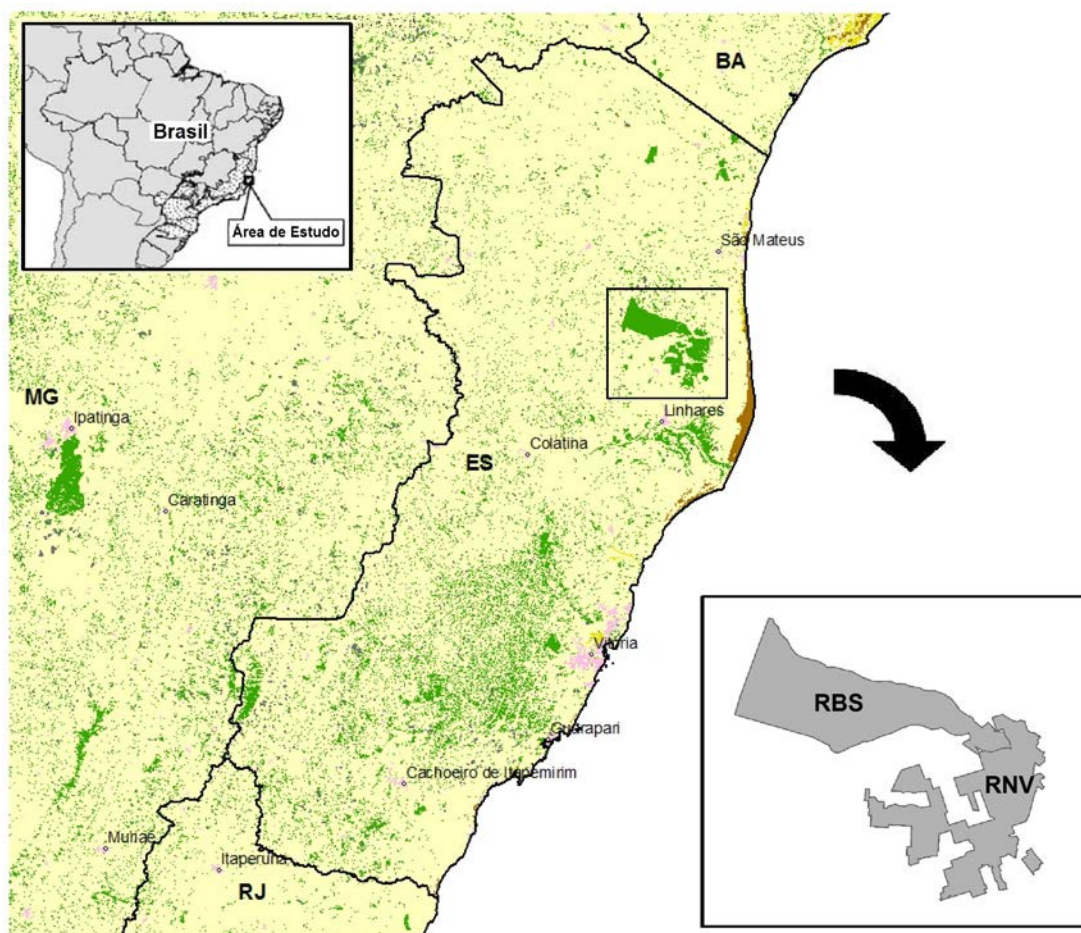


Figura 1: Localização da Reserva Natural Vale (RNV) no estado do Espírito Santo e no bioma Mata Atlântica (área pontilhada) [quadro superior em detalhe]. A imagem de fundo mostra os remanescentes de Mata Atlântica no Espírito Santo e regiões adjacentes (verde = floresta, amarelo escuro = mangue, marrom = restinga, rosa = áreas urbanas) (Modificado de FSOSMA & INPE 2011), com destaque para a

localização da RNV e da Reserva Biológica de Sooretama (RBS). Os limites da RNV e da RBS também são apresentados [quadro inferior em detalhe].

A RNV foi formada a partir de um processo gradativo de aquisição de terras, iniciado em 1955, quando a Vale deu início ao processo de aquisição das primeiras propriedades na região. O objetivo inicial da empresa era a produção de dormentes para abastecimento da Estrada de Ferro Vitória-Minas (Jesus & Rolim 2005). No final da década de 1950, aproximadamente 60% da área atual já se encontrava em posse da empresa, tendo sido realizadas aquisições posteriores, que deram seqüência ao processo de expansão da RNV. Felizmente, os resultados iniciais do manejo de uma pequena área, realizado na década de 1960, revelaram que o projeto para utilização dos recursos madeireiros não seria viável economicamente e a floresta foi mantida como reserva pela Vale (Jesus & Rolim 2005). A RNV atingiu os limites atuais em 1973, estando composta por um bloco principal (aproximadamente 98,1% da área total) e uma pequena área adjacente (fragmento complementar localizado a sudoeste do bloco principal, denominado Reserva das Ibiribas) apresentando contorno não regular (recortado), resultante da fusão de 103 propriedades. Em 1978 foram iniciadas ações para proteção da área (manutenção de cercas e aceiros, prevenção e combate a incêndios, combate à retirada de madeira, combate à caça e à apanha de animais, etc.), denominadas Proteção Ecosistêmica, e a RNV foi instituída oficialmente como uma área destinada à conservação da biodiversidade. Em 1998, após a ocorrência de um grande incêndio que atingiu a RBS, as atividades de proteção realizadas na RNV passaram a ser realizadas também na reserva vizinha.

A RNV apresenta relevo relativamente plano, com uma seqüência de colinas tabulares, apresentando altitudes entre 28 e 65 m (Jesus & Rolim 2005). A rede de drenagens local revela-se dendrítica/dicotômica, sendo formada por um conjunto de

córregos tributários do rio Barra Seca (Jesus & Rolim 2005). De acordo com a classificação de Köppen, o clima na região é do tipo tropical quente e úmido (Aw), apresentando estação chuvosa no verão e seca no inverno (Jesus & Rolim 2005). A temperatura média anual é de 23,3°C, variando entre 14,8 e 34,2°C (média das mínimas e máximas, respectivamente), com uma precipitação pluviométrica média anual de 1.202 mm, caracterizada por uma forte variação entre anos (Jesus & Rolim 2005). A RNV está localizada nos domínios da Floresta Ombrófila Densa, segundo o Mapa de Vegetação do Brasil (IBGE 1993), sendo classificada como Floresta Estacional Perenifólia por Jesus & Rolim (2005), que representa uma tipologia intermediária entre a Floresta Ombrófila Densa e a Floresta Estacional Semidecídua.

A RNV é composta por um mosaico de habitats formado por quatro tipos principais de formações vegetacionais (adaptado de Jesus 1987 e Peixoto & Gentry 1990): Mata de Tabuleiro propriamente dita (mata sempre verde, com dois ou mais estratos superiores e alta ocorrência de lianas e epífitas – aproximadamente 68% da área total), Mata Ciliar (vegetação associada a corpos d'água, com aparência mista, apresentando árvores esparsas e predomínio de palmeiras – cerca de 4% da área da Reserva), Mussununga (vegetação arbórea sobre solos arenosos, sendo fisionomicamente semelhante a uma área em estágio inicial ou médio de regeneração – aproximadamente 8% da RNV) e Campo Nativo (campos abertos com vegetação herbácea, surgindo como enclaves na floresta em áreas que constituíam lagoas em períodos geológicos anteriores – cerca de 6% da área). Além destas formações, cerca de 8% da área total da RNV é ocupada por áreas alagadas (brejos) e corpos d'água. Aproximadamente 6% da área de estudo correspondem às instalações da RNV (uso público e administração / escritórios, Hotel, Viveiro de Mudas e áreas de experimentação / projetos de silvicultura). O mapa detalhado da RNV, incluindo os tipos de vegetação e uso do solo, é apresentado no item “Coleta de Dados”.

A RNV está munida de uma rede de estradas internas não pavimentadas, composta por duas estradas principais (eixos leste-oeste e norte-sul), que permite acesso às diferentes partes da reserva. As estradas possuem cerca de 4 m de largura e somam aproximadamente 126 km de extensão, sendo seu uso permitido apenas pela equipe interna e pesquisadores autorizados.

O entorno da reserva está constituído principalmente por pastagens e culturas agrícolas, com destaque para áreas destinadas ao cultivo de mamão e café, entre outras culturas (Jesus & Rolim 2005). Nos últimos anos, especialmente a partir de 2007, tem havido um incremento de plantios de eucalipto no entorno da RNV.

2.2. Coleta de Dados

A população de onças-pintadas presente na RNV foi estudada ao longo de 54 meses de amostragem, distribuídos em cinco momentos amostrais distintos (denominados “Anos”), empregando-se armadilhas fotográficas. Durante o período de estudo, foram utilizados equipamentos marca Cam Trakker, comercializados pela Cam Trak South Inc. (EUA); unidades marca Tigrinus / modelo Convencional, fabricadas pela Tigrinus Equipamentos para Pesquisa (Brasil); e armadilhas fotográficas digitais marca Bushnell / modelo Trophy Cam, fabricadas pela Bushnell Inc. (EUA). Os dois primeiros equipamentos apresentam uma câmera fotográfica automática 35mm e o último consiste em equipamento digital. Todos os modelos empregados possuem sensor passivo para detecção de calor e/ou movimento (*passive motion detection*).

As armadilhas fotográficas foram ajustadas para intervalo mínimo entre fotografias de 20 segundos e mantidas em funcionamento por 24 horas/dia, ao longo de todo o período de amostragem. Os equipamentos foram vistoriados em intervalos de 30 dias

para manutenção geral, quando era realizada a limpeza das unidades (interior e superfície externa) e a verificação do seu estado de funcionamento, bem como a troca de filmes e a renovação de pilhas. Foram empregados filmes fotográficos ASA 200 ou 400, 36 exposições, para cópias em papel. As armadilhas fotográficas foram fixadas em árvores com diâmetro superior a 15 cm, a aproximadamente 45 cm do solo. Não foi utilizado qualquer tipo de isca para atração dos espécimes.

As armadilhas fotográficas foram instaladas em pontos previamente determinados, com distâncias regulares entre si, objetivando a amostragem homogênea da área de estudo. Como todos os espécimes presentes na área de estudo devem ser passíveis de captura, o distanciamento entre os pontos de amostragem foi definido observando-se, preferencialmente, as dimensões da menor área de vida estimada para a onça-pintada, resultando em arranjos com até 3,6 km de distanciamento entre câmeras (diâmetro de um círculo de 10 km²), conforme recomendado por Silver *et al.* (2004). Esta padronização permite que não existam vazios amostrais na área coberta pelas armadilhas, em relação à extensão do território dos espécimes presentes na área de estudo, tendo sido empregada nos Ano 1, 4 e 5. No segundo e terceiro períodos de amostragem foram empregadas distâncias superiores a 3,6 km para que fosse possível, a partir de pontos fixos de monitoramento, a amostragem simultânea de uma maior porção da área de estudo. Todos os pontos de amostragem foram georreferenciados com o auxílio de um aparelho GPS (*"Global Position System"*). O detalhamento dos desenhos amostrais empregados ao longo do estudo (Figura 2) é apresentado a seguir.

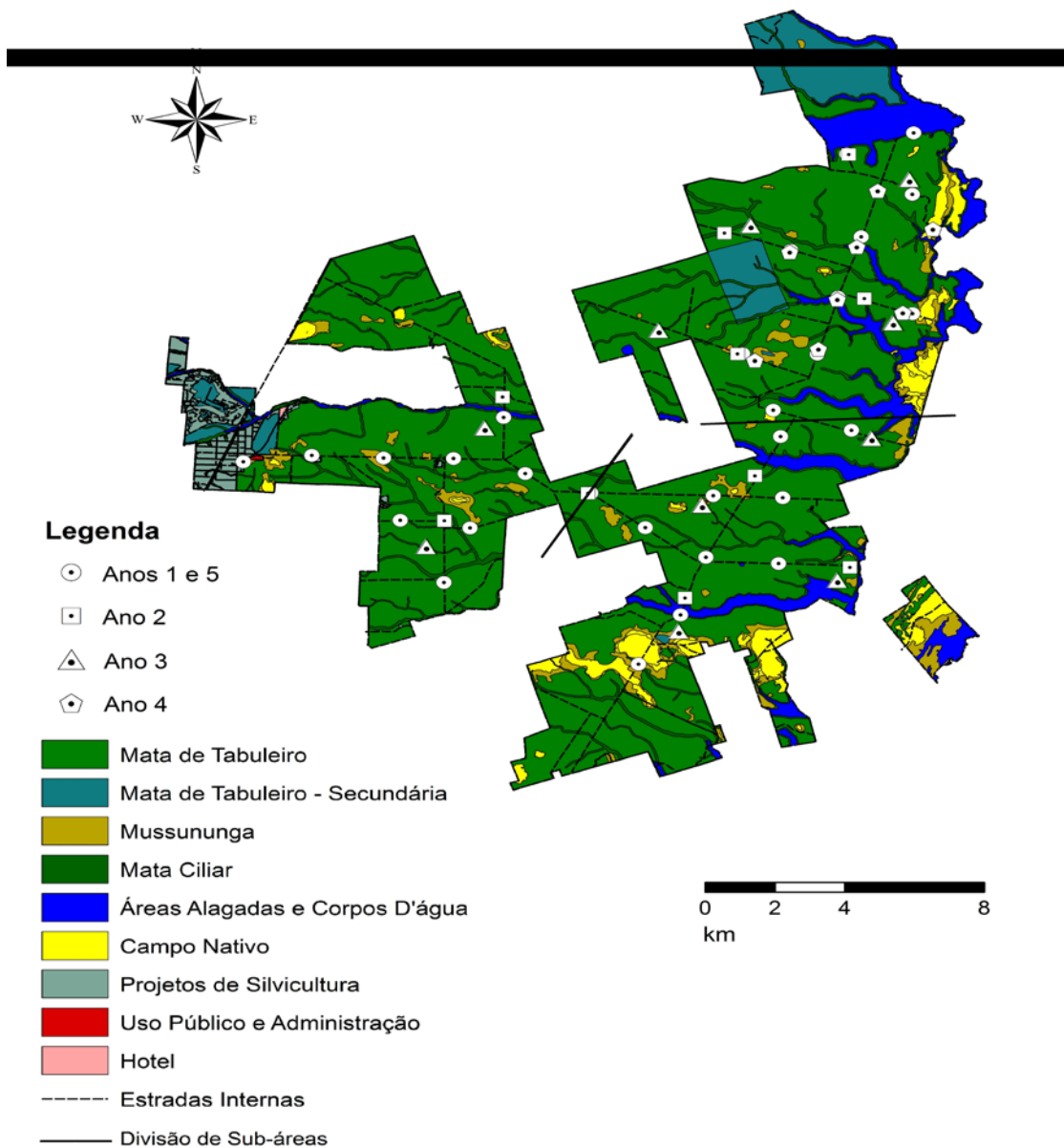


Figura 2: Localização dos pontos de amostragem empregados nos cinco anos de estudo com armadilhas fotográficas na Reserva Natural Vale (Linhares / ES).

➤ **Ano 1 – Estradas Internas**

Durante o primeiro ano de estudo (junho de 2005 a junho de 2006 – 12 meses), as armadilhas fotográficas foram instaladas ao longo das estradas existentes no interior da RNV, a qual foi dividida em três subáreas (Norte, Sul e Oeste) com dimensões semelhantes. Em cada subárea foram definidos 10 locais para instalação das armadilhas, totalizando 30 pontos de amostragem. A distância média entre pontos adjacentes foi de 2,35 km.

Cada conjunto de pontos por subárea foi amostrado no decorrer de dois meses consecutivos de monitoramento, quando então era realizada a realocação dos equipamentos para outra subárea. Este procedimento foi repetido até que as amostragens cobrissem as três subáreas, em dois momentos distintos cada, contemplando-se a sazonalidade local (estações seca e chuvosa). Ao todo foram realizados quatro meses de amostragem em cada subárea.

As armadilhas foram instaladas em pares (10 conjuntos de equipamentos), compostos por duas unidades marca Cam Trakker, para obtenção do registro simultâneo dos flancos (laterais) esquerdo e direito dos espécimes fotografados e posterior identificação dos indivíduos registrados. As unidades de cada par foram instaladas uma à frente da outra, estando não diretamente posicionadas para evitar a interferência do flash na fotografia da câmera-par (Karanth & Nichols, 1998).

Apesar do grande sucesso na obtenção de registros de onça-pintada, em função do roubo de armadilhas fotográficas¹ durante o primeiro ano de estudo (seis unidades),

¹ Armadilhas fotográficas sobressalentes (equipamentos reserva) eram utilizadas na reposição das unidades roubadas (estratégia adotada em todos os anos de estudo). Alternativamente, durante o Ano 1, foi realizada também a separação de armadilhas-par e a manutenção de apenas um equipamento em parte dos pontos de amostragem, quando necessário, sem prejuízos ao registro de espécimes e identificação dos indivíduos.

optou-se por alterar o desenho amostral no período seguinte visando reduzir a perda de equipamentos.

➤ **Ano 2 – Bordas Internas**

No segundo ano de amostragem (junho de 2006 a agosto de 2007 – 14 meses) os equipamentos permaneceram instalados em 10 pontos fixos de monitoramento localizados próximos às estradas internas da RNV (borda interna), a uma distância de 100-200 m em relação à via mais próxima (interface estrada/mata). Os locais de instalação dos equipamentos foram definidos de forma a abranger a maior área possível, contemplando as três subáreas definidas durante o Ano 1. A distância média foi de 4,40 km entre pontos adjacentes.

Quando o número total de registros obtidos no intervalo de 30 dias era considerado insuficiente (menos de 10 registros), os equipamentos eram realocados, respeitando-se uma faixa de 50 m em relação ao ponto inicial, seguindo paralelo à estrada (alteração pouco significativa em relação ao desenho amostral adotado). As armadilhas foram instaladas individualmente e apenas equipamentos marca Tigrinus foram utilizados.

Durante o segundo ano de amostragem, foi obtido um número muito reduzido de registros de onça-pintada. Desta forma, com o objetivo de otimizar a obtenção de registros da espécie no ano seguinte, foi novamente alterado o desenho amostral, deslocando-se os equipamentos para áreas sob menor influência das estradas internas.

Apenas um equipamento foi arrombado durante o Ano 2, o que resultou no roubo da máquina fotográfica que compunha a armadilha.

➤ **Ano 3 – Interior da Mata**

Para o terceiro ano de amostragem (agosto de 2007 a outubro de 2008 – 14 meses) as armadilhas fotográficas foram instaladas em 10 pontos fixos de monitoramento localizados no interior na mata, distantes aproximadamente 500 m em relação à estrada interna mais próxima. Para isso, foi realizada a abertura de uma trilha para acesso ao local de instalação das armadilhas. O arranjo espacial dos pontos de amostragem e os critérios para realocação dos equipamentos seguiram aqueles descritos para o Ano 2, com uma distância média de 5,14 km entre pontos adjacentes. As armadilhas fotográficas foram instaladas individualmente, empregando-se apenas equipamentos marca Tigrinus.

Nenhum equipamento foi roubado ou arrombado durante o Ano 3. Entretanto, a alteração do desenho amostral durante o terceiro ano não surtiu o efeito esperado na obtenção de fotografias da espécie-alvo, resultando em número semelhante de registros de onça-pintada em comparação com o Ano 2.

➤ **Ano 4 – Estradas Internas**

No quarto ano de estudo (junho de 2009 a fevereiro de 2010 – oito meses) as armadilhas fotográficas foram novamente instaladas em estradas internas, considerando oito pontos fixos de amostragem localizados na subárea Norte. A distância média entre pontos adjacentes foi de 2,31 km. Apenas um equipamento marca Tigrinus foi instalado em cada ponto de amostragem.

Durante o Ano 4, foram arrombados dois equipamentos (roubo da máquina fotográfica) e removido o filme fotográfico de uma terceira unidade.

➤ **Ano 5 – Estradas Internas**

As amostragens visando à continuação do monitoramento da população de onças-pintadas presente na RNV foram reiniciadas em julho de 2012, empregando-se o mesmo desenho amostral adotado durante o Ano 1. Foram empregadas armadilhas fotográficas digitais marca Bushnell / modelo Trophy Cam, instaladas individualmente, e considerados os registros de onça-pintada obtidos até janeiro de 2013 (seis meses de amostragem – dois meses consecutivos em cada subárea). Os equipamentos empregados durante o Ano 5 operam por meio de LEDs infravermelhos durante a noite (geração de imagem térmica a partir de sensor de radiação), não possuindo flash, e foram ajustados para registros por meio de vídeos com 10 segundos de duração.

Cinco armadilhas fotográficas foram roubadas ao longo dos seis meses de amostragem realizadas na RNV durante o Ano 5.

2.3. Análise de Dados

➤ Análises Preliminares

Para montagem do banco de dados do presente estudo, foram considerados apenas os registros independentes obtidos na RNV. Para isso, foram excluídos os registros consecutivos realizados por uma mesma armadilha fotográfica ou par de equipamentos quando o intervalo entre as fotografias de uma mesma espécie era inferior a uma hora, analisando cada ponto de amostragem separadamente.

O esforço de amostragem foi definido por: [número de armadilhas fotográficas ou pares de equipamentos X número de dias de amostragem], onde cada dia corresponde a um período de 24 horas (Srbek-Araujo & Chiarello 2005), considerando o intervalo entre a data de instalação do equipamento e a data do último registro fotográfico realizado em cada mês de amostragem. O sucesso de amostragem foi calculado a partir da relação: [(número de registros independentes/esforço de captura) X 100] (Srbek-Araujo & Chiarello 2005).

A individualização dos espécimes foi realizada a partir da identificação de variações individuais nos padrões específicos de pelagem e coloração (detecção de marcas naturais que permitem a identificação individual dos animais registrados), conforme demonstrado em estudos anteriormente desenvolvidos com grandes felinos (ex. Karanth 1995, Karanth & Nichols 1998, Wallace *et al.* 2003, Silver *et al.* 2004, Soisalo & Cavalcanti 2006). A correta identificação dos indivíduos em cada evento de captura e recaptura ocorrido ao longo de todo o período de amostragem e a durabilidade da marcação (as marcas não podem ser perdidas durante o estudo) são premissas para o uso de modelos de captura-recaptura.

O sexo dos indivíduos foi determinado a partir da análise de caracteres sexuais externos, destacando-se a presença ou a ausência de bolsa escrotal. Por este motivo, a correta definição do sexo dos indivíduos depende, sobretudo, do posicionamento dos espécimes (ângulo do registro e posição dos membros posteriores) nas imagens obtidas pelas armadilhas fotográficas.

Para avaliação do horário de atividade da onça-pintada na RNV, foi realizado o agrupamento dos registros em intervalos de duas horas, considerando o horário impresso nas fotografias e registrado nos vídeos.

➤ **Distribuição de Registros**

A avaliação da distribuição dos registros de onça-pintada obtidos entre as subáreas Norte, Sul e Oeste, considerando apenas as fotografias efetuadas durante o Ano 1 (mesmo número de pontos de amostragem em cada subárea), foi realizada empregando-se o Teste do Qui-quadrado (χ^2). Teste semelhante foi empregado na comparação da distribuição dos registros de onça-pintada entre as estações seca e chuvosa (sazonalidade) e adotada Tabela de Contingência para avaliar a distribuição dos registros entre subáreas de acordo com a estação climática. As frequências esperadas foram calculadas em função do esforço de amostragem realizado. Para as análises onde o grau de liberdade foi igual a um, optou-se pela aplicação da Correção de Continuidade de Yates $[(O-E)^2 - 0,5 / E]$; onde O = frequência observada e E = frequência esperada] (Zar 1996). As análises estatísticas foram realizadas empregando-se o Programa STATISTICA (Versão 7.0).

➤ **Abundância e Probabilidade de Sobrevivência**

As estimativas populacionais foram realizadas empregando-se os dados obtidos durante o Ano 1, o qual apresentou maior volume de capturas e registros mais apropriados para a realização das análises em questão.² Para que a população fosse considerada demograficamente fechada (premissa para uso de modelos de captura-recaptura – White *et al.* 1982), ou seja, possuísse tamanho populacional constante durante o período investigado (ausência de recrutamento - nascimento ou imigração - e não ocorrência de perdas – morte ou emigração), foram considerados os dados obtidos em um intervalo de quatro meses de amostragem (junho a outubro de 2005). Este intervalo é compatível com o adotado em estudos realizados com tigres (ex. Karanth 1995, Karanth & Nichols 1998) e onças-pintadas (ex. Astete 2008, Astete 2012, Salom-Pérez *et al.* (2009), Silveira *et al.* 2009, Silver *et al.* 2004, Soisalo & Cavalcanti 2006), nos quais têm sido empregados mais comumente intervalos de amostragem que variam entre dois e quatro meses.

Os registros de onça-pintada obtidos no período citado foram utilizados na preparação da matriz de captura, onde o primeiro registro de cada indivíduo foi considerado 'captura' e os demais registros do mesmo espécime foram analisados como 'recapturas' (Karanth & Nichols 1998). Para a elaboração da matriz de captura (ocasiões de captura X indivíduos), o período de amostragem foi dividido em 16 módulos (conjuntos de dias consecutivos de amostragem), compostos por sete dias cada, e acrescentados os dados de presença (1) ou ausência (0) de cada indivíduo separadamente.

² Os dados obtidos durante o Ano 4 também foram testados, mas não resultaram em estimativas populacionais consistentes, em nenhuma das abordagens empregadas – o número máximo de indivíduos estimado pelos programas foi semelhante ao número de indivíduos constante na matriz de captura ($n = 4$).

Para atestar o fechamento demográfico da população no período considerado, a matriz de captura foi analisada empregando-se o Programa CLOSETEST (Santley & Richards 2005) (Versão 3.0). Este programa disponibiliza dois algoritmos para verificação do fechamento demográfico da população, sendo: o Teste do Qui-Quadrado para variação temporal das probabilidades de captura (Santley & Burnham 1999) e o Teste de Wilcoxon para somas ranqueadas (Otis *et al.* 1978).

A partir da preparação da matriz de captura, foram testados diferentes procedimentos para análise de populações fechadas visando à seleção daquele que melhor se ajusta ao conjunto de dados obtidos na RNV. Para isso, foram empregados o Programa CAPTURE (Rexstad & Burnham 1991, White *et al.* 1982) (Versão “16 de Maio de 1994”) e o Programa MARK (Cooch & White 2009, White & Burnham, 1999) (Versão 6.0). Ambos analisam os históricos de captura individuais e avaliam a frequência de recaptura para gerar as estimativas de abundância, fornecendo também o número mínimo e máximo de indivíduos esperado para a população estudada.

O Programa CAPTURE utiliza modelos e funções pré-determinadas (oito tipos) para avaliar a probabilidade de captura e estimar a abundância de determinada espécie, empregando uma função matemática para classificação dos modelos e indicação daquele considerado mais apropriado para a população em estudo. Os estimadores considerados na interpretação dos resultados dos testes realizados pelo Programa CAPTURE seguiram White *et al.* (1982).

O Programa MARK, por sua vez, permite a elaboração de modelos mais complexos e a inclusão de diferentes covariáveis, sendo a seleção dos modelos realizada com base na teoria da informação, conforme Critério de Informação de Akaike (“*Akaike Information Criteria*” - AIC) (Burnham & Anderson, 2002). A partir do AIC, é avaliada a qualidade relativa da estatística dos modelos e estimada a perda relativa de informações decorrente da seleção de determinado modelo, devendo ser selecionado

aquele que minimiza a perda de informação (Burnham & Anderson, 2002). Entre as análises disponíveis no Programa MARK, foi utilizada a modelagem de Capturas Fechadas de Huggins ("*Huggins Closed Captures*"), considerada a mais adequada para o conjunto de dados obtido na RNV (poucos indivíduos registrados e pequeno número de recapturas). Neste tipo de análise, o tamanho da população é obtido como um produto derivado, não sendo estimado juntamente com as probabilidades de captura e recaptura dos indivíduos (Cooch & White 2009). O sexo dos indivíduos registrados (g) e o fator tempo (t) foram utilizados como covariáveis para as estimativas populacionais realizadas. A interpretação dos resultados gerados pelo Programa MARK seguiu Burnham & Anderson (2002) e Cooch & White (2009). A seleção dos modelos foi realizada de acordo com critérios apresentados em Arnold (2010) e Burnham & Anderson (2002).

Adicionalmente, foram realizadas também estimativas de abundância empregando-se modelos de captura-recaptura espacialmente explícitos ("*Spatially Explicit Capture-Recapture*" - SECR). Segundo Efford *et al.* (2009), os modelos espaciais são ideais para a análise de dados obtidos a partir de métodos de amostragem que não restringem o movimento dos animais após a detecção e que permitem que mais de um indivíduo seja registrado num mesmo local, em uma única ocasião. Além disso, enquanto os métodos convencionais de captura-recaptura empregam o número de indivíduos registrados como um dos parâmetros principais para as análises, nos modelos SECR a densidade é utilizada como parâmetro básico e a probabilidade de detecção é gerada com base na distribuição espacial dos pontos com registro de cada indivíduo (Efford 2011, Efford *et al.* 2004). Para a estimativa de abundância empregando-se modelos espaciais, foi adotado o mesmo período de amostragem utilizado nas análises anteriores e as matrizes referentes à localização das armadilhas fotográficas e aos eventos de captura (Formato TrapID) foram preparadas considerando 20 pontos de amostragem (subáreas Norte e Sul) e todos os registros de

indivíduos identificados durante os quatro meses considerados nas análises (junho a outubro de 2005). Para as análises em questão, foi utilizado o layout de captura “*proximity detector*”, onde a ocorrência de captura não invalida a armadilha e não detém ou remove o indivíduo registrado, e a abundância foi calculada empregando-se o estimador “Mh Jackknife”. Para realização das análises SECR foi utilizado o Programa DENSITY (Efford *et al.* 2004) (Versão 5.0).

Os registros de onça-pintada obtidos ao longo dos cinco anos de estudo foram empregados no cálculo da probabilidade de captura e da probabilidade de sobrevivência dos indivíduos registrados ao longo do tempo, utilizando-se modelos de populações abertas. Para isso, foi utilizado o modelo de populações abertas “*Cormack-Jolly-Seber*” (CJS) (Cormack 1964, Jolly 1965, Seber 1965), que tem as recapturas como o foco principal de análise. Foram testadas as covariáveis sexo (g) e local de instalação das armadilhas fotográficas (localcamera), considerando: ‘estrada’ (Anos 1, 4 e 5) e ‘não estrada’ (Anos 2 e 3). As análises de populações abertas foram realizadas empregando-se o Programa MARK.

➤ **Densidade**

As estimativas de abundância geradas para as onças-pintadas na RNV a partir dos Programas CAPTURE, MARK e DENSITY foram analisadas e empregadas no cálculo da densidade populacional da espécie na área de estudo (indivíduos / 100 km²). Esta foi obtida dividindo-se o número de espécimes estimados para a RNV, a partir dos dados obtidos durante o Ano 1, pela área efetivamente amostrada (AEA) no mesmo período de estudo.

Para cálculo da AEA, foram testados inicialmente dois métodos baseados no acréscimo de uma faixa externa (“*buffer*”) ao polígono formado pelos pontos com registro de onça-pintada, considerando os espécimes registrados em pelo menos dois pontos de amostragem. No primeiro procedimento, a largura da faixa externa correspondeu à metade do raio gerado pela média da máxima distância percorrida por cada espécime (“*Mean Maximum Distance Moved*” - MMDM), conforme proposto por Karanth & Nichols (1998). No segundo método, foi utilizada toda a largura da faixa calculada, sem sua redução à metade (“*full*” MMDM), de acordo com o recomendado por Soisalo & Cavalcanti (2006). Segundo os autores, este método gera estimativas mais próximas àquelas obtidas por telemetia, enquanto o primeiro (metade do MMDM) resulta em valores superestimados de densidade e tamanho populacional. Ambos procedimentos resultaram em valores de AEA muito elevados para a área de estudo (MMDM = 591,86 km²; “*full*” MMDM = 1.315,99 km²), não sendo compatíveis com a área de vegetação nativa remanescente na região, mesmo quando considerado o bloco Linhares / Sooretama (aproximadamente 470 km²) e áreas vizinhas menos alteradas. Esta distorção da AEA pode estar relacionada à distribuição de pontos de amostragem em praticamente toda a área da RNV, incluindo seus extremos norte, sul e oeste, associada ao fato de alguns indivíduos terem sido registrados em pontos de amostragem distribuídos em quase toda área de estudo.

Por este motivo, o cálculo da AEA para o presente estudo foi realizado a partir da sobreposição (interseção) das áreas de vida mínima estimadas para todos os indivíduos registrados na RNV durante o Ano 1 por meio do estimador Kernel. O detalhamento dos procedimentos adotados no cálculo das áreas de vida mínima é apresentado no item “Área de Vida Mínima”. A AEA resultante da interseção das áreas de vida mínimas foi estimada em 359,27 km², incluindo áreas externas à RNV. O entorno da área de estudo está composto principalmente por áreas com atividades antrópicas, havendo predomínio de agricultura e pecuária, que, segundo Cullen

(2006), constituem áreas evitadas pela espécie. Entretanto, embora as áreas vizinhas à RNV não constituam ambientes favoráveis para a onça-pintada, considera-se que os espécimes também possam utilizar estas áreas durante deslocamento entre porções de hábitat mais atrativos para a espécie, o que pode ser favorecido, inclusive, pelo contorno irregular da área de estudo. Neste sentido, considera-se que o padrão de uso do entorno na região de inserção da RNV seja semelhante ao detectado no estudo desenvolvido por Sollmann *et al.* (2012), no qual a onça-pintada utilizou preferencialmente o interior do Parque Nacional das Emas, embora alguns espécimes tenham sido registrados, em menor proporção, na área externa ao Parque. Segundo os autores, a espécie está provavelmente confinada à área de estudo, devido à escassez de habitats adequados fora da unidade de conservação estudada (Sollmann *et al.* 2012).

Análises SECR também foram empregadas na estimativa da densidade da onça-pintada na RNV. Estas estimativas dispensam o cálculo das áreas efetivamente amostradas e surgiram como uma alternativa aos problemas relacionados ao estabelecimento deste parâmetro (Borchers & Efford 2008, Efford 2004). De forma semelhante ao adotado no Programa MARK, a seleção dos modelos gerados com base em dados espaciais também segue o Critério de Informação de Akaike (Burnham & Anderson, 2002). As matrizes referentes à localização das armadilhas fotográficas e aos eventos de captura foram as mesmas utilizadas nas análises de abundância empregando-se modelos SECR. As estimativas de densidade foram calculadas a partir do método “*Maximum Likelihood*” (ML SECR), tendo sido utilizada a opção “*Full Likelihood*”, o modelo de detecção “*Half Normal*” (conforme função de detecção dos dados de captura – redução da probabilidade de detecção com o aumento da distância) e o modelo de distribuição “*Poisson*” (Efford *et al.* 2009). Foram testados modelos com e sem resposta à captura (resposta aprendida ou “*Learned*” e Modelo

“Markov”). As análises de densidade a partir de modelos SECR foram realizadas utilizando-se o Programa DENSITY.

➤ **Área de Vida Mínima**

Para as estimativas de área de vida mínima, foram considerados os registros obtidos durante o Ano 1, que resultou em dados mais completos para a RNV como um todo, e empregados dois métodos visando à avaliação e seleção do procedimento que melhor se aplica à população estudada: estimador Kernel e método do Mínimo Polígono Convexo (MPC).

O estimador Kernel é um interpolador de estimação de intensidade que pondera a distribuição e a densidade dos dados (Laver 2005). A superfície gerada pelo Kernel é proporcional à intensidade de eventos por unidade de área e contempla a estimação da intensidade do evento mesmo nas regiões onde não tenha sido gerada nenhuma ocorrência real (Laver 2005). Estimativas de área de vida de onça-pintada no Brasil têm sido realizadas empregando-se os modelos Kernel Fixo (Azevedo & Murray 2007, Cullen 2006) e Kernel Adaptive (Cavalcanti & Gese 2009). Segundo Seaman & Powell (1996), o Kernel Fixo gera valores menos tendenciosos e estima superfícies com menor erro, em comparação com o Kernel Adaptive, que superestima a área de distribuição e possui maior erro associado à superfície estimada. Para avaliar o estimador que melhor se aplica ao presente estudo, foram realizadas análises preliminares, a partir das quais foram confirmadas as considerações apresentadas por Seaman & Powell (1996) (Anexo 1). Desta forma, para as análises de área de vida mínima foi utilizado Kernel Fixo, com função de estimação “*Least-squares Cross-validation*” (LSCV), e calculadas três faixas de ocupação para a área de vida estimada (95, 90 e 50% da superfície calculada). O método LSCV avalia várias larguras de faixa

e seleciona aquela que melhor se ajusta ao conjunto de dados, resultando em menor erro decorrente da diferença entre a função de densidade real, que não é conhecida, e o valor estimado (Laver 2005, Seaman & Powell 1996). As estimativas de área de vida mínima foram baseadas na faixa 90% (Cavalcanti & Gese 2009) e a faixa 50% foi interpretada como a área central ou área núcleo da área de vida mínima de cada indivíduo (Seaman & Powell 1996).

O método do Mínimo Polígono Convexo (MPC; White & Garrot 1990) foi aplicado considerando 100% das localizações obtidas para cada indivíduo.

As análises espaciais foram realizadas empregando-se o Programa ArcGIS (ArcMap Versão 10.0). A extensão “*Animal Movement Analysis*” para ArcGIS foi empregada na geração das análises de Kernel.

➤ **Interações Sociais**

Para avaliação das interações sociais foram considerados os registros de onça-pintada obtidos na RNV durante os cinco anos de estudo. A sobreposição das áreas utilizadas pelos espécimes durante o Ano 1 foi analisada considerando as áreas de vida e as áreas núcleo estimadas pelo Kernel Fixo (faixa 90 e 50%, respectivamente) para machos e fêmeas. Estas análises foram realizadas para duplas de espécimes (todas as interações entre dois indivíduos), independente do sexo. Para os dados dos Anos 4 e 5 foram gerados polígonos simples (MPC) a partir dos pontos com registros de machos, incluindo também o polígono referente a um dos machos registrados durante o Ano 1, a título de comparação.

2.4. Reserva Biológica de Sooretama

Paralelamente às investigações na RNV, foram realizadas amostragens não sistematizadas na RBS, em três momentos distintos, entre 2006 e 2011. No primeiro e segundo momentos amostrais (junho de 2006 a agosto de 2007 e agosto de 2007 a março de 2008) foram utilizadas duas armadilhas fotográficas marca Cam Trakker. No terceiro momento (janeiro a dezembro de 2011) foram empregadas duas armadilhas fotográficas marca Tigrinus / modelo Convencional. Os equipamentos foram instalados individualmente em estradas e trilhas pré-existentes no interior da RBS. A seleção dos locais de amostragem objetivou especialmente o registro de espécimes que utilizassem tanto a RNV quanto a RBS, considerando os indivíduos já identificados na primeira reserva, bem como o registro de espécimes não detectados na RNV. Os procedimentos de rotina e os critérios para realocação dos equipamentos seguiram aqueles adotados na RNV.

3. Resultados e Discussão

A partir de um esforço de amostragem total de 12.007 armadilhas-dias, foram obtidos na Reserva Natural Vale (RNV) 144 registros independentes de onça-pintada, resultando em um sucesso de amostragem de 1,20 capturas / 100 armadilhas-dias (Tabela 1). Apenas nos Anos 1 e 5 houve registros para os quais não foi possível identificar os espécimes registrados ($n = 3$ e 9 , respectivamente), com uma perda de 3,6% dos registros de onça-pintada no primeiro e de 37,5% no último ano. A elevada taxa de registros não aproveitados observada durante o Ano 5 está relacionada à

menor qualidade das imagens realizadas em período noturno (infravermelho), o que dificultou a identificação segura dos espécimes em alguns registros.

Tabela 1: Dados relativos à captura de onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), entre junho de 2005 e janeiro de 2013, a partir de armadilhas fotográficas.

Parâmetros	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5	Total
Registros de Onça-pintada	83	3	2	32	24	144
Número de Indivíduos	8	3	1	4	2	9
Sucesso de Captura (capturas / 100 armadilhas-dias)	2,74	0,09	0,07	3,10	1,67	1,20
Esforço de Amostragem (armadilhas-dia)	3.032	3.468	3.034	1.033	1.440	12.007

Os registros de onça-pintada foram obtidos principalmente a partir de armadilhas fotográficas instaladas em estradas, com maior destaque para os Anos 1 e 4, que resultaram em sucessos de amostragem muito superiores àqueles resultantes de desenhos amostrais empregando equipamentos dispostos em bordas internas e interior da mata (30 a 44 vezes maior). Resultado semelhante foi obtido por Sollmann *et al.* (2011), no Cerrado (Parque Nacional das Emas), onde a taxa de captura de onças-pintadas por armadilhas fotográficas instaladas em estradas foi 10 vezes maior do que a obtida por equipamentos alocados fora de estradas. Conforme discutido no Capítulo 1, as diferenças nas taxas de captura obtidas ao longo dos anos de estudo

podem ser atribuídas ao padrão de uso do ambiente pelas onças-pintadas na RNV, em associação com as diferenças de desenho amostral, o que resultou em diferenças nas taxas de captura devido a variações na detectabilidade da espécie (para detalhes, ver Capítulo 1).

Foram registradas nove onças-pintadas na RNV entre junho de 2005 e janeiro de 2013, sendo três machos, cinco fêmeas e um indivíduo cujo sexo não foi determinado (Tabela 2). Este dado é diferente do registrado em outros estudos com onças-pintadas empregando-se armadilhas fotográficas (ex. Astete 2012, Salom-Pérez *et al.* 2007, Silver *et al.* 2004, Soisalo & Cavalcanti 2006, Sollmann *et al.* 2011, Wallace *et al.* 2003), nos quais o número de machos registrados tem sido superior ou igual ao número de fêmeas. Nenhum indivíduo melânico foi fotografado na RNV. Entre os espécimes registrados no Ano 1, dois foram avaliados como subadultos, incluindo um macho, o qual permaneceu na área de estudo nos anos seguintes e foi novamente registrado nos Anos 4 e 5. Não houve registros de filhotes na RNV durante todo o período de estudo. A ausência de registros de filhotes é compartilhada com Cullen (2006), tendo havido um único registro em Soisalo & Cavalcanti (2006), ambos estudos desenvolvidos com armadilhas fotográficas. Discussões mais detalhadas sobre a ausência de registros de filhotes são apresentadas no item “Interações Sociais”.

A razão sexual observada na RNV foi de 1:2 (proporção macho:fêmea), considerando apenas os indivíduos adultos registrados durante o Ano 1 (Tabela 2). O número de indivíduos registrados e a razão sexual observada na RNV foram semelhantes aos dados obtidos no Parque Estadual do Morro do Diabo (aproximadamente 37.000 ha), uma área protegida de Mata Atlântica localizada no Pontal do Paranapanema / região do Alto Paraná (Cullen 2006).

Tabela 2: Indivíduos registrados na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), entre junho de 2005 e janeiro de 2013, considerando o sexo (M = macho; F = fêmea; I = sexo indeterminado) e a idade (A = adulto; S = subadulto).

Espécime	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
VDR	M / A			M / A	
CRG	M / A		M / A	M / A	M / A
CMP	F / A	F / A		F / A	
FLS	F / A	F / A			
TCB	F / A				
Po05	F / S	F / A			
Po06	I / S			M / A	M / A
Po07	F / A				
Po09			I / A		
Total	8	3	2	4	2

O número de registros por indivíduo variou entre 1 e 45, considerando os cinco anos de estudo, com uma média de 14,7 registros por espécime (média machos = 26,3; média fêmeas = 10,4), indicando que houve heterogeneidade no sucesso / probabilidade de captura dos indivíduos. Quando avaliado cada ano separadamente, a média de capturas por espécime variou entre 7,5 e 10,0 nos anos em que as armadilhas fotográficas foram instaladas em estradas, considerando apenas os registros com identificação bem sucedida dos indivíduos registrados. Estes valores são superiores aos registrados por Soisalo & Cavalcanti (2006) e Astete (2008), que obtiveram uma média de 5,2 e 6,8 capturas por indivíduo em estudos desenvolvidos no Pantanal e na Caatinga, respectivamente.

Segundo Conde *et al.* (2010), o uso de ambientes é significativamente diferente entre os sexos, sendo a probabilidade de detecção de fêmeas aumentada à medida que se afasta de estradas, enquanto as estradas possuem efeito desprezível na ocorrência de machos. De forma semelhante, Salom-Pérez *et al.* (2007) consideram que as fêmeas possuem territórios menores e se movimentam menos do que os machos, o que reduziria sua probabilidade de captura, acrescido do fato das fêmeas serem mais “tímidas” do que os machos no uso de ambientes utilizados pelo homem. Estes fatores poderiam gerar amostragens enviesadas, levando, inclusive, à subestimativa do número de fêmeas presentes em determinada área (Salom-Pérez *et al.* 2007). A diferença no uso de ambientes entre sexos pode explicar a obtenção de um maior número de registros de machos durante o estudo, ressaltando que as estradas foram o principal ambiente amostrado na RNV, em função do maior sucesso no registro da espécie-alvo. Entretanto, o sucesso de amostragem de fêmeas em estradas durante o Ano 1 sugere que não houve restrição quanto ao uso destes ambientes pelas fêmeas na RNV no primeiro ano de estudo, embora os dados obtidos nos Anos 4 e 5 possam sugerir que elas tenham passado a evitar estradas nos dois últimos anos de amostragem. Discussões mais detalhadas sobre o evitamento do uso de estradas por fêmeas são apresentadas no item “Interações Sociais”. Adicionalmente, cita-se que não foram obtidos no presente estudo resultados satisfatórios quando incluídas as covariáveis sexo e local de instalação das armadilhas fotográficas nas análises empregando-se o Programa MARK (para detalhes, ver item “Abundância e Probabilidade de Sobrevivência”). Estes dados corroboram Sollmann *et al.* (2011) ao considerar que, embora haja diferenças na taxa de captura e movimento entre os sexos, a taxa de encontro de fêmeas é muito menor do que a de machos independentemente do local de instalação das armadilhas fotográficas.

A distância máxima percorrida pelas onças-pintadas na RNV durante o Ano 1 (maior distância entre pontos de amostragem com registros de um mesmo espécime) variou

entre 5,02 km e 20,43 km, com uma média de 12,39 km. Quando analisados separadamente os sexos, a média das distâncias máximas percorridas por fêmeas (12,27 km) foi semelhante ao valor obtido para machos (12,73 km). A máxima distância média percorrida na RNV pela espécie foi próxima ao valor médio registrado por Cullen (2006) a partir de armadilhas fotográficas (13,74 km), embora a média para fêmeas tenha sido quase o dobro do anteriormente registrado na Mata Atlântica (6,67 km), com proporção oposta observada para machos (23,28 km; Cullen 2006). Valor semelhante ao detectado no presente estudo foi obtido na Caatinga para fêmeas (12,30 km), embora os valores para machos tenham sido maiores (20,69 km; Astete 2012). Os dados obtidos na RNV são também diferentes do apontado em outros estudos, onde os machos se deslocaram por distâncias maiores, em comparação com as fêmeas, sendo os valores apontados para fêmeas menores do que os registrados no presente estudo (ex. Sollmann *et al.* 2011).

A onça-pintada revelou-se preferencialmente noturna na área de estudo (80,2% dos registros), com concentração das atividades entre 18:00 e 6:00 horas (Figura 3). Estes resultados corroboram os dados reportados em outros estudos (ex. Almeida 1976, Astete *et al.* 2008, Cavalcanti & Gese 2009), embora sejam diferentes do padrão encontrado por Crawshaw & Quigley (1991), no Pantanal, e por Maffei *et al.* (2004), no chaco boliviano.

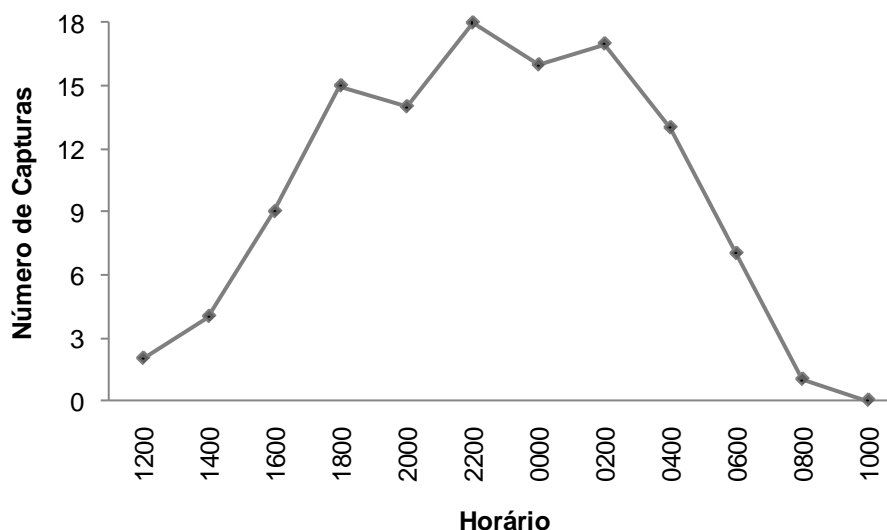


Figura 3: Horário de atividade da onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), com base em registros obtidos a partir de armadilhas fotográficas, entre junho de 2005 e janeiro de 2013.

Reserva Biológica de Sooretama

Não foram obtidos registros de onças-pintadas na Reserva Biológica de Sooretama (RBS) nos dois primeiros momentos amostrais (414 e 344 armadilhas-dias, respectivamente). A espécie foi registrada apenas durante o terceiro período, com a obtenção de 10 registros (esforço = 453 armadilhas-dias; sucesso de amostragem = 2,21 capturas / 100 armadilhas-dias). Quando considerado o esforço de amostragem realizado na RBS durante os três períodos (1.211 armadilhas-dias), o sucesso de amostragem diminuiu para 0,83 capturas / 100 armadilhas-dias. Todos os registros foram obtidos em um mesmo ponto de amostragem, localizado em estrada interna (Aterro do Quirinão). Foi identificado apenas um padrão individual de pelagem para o flanco esquerdo e outro para o flanco direito, ambos machos, tendo sido atribuídos a um mesmo indivíduo, diferente daqueles registrados na RNV.

Além de ter sido utilizado um número reduzido de pontos de amostragem e realizado um pequeno esforço amostral por ponto, o pequeno número de registros de onça-pintada na RBS pode estar relacionado também à não preferência no uso de estradas pela espécie na área em questão, em comparação com a RNV, devido à menor disponibilidade deste tipo de ambiente na RBS (duas estradas de circulação restrita - Estrada Barra das Abóboras e Estrada do Quirinão – e uma estrada intermunicipal não pavimentada). Neste sentido, cita-se que o Aterro Quirinão, local onde foram obtidos todos os registros na RBS, foi o único ponto de amostragem repetido nos três momentos amostrais, mas os registros de onça-pintada ocorreram apenas no último período.

Por outro lado, embora apresente contorno mais regular e reúna grandes extensões florestais (menor influência de Mussunungas e ausência de Campos Nativos), observa-se que a RBS apresenta rede hidrográfica menos complexa e menor disponibilidade de ambientes associados a corpos d'água (observação pessoal). Neste sentido, pode-se considerar também que a menor disponibilidade de habitats preferenciais para uso pela espécie possa contribuir para que a RBS apresente menor abundância e, conseqüentemente, menor densidade de onças-pintadas, quando comparada à RNV (ver itens seguintes para detalhes). Esses são, entretanto, aspectos que precisam ser mais bem investigados na RBS.

➤ **Distribuição de Registros**

As onças-pintadas foram registradas em praticamente toda a RNV. Analisando apenas os dados do Ano 1, a subárea Norte foi a que reuniu o maior número de registros (n = 51; subárea Sul = 15; subárea- Oeste = 14) ($\chi^2 = 33,32084$; g.l. = 2; p < 0,000000) e a estação seca foi a mais promissora para a amostragem da espécie (n = 63; chuvosa =

17) ($\chi^2 = 26,45000$; g.l. = 1; $p < 0,000000$), embora não tenha sido detectada relação entre a sazonalidade e a distribuição de registros nas subáreas amostradas (Tabela de Contingência; $\chi^2 = 0,33$; g.l. = 5; $p = 0,5637$).

Dos oito indivíduos registrados durante o Ano 1, seis foram fotografados na subárea Norte, seis na subárea Sul e três na subárea Oeste. Um dos espécimes, registrado apenas na subárea Sul no primeiro ano de amostragem (CRG), passou a ser registrado na subárea Norte a partir do Ano 3, totalizando sete indivíduos com presença confirmada nesta subárea. Os outros dois espécimes se mantiveram nas subáreas Sul e Oeste (Po07), ou apenas na subárea Oeste (Po09), tendo sido obtido apenas um registro para o último indivíduo citado durante todo o estudo.

A subárea Norte consiste na zona de contato entre a RNV e a RBS, sendo esta a subárea que possui melhor relação perímetro-área, além de estar delimitada em sua porção leste pelo rio Barra Seca e de apresentar maior interface com plantios de eucalipto e remanescentes de vegetação nativa (fragmentos menores e, em sua maioria, menos conservados) em sua porção noroeste / oeste. Estes fatores podem colaborar para a manutenção de habitats com melhor qualidade na subárea Norte (redução dos efeitos de borda de maneira geral), contribuindo para a permanência de um maior número de indivíduos nesta subárea, considerando as espécies de mamíferos e outros grupos de vertebrados forma geral. Adicionalmente, destaca-se que alguns autores reportam a preferência da onça-pintada por habitats florestais associados a corpos d'água (Schaller & Crawshaw 1980, Crawshaw & Quigley 1991) e áreas brejosas (Cullen 2006), que correspondem a tipos de ambientes mais comuns na subárea Norte (Córrego Dourado, Córrego Alberico e Córrego Travagle, estando também sob influência da Lagoa do Macuco, a noroeste, e do Córrego Rancho Alto, ao sul), em comparação com as outras subáreas (para detalhes, ver Figura 2). Se a subárea Norte apresenta, de fato, maior disponibilidade de presas e maior concentração de habitats favoráveis à presença da onça-pintada, estes podem ser

apontados como fatores determinantes para a distribuição espacial da espécie na RNV.

➤ **Abundância e Probabilidade de Sobrevivência**

Os dois algoritmos calculados pelo Programa CLOSETEST indicaram que a população representada na matriz de captura preparada a partir dos dados obtidos durante o Ano 1 encontra-se demograficamente fechada (Teste do Qui-Quadrado: $\chi^2 = 18,69548$; g.l. = 11; $p = 0,06678$ / Teste de Wilcoxon: $z = -999.00000$; $p = 2.00000$).

O modelo selecionado pelo Programa CAPTURE para avaliação da probabilidade de captura/recaptura e estimativa da abundância de onças-pintadas na RNV foi o Modelo de Heterogeneidade ou M(h), que assume que cada espécime tem uma probabilidade de captura individual (decorrente de sexo, idade, padrões de deslocamento e dominância, por exemplo) e emprega o estimador Jackknife, considerado o mais robusto (White *et al.* 1982). A probabilidade de captura (\hat{p}) foi de 0,181 (18,1%) e a estimativa interpolada de abundância foi de 10,0 indivíduos (Erro Padrão = 2,008), resultando em Coeficiente de Variação de 0,201 (20,1%), com Intervalo de Confiança de 95% variando entre 9,0 e 18,0 indivíduos.

O modelo selecionado para a população em estudo, entre aqueles calculados pelo Programa MARK, foi o modelo $\{p(.) c(.)\}$, que gerou os resultados mais robustos e foi considerado o mais verossimilhante (Tabela 3). A probabilidade de captura (p) indicada pelo modelo selecionado foi 0,167 (16,7% / Erro Padrão = 0,054) e a probabilidade de recaptura (c) chegou a 0,263 (26,3% / Erro Padrão = 0,049). A estimativa de abundância foi de 9,3 indivíduos (Erro Padrão = 2,573), com Coeficiente de Variação de 0,279 (27,9%) e Intervalo de Confiança de 95% variando entre 8,1 e

23,6 indivíduos. Os valores estimados para cada sexo separadamente são apresentados na Tabela 4. A covariável sexo teve pequeno efeito nos modelos testados, tendo apresentado importância relativa de cerca de 48,2% (soma dos valores de Pesos AICc de todos os modelos que consideraram esta covariável) (Tabela 3). A covariável tempo teve contribuição pouco significativa nas análises realizadas.

Tabela 3: Resultado dos modelos de população fechada gerados para a onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) a partir dos dados obtidos no Ano 1 (quatro meses: 16 intervalos de sete dias), considerando as covariáveis sexo (g) e tempo (t), onde p é a probabilidade de captura e c é a probabilidade de recaptura. Legenda: VM = Verossimilhança do Modelo; NP = Número de Parâmetros.

Modelo	AICc	Delta AICc	Pesos AICc	VM	NP	Desviância
{p(.) c(.)}	138,135	0,000	0,507	1,000	2	124,511
{p(g) c(.)}	139,963	1,828	0,203	0,401	3	124,242
{p(.) c(g)}	139,995	1,860	0,200	0,395	3	124,274
{p(g) c(g)}	141,857	3,723	0,079	0,156	4	124,005
{p(.) c(t)}	145,812	7,677	0,011	0,022	16	99,383
{p(t) c(.)}	152,803	14,668	0,0003	0,001	17	103,712
{p(t) c(t)}	170,778	32,643	0,000	0,000	31	78,584
{p(g+t) c(g+t)}	177,707	39,572	0,000	0,000	33	78,307
{p(g*t) c(g*t)}	313,638	175,503	0,000	0,000	62	59,926

Tabela 4: Estimativa de abundância ($N\text{-hat}$) obtida para a onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) a partir do modelo $\{p(.) c(.)\}$ para os dados obtidos no Ano 1 (quatro meses: 16 intervalos de sete dias), considerando cada sexo separadamente e os valores para a população como um todo. Legenda: IC95% = Intervalo de Confiança de 95%.

Sexo	N-hat	Erro Padrão	Mínimo IC95%	Máximo IC95%
Machos	3,4665	1,0338	3,0342	9,3604
Fêmeas	5,7776	1,5394	5,0655	14,2288
Total	9,2441	2,5731	8,0997	23,5892

O modelo SECR empregando o estimador Mh Jackknife, que assume a existência de variação na probabilidade de captura entre indivíduos, indicou para os dados do Ano 1 uma probabilidade de captura ($p\text{-hat}$) igual a 0,184 (18,4%), com estimativa de abundância de 9,9 indivíduos (Erro Padrão = 2,000), resultando em Coeficiente de Variação de 0,202 (20,2%), com Intervalo de Confiança de 95% variando entre 8,3 e 18,4 indivíduos.

A estimativa de abundância gerada pelo Programa CAPTURE foi semelhante àquela obtida a partir do modelo SECR para a população de onças-pintadas presente na RNV. Estas, por sua vez, foram compatíveis com os dados gerados pelo Programa MARK, exceto para o número máximo de indivíduos estimado para a população (limite superior do Intervalo de Confiança de 95%), o qual revelou também o maior Coeficiente de Variação entre os procedimentos citados. Em estudo anterior, Astete (2012) comparou resultados obtidos a partir dos Programas CAPTURE e MARK e observou que os resultados gerados pelo segundo eram sempre mais conservadores, ao contrário do observado no presente estudo. Segundo o autor, o uso de covariáveis pode ser um dos fatores que explica a geração de dados mais confiáveis pelo

Programa MARK (Astete 2012), mas as covariáveis testadas para a RNV não foram significativas. Estas observações sugerem que, dependendo da composição dos dados de captura, os três programas utilizados no presente estudo para análise de populações fechadas podem gerar resultados semelhantes, independentemente da natureza dos procedimentos estatísticos que suportam as análises, não sendo as modelagens mais complexas, necessariamente, os métodos de análise mais precisos.

O valor superior do intervalo de confiança gerado para as análises de população fechada para os dados do Ano 1, considerando os três programas utilizados, sugere que a população em estudo está composta por até 18 ou 24 indivíduos. Entretanto, com base na distribuição dos registros obtidos na RNV e no número de indivíduos identificados a partir das análises genéticas ($n = 11$ indivíduos) (para detalhes, ver Capítulo 3), considera-se que o maior valor projetado possa ser aplicado, com menor margem de erro, ao bloco Linhares / Sooretama como um todo e não apenas à RNV.

As covariáveis sexo (g) e local de instalação das armadilhas fotográficas (localcamera) não resultaram em modelos satisfatórios para populações abertas, ressaltando a obtenção de um pequeno número de registros de onça-pintada fora de estradas e de um menor sucesso no registro de fêmeas na RNV ao longo do tempo. O modelo $\{\Phi(.) p(.)\}$ revelou-se o mais verossímilante para a população em estudo, entre todos os modelos de população aberta geradas pelo Programa MARK para os dados obtidos ao longo dos cinco anos de estudo (Tabela 5). A probabilidade de captura de onças-pintadas na RNV foi de 0,475 (47,5% / Erro Padrão = 0,178) e a probabilidade de sobrevivência dos indivíduos foi de 0,799 (79,9% / Erro Padrão = 0,119).

Tabela 5: Resultado dos modelos de população aberta gerados para a onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) a partir dos dados obtidos ao longo dos Anos 1 a 5, considerando as covariáveis tempo (t) e local de instalação das armadilhas fotográficas (localcamera), onde p é probabilidade de captura e phi é a probabilidade de sobrevivência. Legenda: VM = Verossimilhança do Modelo; NP = Número de Parâmetros.

Modelo	AICc	Delta AICc	Pesos AICc	VM	NP	Desviância
{Phi(.)p(.)}	41,864	0,000	0,787	1,000	2	13,034
{Phi(.)p(localcamera)}	44,767	2,903	0,184	0,234	3	12,860
{Phi(.)p(t)}	49,069	7,205	0,021	0,027	5	9,162
{Phi(t)p(.)}	51,703	9,839	0,006	0,007	5	11,796
{Phi(.)p(t + localcamera)}	54,402	12,538	0,002	0,002	6	9,162
{Phi(t)p(localcamera)}	56,914	15,050	0,0004	0,001	6	11,674
{Phi(t)p(t)}	68,152	26,288	0,000	0,000	8	7,674
{Phi(t)p(t + localcamera)}	79,581	37,717	0,000	0,000	9	7,674

Estudos relacionados à dinâmica populacional de grandes felinos são ainda escassos devido à dificuldade de se reunir dados em séries temporais suficientes para a realização de tais análises, havendo apenas um estudo com tigres (Karanth *et al.* 2006) e um estudo anterior com onças-pintadas (Astete 2012). Na Índia, a probabilidade de sobrevivência de tigres foi estimada em 77,0% e a probabilidade de captura foi de apenas 18,0% (Karanth *et al.* 2006), revelando valores menores do que

os registrados na RNV. A probabilidade de sobrevivência estimada para a onça-pintada no presente estudo, no entanto, foi compatível com aquela registrada para fêmeas (81,8%) no Parque Nacional Serra da Capivara e pouco menor do que o valor calculado para machos (86,3%) na mesma reserva (Astete 2012). A probabilidade de captura, no entanto, foi muito menor na RNV, em comparação com o registrado na Caatinga (95,0% para fêmeas e 98,1% para machos) por Astete (2012).

➤ **Densidade**

A densidade populacional de onças-pintadas na RNV foi estimada entre 2,8 e 3,1 indivíduos / 100 km² (abordagem conservadora), considerando, respectivamente, o número de espécimes estimados para a área de estudo durante o Ano 1 a partir do Programa CAPTURE e do modelo SECR (n = 10;) e o número de indivíduos identificados a partir das análises genéticas (n = 11), com uma AEA de aproximadamente 359,27 km² (interseção das áreas de vida calculadas pelo estimador Kernel). Se considerados os limites superiores estimados para a RNV, a densidade chegaria a 5,0 indivíduos / 100 km², a partir dos resultados gerados pelo Programa CAPTURE e pelo modelo SECR (n = 18), e a 6,7 indivíduos / 100 km², quando avaliado o resultado do Programa MARK (n = 24).

Entre os modelos empregados na estimativa de densidade da onça-pintada na RNV a partir do método ML SECR, o modelo {g0(.)s(.)} foi considerado o mais apropriado, não incluindo a ocorrência de resposta dos indivíduos à captura (Tabela 6). A estimativa de densidade gerada pelo modelo selecionado foi de 13,8 indivíduos / 100 km² (Erro Padrão = 5,037), resultando em Coeficiente de Variação de 0,3650 (36,5%) e Intervalo de Confiança de 95% variando entre 6,9 e 27,6 indivíduos / 100 km² (Tabela 7). Segundo Sollmann *et al.* (2011), os modelos espaciais podem subestimar a

densidade populacional, provavelmente por assumirem que a espécie apresenta distribuição uniforme dentro e fora das áreas amostradas. Apesar disso, os autores consideram que esses modelos são mais indicados para onças-pintadas, em detrimento dos modelos não espaciais, por considerarem o movimento dos animais e permitirem a incorporação de covariáveis específicas do local e dos indivíduos amostrados (Sollmann *et al.* 2011). No presente estudo, ao contrário, considera-se que o modelo espacial tenha resultado em valores superestimados de densidade para a espécie-alvo na RNV. Isso pode estar relacionado ao fato da amostragem ter coberto grande parte da área de estudo e de terem sido obtidos registros da maior parte dos indivíduos que compõem a população. Neste contexto, as projeções geradas pelos modelos sobrepujaram substancialmente a realidade local, a qual provavelmente está mais próxima do conjunto de dados brutos obtido na área de estudo.

Tabela 6: Resultado dos modelos ML SECR para cálculo de densidade da onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) a partir dos dados obtidos no Ano 1 (quatro meses: 20 pontos de amostragem), considerando as covariáveis taxa de encontro (g_0) e movimento ($s = \text{sigma}$). Legenda: VM = Verossimilhança do Modelo; NP = Número de Parâmetros.

Modelo	AIC	AICc	Delta AICc	Log VM	NP
$\{g_0(\cdot)s(\cdot)\}^1$	468,431	474,431	0,000	-231,216	3
$\{g_0(b)s(b)\}^2$	479,197	509,197	34,766	-234,599	5
$\{g_0(b_1)s(b_1)\}^3$	479,197	509,197	34,766	-234,599	5

1. Modelo sem resposta à captura.

2. Modelo com resposta à captura tipo aprendida ou "Learned".

3. Modelo com resposta à captura tipo "Markov".

Tabela 7: Estimativa de densidade populacional obtida para a onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) a partir do modelo $\{g_0(\cdot)s(\cdot)\}$ para os dados obtidos no Ano 1 (quatro meses: 20 pontos de amostragem) empregando o modelo ML SECR. Legenda: IC95% = Intervalo de Confiança de 95%; g_0 = taxa de encontro; Sigma = movimento.

Parâmetro	Unidade	Estimativa	Erro Padrão	Mínimo IC95%	Máximo IC95%
Densidade	Indiv. / km ²	0,138	0,050	0,069	0,276
g_0	Registro / ocasião	0,036	0,007	0,025	0,053
Sigma	km	6.156,07	1.029,08	4.446,22	8.523,45

Os valores de densidade estimados para a RNV (abordagem conservadora) estão entre os maiores já registrados para a onça-pintada na Mata Atlântica, que varia entre 3,7 indivíduos / 100 km² (Parque Nacional do Iguaçu – porção brasileira; Crawshaw 1995) e menos de 1 indivíduo / 100 km², conforme apontado em estudos recentes realizados em todas as regiões do bioma (Beisiegel *et al.* 2012). Dados recentes obtidos para a área amostrada na década de 1990 por Crawshaw, no entanto, também revelam estimativas de menos de 1 indivíduo / 100 km² para esta localidade na atualidade (Paviolo *et al.* 2008). Estimativas de densidade superiores à registrada para espécie na RNV, considerando a abordagem conservadora, foram observadas no Pantanal (6,7 indivíduos / 100 km²; Soisalo & Cavalcanti 2006), na região Amazônica (10 indivíduos / 100 km² - Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – Brasil; Ramalho 2006) e na América Central (até 8,8 indivíduos / 100 km² em Belize;

Silver *et al.* 2004). A alta densidade da onça-pintada nestas localidades pode ser atribuída à alta produtividade dos ambientes e disponibilidade de presas (Ramalho 2006), ressaltando que a densidade das espécies consumidas é um fator determinante da abundância de grandes felinos (Karanth *et al.* 2004).

Embora não tenha sido possível calcular a abundância de presas a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas (para detalhes, ver Capítulo 1), pode-se considerar que a disponibilidade de recursos alimentares é o principal fator relacionado à alta densidade de onças-pintadas também na RNV. Estudo recente sobre ecologia alimentar das onças-pintadas na área de estudo³, realizado a partir da identificação de pêlos-guarda constantes em amostras fecais, indicou a utilização de pelo menos 12 gêneros, entre mamíferos e répteis, e revelou que mais de 70% da dieta (porcentagem de ocorrência) e mais de 80% da biomassa relativa consumida pela espécie estão baseadas em quatro espécies de mamíferos: quati (*Nasua nasua*), catitu (*Pecari tajacu*), paca (*Cuniculus paca*) e tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), nesta ordem de importância (Del Duque Júnior 2012). Estes resultados são compatíveis com os registros obtidos por Facure & Giaretta (1996) na RNV e diferentes daqueles apontados para a espécie em outras localidades, onde as presas silvestres preferenciais da onça-pintada, no Pantanal, foram jacaré (*Caiman yacare*) e capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Azevedo & Murray 2007) e jacaré (*Caiman crocodilus*) e queixada (*Tayassu pecari*) (Cavalcanti & Gese 2010). No estudo desenvolvido por Weckel *et al.* (2006), em Belize, a espécie mais consumida foi tatu-galinha, seguida de queixada e paca. Embora haja registros de jacaré e queixada na RNV, nenhuma das duas espécies foi registrada como presas consumidas pela onça-pintada na área de estudo (Del Duque Júnior 2012; Facure & Giaretta 1996), embora o queixada tenha sido apontado por Crawshaw (1995) como a presa mais importante para a onça-

³ Dissertação de Mestrado desenvolvida a partir das amostras fecais coletadas durante o presente estudo (para detalhes, ver Capítulo 3).

pintada em estudo desenvolvido na Mata Atlântica (Parque Nacional do Iguaçu). Estes dados corroboram Oliveira (2002) ao afirmar que as espécies consumidas pela onça-pintada variam entre populações e que a variação no consumo das espécies reflete padrões locais de ocorrência e distribuição das presas.

A intensa predação sobre quatis, item mais utilizado pela onça-pintada na RNV (Del Duque Júnior 2012) e que representa uma espécie abundante na área de estudo (observação pessoal), sugere uma estratégia de forrageamento oportunista, de forma semelhante ao indicado por Seymour (1989), Weckel *et al.* (2006) e Cavalcanti & Gese (2010). Embora possa ser considerada um predador oportunista, utilizando uma grande variedade de presas, alguns autores sugerem que a onça-pintada possui preferência por presas de médio e grande porte (Seymour 1989, Gonzalez & Miller 2002). Na RNV, entretanto, o consumo de presas de grande porte foi menos expressivo, citando-se o catitu, que representou o segundo principal item na dieta da espécie, e a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e o veado (*Mazama* sp.), com menores taxas de consumo pela onça-pintada (Del Duque Júnior 2012). Estes dados vão ao encontro do apontado por Carbone *et al.* (1999) ao afirmar que a massa corporal do predador está positivamente relacionada à massa corporal de sua presa mais comum; e dão suporte à existência de uma relação funcional entre a abundância de grandes felinos e a abundância de suas presas (Karanth *et al.* 2004), independente da biomassa das espécies consumidas. Os dados obtidos por Del Duque Júnior (2012) e Facure & Giaretta (1996), apesar de um intervalo de mais de 10 anos na coleta de amostras, sugere que a comunidade de presas utilizada pela onça-pintada na RNV tem permanecido semelhante ao longo do tempo (espécies utilizadas e intensidade de uso), indicando a existência de um padrão alimentar para a espécie na área de estudo.

Apesar da proximidade da RNV e da RBS com áreas de pastagem (presentes no entorno das duas reservas), não há relatos ou registros recentes de predação de gado por grandes predadores silvestres na região. Entretanto, um registro histórico, datado

de 1971, descreve a morte por retaliação de duas onças-pintadas que estavam atacando rebanhos bovinos no município de Linhares (Lorenzutti & Almeida 2006). Apesar da ausência de registros recentes, o risco de conflitos com fazendeiros, culminando como a eliminação de indivíduos, não deve ser descartado para a população de onças-pintadas no bloco Linhares / Sooretama, sendo a caça por retaliação apontada como uma das principais ameaças à conservação da espécie no Pantanal (Cavalcanti *et al.* 2012).

➤ **Área de Vida Mínima**

Os valores de área de vida mínima estimados para onça-pintada na RNV (Tabela 8), a partir do estimador Kernel Fixo (90%), variaram de 61,36 a 181,29 km² para machos (média = 121,33 km²) e de 28,26 a 335,28 km² para fêmeas (média = 158,23 km²). O valor obtido a partir do MPC foi de 141,68 para um dos machos, variando entre 12,48 e 99,80 km² para fêmeas (média = 34,00 km²), e apresentou coeficientes de variação mais elevados do que os dados gerados pelo estimador Kernel.

A área de vida mínima gerada a partir do MPC revelou-se muito reduzida em relação ao total de área disponível para os espécimes, não tendo sido considerada ideal para a população em estudo devido à geração de valores potencialmente subestimados, apesar desta abordagem ser a mais recomendada para cálculo de área de vida mínima. Por este motivo, os valores obtidos a partir do estimador Kernel foram considerados os mais adequados para a população em estudo (Anexo 2), analisando a disponibilidade de ambientes e a conformação das áreas de vida obtidas, embora os valores gerados para alguns indivíduos possam ser considerados elevados. Os resultados obtidos corroboram Barg *et al.* (2005) ao considerar que este método possui vantagens em relação ao MPC, sendo o Kernel mais acurado e informativo,

além de incluir áreas que fazem parte do território de determinado indivíduo e que possam não ter sido visitadas por ele durante o período de coleta de dados.

Tabela 8: Área de vida mínima (em km²) calculada para onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), entre junho de 2005 e junho de 2006, a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas, considerando: estimador Kernel Fixo (90% e 50% da superfície calculada) e Mínimo Polígono Convexo (MPC). Na coluna “Espécime” é fornecido, para cada indivíduo, o número de pontos com obtenção de registros e o número total de observações realizadas durante o Ano 1, respectivamente. O coeficiente de variação (CV) também é apresentado.

Espécime	Kernel 90%	Kernel 50%	MPC
VDR (14, 34)	181,29	40,88	141,68
CRG (02, 02)	61,36	21,13	-
Média Machos	121,33	31,01	141,68
CV	0,70	0,45	-
CMP (06, 07)	107,88	37,07	17,61
FLS (06, 08)	100,40	24,26	22,46
TCB (06, 12)	28,26	8,55	12,48
Po05 (08, 12)	335,28	120,44	99,80
Po07 (04, 04)	219,33	73,58	17,65
Média Fêmeas	158,23	52,78	34,00
CV	0,76	0,85	1,09
Média Total	147,69	46,56	51,95
CV	0,72	0,83	1,06

Apenas para o estimador Kernel houve casos em que a área de vida mínima calculada para determinadas fêmeas foi maior do que a maior área indicada para machos. Isso pode ser atribuído à geração de resultados menos precisos para alguns indivíduos, em decorrência do pequeno tamanho da amostra obtida. Seaman *et al.* (1999) recomendam que análises de área de vida utilizando o estimador Kernel sejam realizadas para espécimes com, pelo menos, 30 observações e, preferencialmente, 50 registros. Entretanto, a fêmea Po05, que apresentou a maior estimativa de área de vida mínima, foi um dos espécimes que reuniu o maior número de observações ($n = 12$), podendo ter havido uma menor margem de erro para o dado gerado, em comparação com os outros indivíduos. Observa-se ainda que Po05 foi identificada como subadulta no Ano 1 e a grande extensão da área utilizada por ela neste período pode estar relacionada à intensificação do movimento durante busca e tentativa de estabelecimento de sua área de vida mínima, de forma semelhante ao observado por Schaller, *et al.* (1984) no Pantanal. Adicionalmente, os pontos com registro de Po05, assim como de Po07, fêmea com a segunda maior estimativa de área de vida mínima, estão localizados principalmente nas subáreas Oeste e Sul. Estas subáreas possuem a pior relação perímetro-área e estão associadas principalmente a áreas de pastagem e cultivos agrícola no entorno (destaque para plantios de mamão e café), o que pode indicar menor qualidade de hábitat, em comparação com a subárea Norte, implicando em maiores extensões de área de vida para suprir as demandas dos espécimes (Karanth *et al.* 2004, Hoogesteijn & Mondolfi 1992).

Considerando os valores gerados pelo estimador Kernel Fixo (Figura 4), a área de vida mínima estimada para as onças pintadas na RNV (até 335,28 km²) alcançou valor maior do que o observado em outras localidades na Mata Atlântica, que chegou a 275,00 km² (Cullen 2006), sendo 357,00 km² (Cerrado; Silveira 2004) e 390,86 km² (Caatinga; Astete 2012) os maiores valores registrados para a espécie até o momento.

O valor médio observado para machos na RNV (121,33 km²) é compatível com o conhecido para a espécie (variação de 67,38 km², no Pantanal – Azevedo & Murray 2007, a 262,85 km², no Cerrado - Silveira 2004), de forma semelhante ao observado para fêmeas (158,23 km²; variação de 32,30 km², no Pantanal - Schaller & Crawshaw 1980, a 201,10 km², no Cerrado - Silveira 2004).

As estimativas de área de vida de onças-pintadas têm se mostrado muito variáveis entre estudos (Cavalcanti & Gese 2009). Embora o emprego de diferentes métodos de amostragem e de análise de dados possa influenciar os resultados, a ausência de padronização não deve ser apontada como a única fonte de variação entre estudos. Neste sentido, cita-se que a abundância de presas em determinada área e o deslocamento necessário para encontrá-las seriam, segundo Hoogsteijn & Mondolfi (1992), alguns dos fatores principais que influenciam o tamanho das áreas de vida utilizadas pela espécie em diferentes habitats. Complementarmente, Sandell (1989) aponta que a distribuição de fêmeas também consiste em um fator que influencia a extensão das áreas de vida dos machos. Embora não haja dados sobre o estado reprodutivo das fêmeas registradas na RNV, os dados obtidos sugerem que a distribuição de fêmeas pode estar influenciando a área ocupada pelo macho dominante no primeiro ano (VDR), destacando que a área ocupada por ele está relacionada à área de vida de todas as fêmeas identificadas na área de estudo. No presente estudo, considera-se dominante o macho cuja ocorrência abrange a maior parte da RNV (subáreas Norte, Sul e Oeste) e que apresenta elevadas taxas de captura, em comparação com os demais indivíduos.

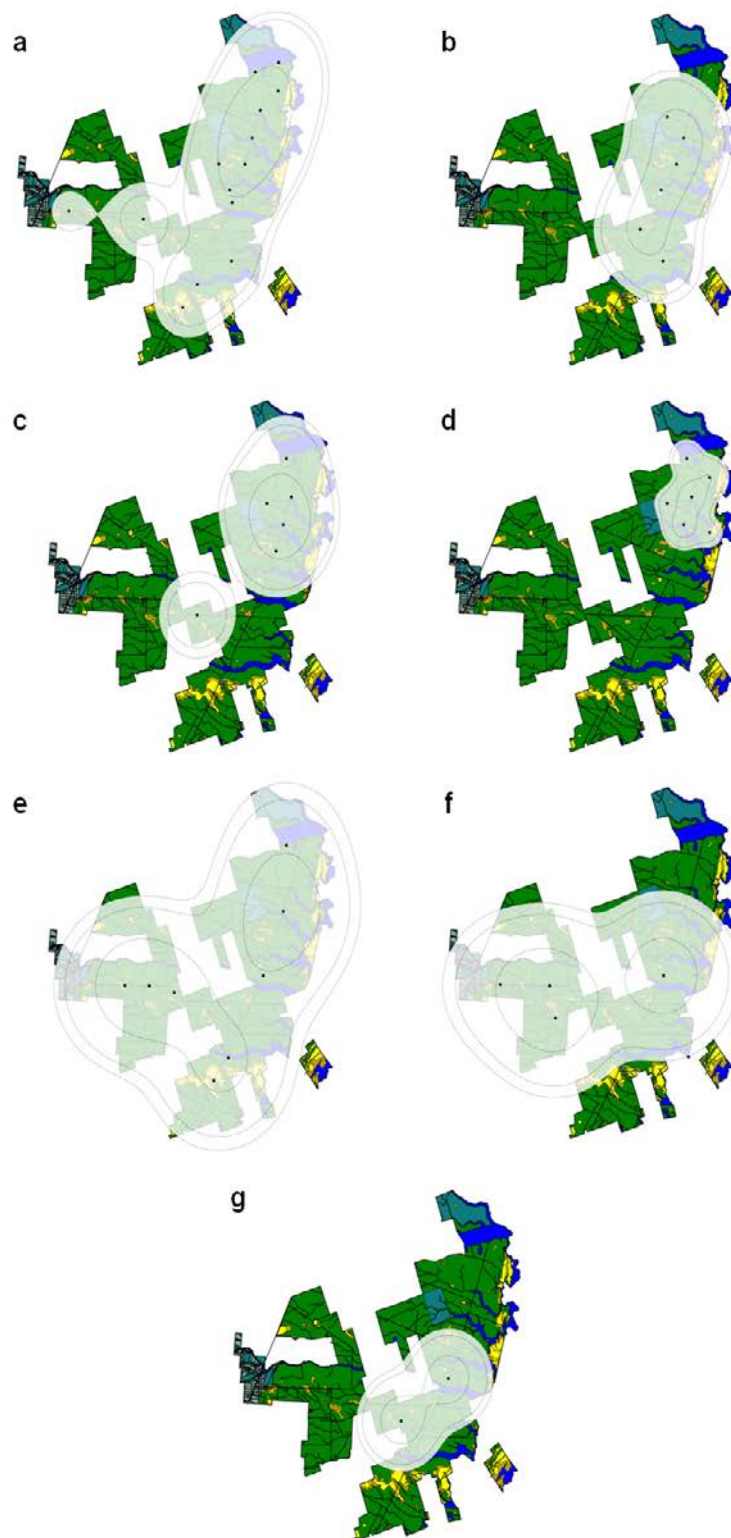


Figura 4: Área de vida mínima estimada para onças-pintadas com o estimador Kernel Fixo (95, 90 e 50%) a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas, entre junho de 2005 e junho de 2006, na Reserva Natural Vale (Linhares / ES): a. VDR, b. CMP; c.

FLS, d. TCB, e. Po05, f. Po07, g. CRG. Os pontos de amostragem com registro de cada indivíduo também são apresentados.

➤ **Interações Sociais**

No período de junho de 2005 a junho de 2006, a população de onças-pintadas presente na RNV era caracterizada pela presença de um macho dominante (VDR), que ocupava praticamente toda a área de estudo (Figura 5) e cuja área de vida se sobrepunha à de todas as fêmeas registradas, representando o indivíduo mais registrado durante o primeiro ano de estudo (Tabela 8). No mesmo período, foi registrado um segundo macho adulto (CRG) e um indivíduo subadulto (Po06), também macho, cujo sexo só foi determinado no quarto ano de estudo. Estes espécimes apresentaram número muito reduzido de registros (2 e 1, respectivamente), o que pode sugerir um uso menos intensivo das estradas para reduzir ou evitar encontros agonísticos com o macho dominante naquela época, tendo havido sobreposição média de pouco menos de 10% entre as áreas núcleo de VDR e CRG durante o Ano 1 (Figura 4; Tabela 9).

Tabela 9: Média e amplitude da sobreposição de áreas de vida e áreas núcleo (em %) estimadas a partir do estimador Kernel Fixo (faixas 90% e 50%, respectivamente) para onças-pintadas na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas entre junho de 2005 e junho de 2006. Na coluna “Área de Vida Mínima”, a amplitude da sobreposição de áreas é apresentada entre parênteses. Intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e coeficiente de variação (CV) também são apresentados.

Sexo	Área de Vida Mínima	IC 95%	CV	Área Núcleo	IC 95%	CV
Machos	63.95 (30.9-97.0)	-	0,73	9.50 (7.0-12.0)	-	0,37
Fêmeas	54.71 (5.0-100.0)	39.75 - 69.67	0,58	37.81 (0.0-100.0)	23.11 - 52.50	0,83
Machos / Fêmeas	58.09 (5.0-100.0)	42.84 - 73.34	0,56	37.01 (0.0-100.0)	22.40 - 51.62	0,84

Foi observada uma elevada taxa de sobreposição de áreas de vida entre fêmeas durante o Ano 1, com registro de até 100% de sobreposição entre indivíduos (Figura 4; Tabela 9). A sobreposição das áreas núcleo entre fêmeas foi um pouco menor (Tabela 9), embora tenha se revelado especialmente elevada na subárea Norte (quatro indivíduos), com até 100% de sobreposição da área núcleo de FLS em relação a Po05; seguida da subárea Oeste (dois espécimes), onde chegou a aproximadamente 90% de sobreposição para Po07, em relação a Po05, nesta porção da área de estudo. Apenas na subárea Sul não foi registrada a sobreposição de áreas núcleo entre fêmeas, tendo sido marginais os limites da área núcleo de CMP e Po05 nesta subárea. Estes mesmos indivíduos possuíram sobreposição de mais de 50% em suas áreas

núcleo na subárea Norte. Apenas entre duas fêmeas (TCB e Po07) não foi observada qualquer sobreposição entre áreas núcleo, considerando toda a RNV. Nenhuma fêmea apresentou área núcleo exclusiva na área de estudo.

Resultados muito semelhantes foram obtidos quando analisada a sobreposição de áreas de vida e de área núcleo entre machos e fêmeas (Figura 4, Tabela 9), ressaltando que a área núcleo do macho VDR possui sobreposição, total ou parcial (pelo menos 20%; média = 45%), com a de todas as fêmeas registradas na área de estudo. Para o macho CRG, foi observada sobreposição da área núcleo com três fêmeas (CMP, Po05 e Po07) e os valores variaram entre 45 e 55% de sobreposição (média = 52% considerando apenas as fêmeas com registro de sobreposição).

Embora não tenha havido o registro de filhotes na RNV, com o registro de indivíduos subadultos apenas durante o Ano 1, indicativos de comportamento reprodutivo foram obtidos em 30 e 31 de julho de 2005 (três registros independentes), quando o macho VDR e a fêmea TCB foram registrados juntos. Registro semelhante foi obtido na RNV por um pesquisador (Waldney Pereira Martins), em 01 de abril de 2009, envolvendo o indivíduo CRG e uma fêmea não identificada. A identificação do macho e do sexo do segundo indivíduo foi possível a partir da análise das fotografias realizadas pelo pesquisador na ocasião. Embora possam representar apenas eventos de socialização, a exemplo dos registros realizados por Schaller & Crawshaw (1980), o fato de terem sido registrados um macho e uma fêmea juntos reforça a hipótese desses registros estarem relacionados a comportamento reprodutivo. Segundo Crawshaw & Quigley (1984), eventos de socialização envolvendo indivíduos adultos de sexos diferentes são possíveis indicadores de acasalamento, uma vez que estas associações estão geralmente restritas à estação reprodutiva. Caso estes registros efetivamente representem eventos associados à reprodução, pode-se considerar a ausência de uma estação reprodutiva definida para a espécie na RNV, de forma semelhante ao registrado por Cavalcanti & Gese (2009), no Pantanal.

Sugere-se que o uso intensivo das estradas pelo macho dominante e por outros espécimes possa inibir o uso destes ambientes por fêmeas com filhotes, como uma tentativa de evitar confrontos e proteger as crias, o que teria contribuído para a ausência de registros de filhotes durante o presente estudo. Devido às suas características ecológicas e comportamentais, os Carnívora representam a ordem de mamíferos que exibe maior incidência de infanticídios, os quais podem ocorrer em contextos variados (Packer & Pusey 1984). Para Wolff (1997), a vulnerabilidade dos filhotes a infanticídios é um dos fatores que determina a territorialidade em fêmeas, sendo estes elementos observados na maioria das espécies de Carnívora. Registros de infanticídio em onças-pintadas foram obtidos no Parque Nacional das Emas, no Cerrado, em uma região na qual a espécie ocorre em baixa densidade populacional (Soares *et al.* 2006), apesar do risco de infanticídios ser conhecidamente maior em áreas com alta densidade de indivíduos, podendo ocorrer entre indivíduos aparentados ou não familiares (Wolff 1997). Adicionalmente, segundo Karanth (2002), em tigres (*Panthera tigris*), alguns indivíduos (mães e/ou filhotes) evitam deliberadamente as armadilhas fotográficas, resultando em taxas de captura extremamente baixas para filhotes. Sugere-se que este comportamento possa ser expressado também pelas onças-pintadas na RNV, onde o registro de fêmeas em estradas (capturas e recapturas) foi bem sucedido durante o Ano 1, sobretudo nos primeiros seis meses de amostragem (79,1% dos registros de fêmeas obtidos durante o primeiro ano de estudo), seguido por um aparente evitamento das estradas nos Anos 4 e 5, o que poderia representar uma resposta das fêmeas à presença dos equipamentos. Além disso, a baixa detectabilidade da espécie fora de estradas também pode ter reduzido a probabilidade de registros de fêmeas com filhotes durante os Anos 2 e 3, embora a maior parte dos registros em bordas internas e interior da mata tenham sido de fêmeas. O comportamento dos filhotes (permanência em abrigos quando muito novos e deslocamento realizado preferencialmente atrás da mãe quando adquirem maior mobilidade), associado ao intervalo entre fotografias (ajuste

mínimo dos equipamentos utilizados) e à redução da área exposta no campo visual da fotografia devido à presença de vegetação (no caso das amostragens fora de estradas), também podem ter contribuído para o não registro de filhotes de onça-pintada durante o período de amostragem. De forma complementar, observa-se que o registro de filhotes de jaguatirica (*Leopardus pardalis*) foram realizados na RNV apenas durante o Ano 5 (quatro registros), sendo esta uma espécie com comportamento semelhante, em vários aspectos, à onça-pintada.

A partir de junho de 2009, com o retorno das armadilhas para as estradas (subárea Norte), foi registrada uma grande sobreposição entre os pontos de amostragem com ocorrência dos três machos (Figura 5), onde VDR e Po06 apresentaram maior número de registros (n = 11 e 12, respectivamente) e CRG manteve número reduzido de ocorrências (n = 3). Estes dados podem sugerir uma intensificação da disputa e defesa de território entre machos, sobretudo entre VDR e Po06, a partir do atingimento da maturidade sexual pelo último.

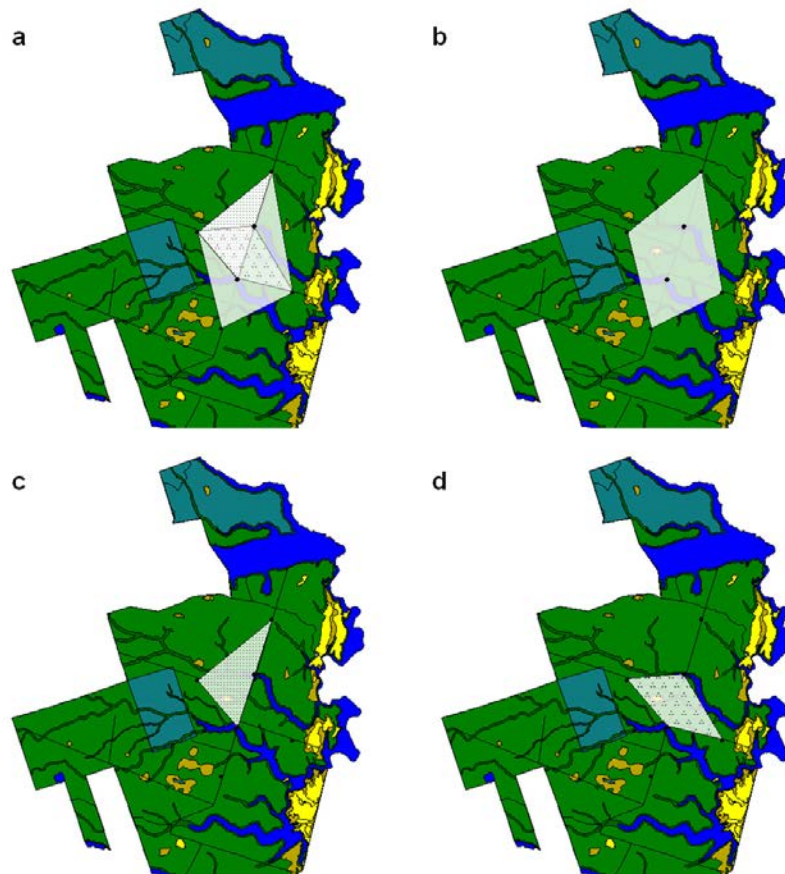


Figura 5: Detalhe da subárea Norte com a sobreposição da área utilizada por machos na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), entre junho de 2009 e fevereiro de 2010: a. todos os indivíduos, b. VDR, c. CRG, d. Po06. Os pontos de amostragem com registro de cada indivíduo também são apresentados.

No período de julho de 2012 a janeiro de 2013, apenas dois machos foram registrados na RNV (Figura 6), ressaltando a ausência de registros do indivíduo VDR, que era o macho dominante na área de estudo até fevereiro de 2010 (mês de encerramento das amostragens do Ano 4). Embora tenha sido observada a sobreposição dos pontos com ocorrência dos dois machos registrados durante o Ano 5, o macho Po06 apresentou uso mais amplo da RNV, abrangendo pontos de ocorrência nas subáreas

Norte, Sul e Oeste (Figura 6), enquanto o macho CRG foi registrado apenas na primeira subárea.

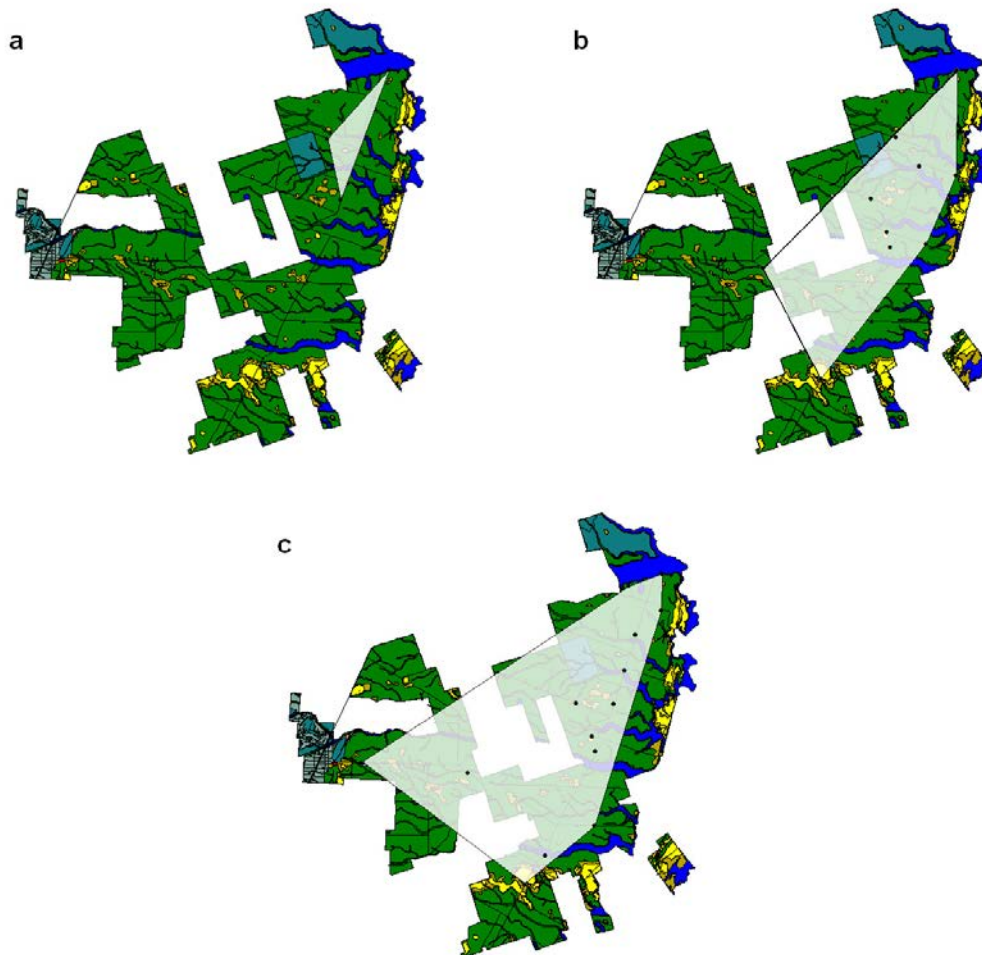


Figura 6: Sobreposição da área utilizada pelos machos CRG (a) e Po06 (b), entre julho de 2012 e janeiro de 2013, e área utilizada pelo macho VDR (c), entre junho de 2005 e junho de 2006, na Reserva Natural Vale (Linhares / ES). Os pontos de amostragem com registro de cada indivíduo também são apresentados.

Ressalta-se que a área ocupada por Po06 no Ano 5 se assemelha àquela ocupada durante o Ano 1 por VDR, embora o número de registros de Po06 na subárea Oeste

tenha sido menos representativo (Figura 6). Este fato, associado à ausência de registros de VDR, que foi o indivíduo mais registrado na área de estudo desde o início das amostragens, sugere que ele possa ter sido eliminado da RNV ou esteja subjugado a uma porção periférica de hábitat, evitando o uso das estradas para reduzir confrontos com Po06.

A forte sobreposição entre as áreas ocupadas por fêmeas, observada no presente estudo, foi também registrada em outros estudos com grandes felinos (Pierce *et al.* 2000, Ross & Jalkotzy 1992), embora a taxa média de sobreposição de áreas de vida observada na RNV tenha sido superior àquela registrada para a espécie na Mata Atlântica (Cullen 2006), no Pantanal (Azevedo & Murray 2007, Cavalcanti & Gese 2009) e na Caatinga (Astete 2012). Apesar da existência de sobreposição de áreas de vida entre machos na RNV, observada no Ano 1 e a partir do Ano 4, a ausência de registros do indivíduo VDR no Ano 5 sugere haver disputa e defesa de território na área de estudo entre machos, com a possível exclusão de indivíduos, de forma semelhante ao observado para tigres (*Panthera tigris*) (Sunquist 1981) e pumas (*Puma concolor*) (Ross & Jalkotzy 1992). O macho CRG, por outro lado, mantém alguma sobreposição em relação à área de vida dos outros machos ao longo dos anos, o que sugere que ele possa apresentar menor ostensividade na defesa de sua área de vida, o que permitiria maior tolerância por parte do macho dominante. De acordo com Azevedo & Murray (2007), os machos de onça-pintada podem expressar pouco ou nenhum evitamento ativo ou defesa ostensiva de suas áreas de vida, conforme observado no Pantanal.

Segundo Sandell (1989), a sobreposição de áreas entre machos pode ocorrer se a densidade de fêmeas é baixa. Para Ostfeld (1985), por outro lado, a sobreposição entre as áreas de vida dos machos pode ser observada quando as fêmeas estão uniformemente distribuídas, sendo a distribuição espacial de fêmeas reprodutivas o único fator determinante para a estratégia de distribuição dos machos. O padrão

observado na RNV está mais próximo do proposto por Ostfeld (1985), onde se destaca a alta densidade e a distribuição de fêmeas em toda a área da RNV, embora tenha havido uma maior concentração de fêmeas na subárea Norte. Neste sentido, sugere-se que o número de fêmeas pode funcionar como um fator limitante para o número de machos existentes na área de estudo, desencadeando um processo de auto-regulação ou regulação intrínseca (comportamental) entre machos. Estas colocações contribuem para a afirmação que em onças-pintadas os padrões de espaçamento de machos são afetados pela distribuição de fêmeas (Sandell 1989), havendo um elevado grau de interação intersexual na espécie (Azevedo & Murray 2007).

A taxa média de sobreposição de áreas núcleo revelou-se muito elevada no presente estudo, especialmente entre fêmeas e entre machos e fêmeas, em comparação com Azevedo & Murray (2007). Apenas a taxa média de sobreposição de áreas núcleo entre machos apresentou valores semelhantes entre o último e o presente estudo. Cullen (2006) também reporta ter havido intensiva sobreposição de áreas núcleo entre alguns machos e fêmeas, mas os valores não são apresentados pelo autor. Além da pequena sobreposição de áreas núcleo, Azevedo & Murray (2007) identificaram a existência de territórios distintos, onde indivíduos residentes do mesmo sexo estabeleceram áreas núcleo com porções exclusivas significativas, o que não foi observado no presente estudo. A existência de áreas exclusivas também foi detectada por Cavalcanti & Gese (2009) para fêmeas durante o período de cheia, embora não tenha sido observada a manutenção de áreas exclusivas por machos.

Azevedo & Murray (2007) consideraram que os padrões de exclusividade na distribuição espacial dos indivíduos tenham sido influenciados pela existência de uma base alimentar suficientemente abundante e que as áreas de exclusividade eram aquelas nas quais a predação foi mais intensa. No estudo desenvolvido por Pierce *et al.* (2000), a partilha do espaço por pumas ocorreu mais extensivamente em áreas onde a disponibilidade de presa não era alta e as áreas de sobreposição tinham

significativamente mais presas disponíveis do que as áreas de uso exclusivo. Para os autores, o uso e a partilha do espaço pela espécie estariam baseados na distribuição e disponibilidade de presas e não na presença de outros pumas, embora possa haver competição por recursos nas áreas de sobreposição. Neste cenário, as regiões com alto grau de sobreposição de áreas de vida não representam necessariamente áreas de fronteira com baixa intensidade de uso pelos indivíduos (Pierce *et al.* 2000).

Assim como apontado nas análises de densidade, apesar de não ter sido possível avaliar a abundância de presas no presente estudo, sugere-se que a disponibilidade de recursos alimentares represente fator chave para a manutenção das elevadas taxas de sobreposição de áreas de vida e de áreas núcleo observadas para a onça-pintada na RNV, onde praticamente toda a área de estudo consiste em área de sobreposição de indivíduos. Entretanto, segundo demonstrado por Schaller (1972), as populações de carnívoros de grande porte podem não responder imediatamente às mudanças nas populações de suas presas, havendo, conforme proposto por Utida (1957), um intervalo de tempo entre as flutuações populacionais de predadores e de suas presas. Neste sentido, recomenda-se que a possível suficiência ou sobrecarga da comunidade de presas presente na RNV seja avaliada e monitorada sistemática e continuamente (amostragens com armadilhas fotográficas direcionadas para a adoção de análises de ocupação – “*Occupancy*”; MacKenzie *et al.* 2002, MacKenzie & Royle 2005) como parte da estratégia de conservação da onça-pintada na região, realizando-se também a avaliação periódica da dieta da espécie para detecção de alterações no conjunto de espécies consumidas ao longo do tempo (atualização e complementação de Del Duque Júnior 2012). Além da existência de outras espécies de felinos que possuem sobreposição em relação à composição da dieta da onça-pintada (puma e jaguatirica), a ocorrência de atividades de caça, apesar das ações diárias de Proteção Ecosistêmica desenvolvidas na RNV e na RBS, revela-se um componente adicional de sobrecarga das populações de espécies utilizadas pela onça-pintada e que são

alvos preferenciais de caçadores, a exemplo da paca e do tatu-galinha, embora haja também registros de caça de catitu, capivara e veado no bloco Linhares / Sooretama, aumentando a vulnerabilidade desse grande predador na região.

Ressalta-se ainda que, além da remoção adicional de presas, há também o risco de morte de onças-pintadas a partir de encontros acidentais com caçadores, seja por medo, como “animal-troféu” (caça por vaidade e prestígio) ou mesmo como alvo de caça direcionada (comércio ou caça esportiva), como observado historicamente no Espírito Santo. Neste sentido, cita-se que, até meados da década de 1980, registrava-se na região a caça de onças-pintadas para comércio de peles (informações fornecidas por agentes de Proteção Ecológica), havendo o registro documental da morte de um espécime por caçadores, em 1958, no município de Sooretama (Lorenzutti & Almeida 2006). Sob estes aspectos, o combate às atividades de caça na RNV e na RBS também devem ser desenvolvidas como parte da estratégia de conservação da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama.

4. Considerações Finais

Com base nos dados obtidos no presente estudo e aspectos relacionados à ecologia e comportamento da espécie estudada, sugere-se que a dinâmica da população de onças-pintadas presente na Reserva Natural Vale (RNV) seja influenciada por três componentes principais:

- A limitação espacial imposta pela reduzida porção de hábitat disponível na região, estando os indivíduos confinados ao bloco Linhares / Sooretama e áreas vizinhas (entorno) potencialmente utilizadas pelos espécimes durante deslocamento entre

porções de hábitat mais favorável (entre a RNV e a RBS e entre as subáreas que compõem a RNV).

- A disponibilidade de recursos alimentares, que pode ser indicada como um dos fatores que mantém a alta densidade populacional atual da espécie na RNV e permite haver elevada sobreposição de áreas de vida, representando um componente que pode sofrer variações ao longo do tempo, por exemplo, em decorrência de superexploração (predadores silvestres de forma geral e homem / caçadores).
- A disponibilidade e a distribuição de fêmeas, que parece influenciar a abundância de machos na população, havendo dados que sugerem a ocorrência de auto-regulação entre machos na área de estudo.

Estes componentes limitam o número de indivíduos suportado pelo bloco Linhares / Sooretama, o que expõe a população a uma série de riscos decorrentes do pequeno número populacional e o do isolamento espacial, onde se destacam a estocasticidade ambiental, demográfica e genética (Gilpin & Soulé 1986, Lynch & Lande 1998), além de uma maior exposição a doenças (Gilbert 1994).

Este conjunto de fatores, somado ao risco de morte de espécimes por caçadores, demonstra o grau de suscetibilidade da onça-pintada na região e, conseqüentemente, no estado do Espírito Santo de maneira geral, podendo a situação evidenciada na RNV ser projetada para outras populações na Mata Atlântica.

5. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, A. 1976. Jaguar hunting in Mato Grosso. London: Stanwill Press.

ARNOLD, T.W. 2010. Uninformative Parameters and Model Selection Using Akaike's Information Criterion. *Journal of Wildlife Management*, 74: 1175-1178.

ASTETE, S. 2008. Ecologia da onça-pintada nos Parques Nacionais Serra da Capivara e Serra das Confusões, Piauí. Dissertação: Mestrado. Universidade de Brasília, Brasil.

ASTETE, S. 2012. Ecologia e conservação da onça-pintada e da onça-parda no Parque Nacional Serra da Capivara, Piauí. Tese: Doutorado. Universidade de Brasília, Brasil.

ASTETE, S.; SOLLMANN, R. & SILVEIRA, L. 2008. Comparative Ecology of Jaguars in Brazil. *Cat News Special Issue*, 4: 9-14.

AZEVEDO, F. & MURRAY, D. 2007. Spatial organization and food habits of jaguars (*Panthera onca*) in a floodplain forest. *Biological Conservation*, 137: 391-402.

BARG, J.J.; JONES, J. & ROBERTSON, R.J. 2005. Describing breeding territories of migratory passerines: suggestions for sampling, choice of estimator, and delineation of core areas. *Journal of Animal Ecology*, 74:139–149.

BEISIEGEL, B.M.; SANA, D.A. & MORAES JR, E.A. 2012. The jaguar in the Atlantic Forest. *Cat News Special Issue*, 7: 14-18.

BORCHERS D.L. & EFFORD, M.G. 2008. Spatially explicit maximum likelihood methods for capture–recapture studies. *Biometrics*, 64: 377–385.

BURNHAM, K.P. & ANDERSON, D.R. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Second edition. Springer, New York, NY, USA.

BURNHAM, K.P. & ANDERSON, D.R. 2004. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological Methods and Research*, 33: 261-304.

CARBONE, C. & GITTLEMAN, J.L. 2002. A Common Rule for the Scaling of Carnivore Density. *Science*, 295: 2273-2276.

CARBONE, C.; MACE, G.M.; ROBERTS, S.C. & MACDONALD, D.W. 1999. Energetic constraints on the diet of terrestrial carnivores. *Nature*, 402: 286-288.

CAVALCANTI, S.M.C.; AZEVEDO, F.C.C.; TOMÁS, W. M.; BOULHOSA, R.L.P. & CRAWSHAW JR, P.G. 2012. The status of the jaguar in the Pantanal. *Cat News Special Issue*, 7: 29-34.

CAVALCANTI, S.M.C. & GESE, E.M. 2009. Spatial Ecology and Social Interactions of Jaguars (*Panthera onca*) in the Southern Pantanal, Brazil. *Journal of Mammalogy*, 90 (4): 935-945.

CAVALCANTI, S.M.C. & GESE, E.M. 2010. Kill rates and predation patterns of jaguars (*Panthera onca*) preying on livestock and native prey in the southern Pantanal, Brazil. *Journal of Mammalogy*, 91: 722-736.

CONDE, D.A.; COLCHERO, F.; ZARZA, H.; CHRISTENSEN JR., N.L.; SEXTON, J.O.; MANTEROLA, C.; CHÁVEZ, C.; RIVERA, A.; AZUARA, D. & CEBALLOS, G. 2010. Sex matters: Modeling male and female habitat differences for jaguar conservation. *Biological Conservation*, 143: 1980-1988.

COOCH, E. & WHITE, G.C. 2009. Program MARK: A Gentle Introduction. 11th ed. New York: Cornell University.

- CORMACK, R.M. 1964. Estimates of survival from the sightings of marked animals. *Biometrika*, 51: 429-438.
- CRAWSHAW, P.G. 1995. Comparative ecology of ocelot (*Felis pardalis*) and jaguar (*Panthera onca*) in a protected subtropical forest in Brazil and Argentina. Tese: Doutorado. University of Florida, United States.
- CRAWSHAW JR., P. G.; H. B. QUIGLEY. 1984. A ecologia do jaguar ou onça-pintada no Pantanal. Relatório Final. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Brasília.
- CRAWSHAW, P.G. & QUIGLEY, H. B. 1991. Jaguar spacing, activity and habitat use in a seasonally flooded environment in Brazil. *Journal of Zoology*, 223: 357–370.
- CULLEN, L. 2006. Jaguar as landscape detectives for the conservation in the Atlantic Forest of Brazil. Tese: Doutorado. University of Kent, United Kingdom.
- DEL DUQUE JÚNIOR, H.J. 2012. A dieta da onça-pintada em uma das últimas populações deste felino na Mata Atlântica: a Reserva Natural Vale, Linhares (ES), sudeste do Brasil. Dissertação: Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil.
- EFFORD, M.G. 2004. Density estimation in live-trapping studies. *Oikos*, 106: 598-610.
- EFFORD, M.G. 2011. Estimation of population density by spatially explicit capture-recapture analysis of data from area searches. *Ecology*, 92: 2202–2207.
- EFFORD, M.G.; BORCHERS, D.L. & BYROM, A.E. 2009. Density estimation by spatially explicit capture–recapture: likelihood-based methods. In: THOMSON, D.L.; COOCH, EG & CONROY, M.J. (Eds). *Modeling demographic processes in marked populations*. New York: Springer. p. 255–269.

EFFORD, M.G.; DAWSON, D.K. & ROBBINS, C.S. 2004. DENSITY: software for analysing capture-recapture data from passive detector arrays. *Animal Biodiversity and Conservation*, 27: 217-228.

FACURE, K.G. & GIARETTA, A. 1996. Food habits of carnivores in a coastal Atlantic forest of southeastern Brazil. *Mammalia*, 60: 499-502.

FERRAZ, K.M.P.M.B.; BEISIEGEL, B.M.; PAULA, R.C.; SANA, D.A.; CAMPOS, C.B.; OLIVEIRA, T.G. & DESBIEZ, A.L.J. 2012. How species distribution models can improve cat conservation - jaguars in Brazil. *Cat News Special Issue*, 7: 38-42.

FSOSMA & INPE. 2009. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2005-2008. Relatório Parcial. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo.

FSOSMA & INPE. 2011. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2008-2010. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo. Disponível online em: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2008-10_relatorio%20final_versao2_julho2011.pdf (acessado em 10 de agosto de 2012).

GASCON, C.; WILLIAMSON, G.B. & FONSECA, G.A.B. 2000. Receding Forest Edges and Vanishing Reserves. *Science*, 288: 1356-1358.

GILBERT, K.A. 1994. Parasitic infection in red howling monkeys in forest fragments. *Neotropical Primates*, 2: 10-12.

GILPIN, M.E. & SOULE, M.E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. In: SOULE, M.E. (Ed.). 1986. *Conservation Biology: the Science of Scarcity and Diversity*. Sunderland: Sinauer Associates. p: 19-34.

GONZALEZ, C.A.L. & MILLER, B.J. 2002. Do jaguars (*Panthera onca*) depend on large Prey? *Western North American Naturalist*, 62: 218–222.

- HOOGESTEIJN, R. & MONDOLFI, E. 1992. The jaguar. Caracas: Armitano Editores.
- IBGE. 1993. Mapa de Vegetação do Brasil. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- JESUS, R.M. 1987. Mata Atlântica de Linhares: Asectos Florestais. In: SEMA, IWRB & CVRD. (Eds). 1987. Desenvolvimento Econômico e Impacto Ambiental em Áreas de Trópico Úmido Brasileiro - A experiência da CVRD. Rio de Janeiro: CVRD. p: 35-53.
- JESUS, R.M. & ROLIM, S.G. 2005. Fitossociologia da Mata Atlântica de Tabuleiro. Boletim Técnico da Sociedade de Investigações Florestais, 19: 1-149.
- JOLLY, G. M. 1965. Explicit estimates from capture-recapture data with both death and immigration–stochastic model. *Biometrika*, 52: 225-247.
- KARANTH, K.U. 1995. Estimating tiger *Panthera tigris* populations from camera-trap data using capture-recapture models. *Biological Conservation*, 71: 333-338.
- KARANTH, U.K. 2002. Monitoring tigers and their prey: A manual for wildlife researchers, managers and conservationists in Tropical Asia. Centre for Wildlife Studies, Bangalore.
- KARANTH, K.U. & NICHOLS, J.D. 1998. Estimation of tiger densities in India using photographic captures and recaptures. *Ecology*, 79: 2852-2862.
- KARANTH, K.U.; NICHOLS, J.D.; KUMAR, N.S. & HINES, J.E. 2006. Assessing tiger population dynamics using photographic capture–recapture sampling. *Ecology*, 87: 2925-2937.
- KARANTH, U.K.; NICHOLS, J.D.; KUMAR, N.S.; LINK, W.A. & HINES, J.E. 2004. Tigers and their prey: predicting carnivore densities from prey abundance. *PNAS*, 101: 4854-4858.

LAVIER, P.N. 2005. Kernel Home Range Estimation for ArcGIS, using VBA and ArcObjects. User Manual (Beta v.2). Virginia: Department of Fisheries and Wildlife Sciences.

LORENZUTTI, R. & ALMEIDA, A.P. 2006. A coleção de mamíferos do Museu Elias Lorenzutti em Linhares, Estado do Espírito Santo, Brasil. Boletim do Museu de Biologia Professor Mello Leitão, 19: 59-74.

LYNCH, M. & LANDE, R. 1998. The critical effective size for a genetically secure population. *Animal Conservation*, 1: 70-72.

MACKENZIE, D.I.; NICHOLS, J.D.; LACHMAN, G.B.; DROEGE, S.; ROYLE, J.A. & LANGTIMM, C.A. 2002. Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. *Ecology*, 83: 2248-2255.

MACKENZIE, D.I. & ROYLE, J.A. 2005. Designing occupancy studies: general advice and allocating survey effort. *Journal of Applied Ecology*, 42: 1105-1114.

MAFFEI, L.; CUELLAR, E. & NOSS, A. 2004. One thousand jaguars (*Panthera onca*) in Bolivia's Chaco? Camera trapping in the Kaa-lyá National Park. *Journal of Zoology*, 262: 295-304.

MICHALSKI, F.; CULLEN JR, L.; OLIVEIRA, T.G.D. & CRAWSHAW JR, P.G. 2001. Felid cryptorchidism in Atlantic forest fragments: evidence of inbreeding in free-ranging populations. *Mammalia*, 65: 548-550.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE; CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL DO BRASIL; FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS; INSTITUTO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS; SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SÃO PAULO & SEMAD/INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS-MG. 2000. Avaliação e Ações Prioritárias para a Conservação da Biodiversidade da Mata

Atlântica e Campos Sulinos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Biodiversidade e Florestas.

MITTERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOREUX, J. & FONSECA, G.A.B. 2004. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Chicago: University of Chicago Press.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G.A.B. & KENT, J. 2000. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Nature*, 403: 853-858.

OLIVEIRA, T.G. 2002. Ecología comparative de la alimentacion del jaguar y del puma en el Neotrópico In: MEDELLIN, R.A.; CHETKIEWICZ, C.; RABINOWITZ, A.; ROBINSON, J.G.; SANDERSON, E. & TABER, A. (Eds). *Jaguars in the new millennium. A status assessment, priority detection and recommendations for the conservation of jaguars in the Americas*. Mexico D.F.: UNAM/WCS. p. 365-288.

OLIVEIRA, T.G.; RAMALHO, E.E. & PAULA, R.C. 2012. Red List assessment of the jaguar in Brazilian Amazonia. *Cat News Special Issue*, 7: 8-13.

OSTFELD, R.S. 1985. Limiting resources and territoriality in microtine rodents. *American Naturalist*, 126: 1–15.

OTIS, D.L.; BURNHAM, K.P.; WHITE, G.C. & ANDERSON, D.R. 1978. Statistical inference from capture data on closed populations. *Wildlife Monographs*, 62: 1-135.

PACKER, C & PUSEY, A.E. 1984. Infanticide in carnivores. In: HAUSFATER, G. & HRDY, S.B. (Eds). *Infanticide: comparative and evolutionary perspectives*. New York: Aldine de Gruyter. p: 31-42.

PAVIOLO, A.; De ANGELO, C.D.; DI BLANCO, Y.E. & DI BITETTI, M.S. 2008. Jaguar *Panthera onca* population decline in the Upper Paraná Atlantic Forest of Argentina and Brazil. *Oryx*, 42: 554-561.

PEIXOTO, A.L. & GENTRY, A. 1990. Diversidade e composição florística da Mata de Tabuleiro na Reserva Florestal de Linhares (Espírito Santo, Brasil). *Revista Brasileira de Botânica*, 13: 19-25.

PIERCE, B.M.; BLEICH, V.C. & BOWYER, R.T. 2000. Social organization of mountain lions: Does a Land-Tenure system regulate population size? *Ecology*, 91: 1533–1543.

PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. 2001. *Biologia da Conservação*. Londrina: Midiograf.

RAMALHO, E. 2006. Uso de habitat e dieta da onça-pintada (*Panthera onca*) em uma área de várzea, Reserva de Desenvolvimento sustentável de Mamirauá, Amazônia Central, Brasil. Dissertação: Mestrado. Universidade Federal do Amazonas, Brazil.

REXSTAD, E. & BURNHAM, K.P. 1991. User's guide for interactive program CAPTURE. Colorado: Colorado Cooperative Fish & Wildlife Research Unit, Colorado State University, Fort Collins.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J. & HIROTA, M. M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1141-1153.

ROSS, P.J. & JALKOTZY, M.G. 1992. Characteristics of a hunted population of cougars in Southwestern Alberta. *Journal of Wildlife Management*, 56: 417–426.

SALOM-PÉREZ, R.; CARRILLO, E.; SÁENZ, J.C. & MORA, J.M., 2007. Critical condition of the jaguar *Panthera onca* population in Corcovado National Park, Costa Rica. *Oryx*, 41: 51-56.

SANDELL, M. 1989. The mating tactics and spacing patterns of solitary carnivores. In: GITTLEMAN, J.L. (Ed). *Carnivore Behaviour, Ecology and Evolution*. London: Chapman & Hall. p: 164–182.

SANDERSON, E.; REDFORD, K.H.; CHETKIEWICZ, C.; MEDELLIN, R.A.; RABINOWITZ, A.; ROBINSON, J.G. & TABER, A. 2002. Planning to save a species: the jaguar as a model. *Conservation Biology*, 16: 58-72.

SCHALLER, G.B. 1972. *The Serengeti Lion: A study of predator-prey relations*. Chicago: University of Chicago Press.

SCHALLER, G.B. & CRAWSHAW, P.G. 1980. Movement patterns of jaguar. *Biotropica*, 12: 161-168.

SCHALLER, G.B.; QUIGLEY, H.B. & CRAWSHAW, P.G. 1984. Biological investigations in the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. National Geographic Society Research Report, 17: 777-792.

SEAMAN, D.E. & POWELL, R.A. 1996. An evaluation of the accuracy of kernel density estimators for home range analysis. *Ecology*, 77: 2075–2085.

SEAMAN, D.E.; MILLSPAUGH, J.J.; KERNOHAN, B.J.; BRUNDIGE, G.C.; RAEDEKE, K.J. & GITZEN, R.A. 1999. Effects of Sample Size on Kernel Home Range Estimates. *Journal of Wildlife Management*, 63: 739-747.

SEBER, G.A.F. 1965. A note on the multiple-recapture census. *Biometrika*, 52: 249-259.

SEYMOUR, K.L. 1989. *Panthera onca*. *Mammalian Species*, 340: 1-9.

SILVEIRA, L. 2004. Ecologia comparada de onça-pintada (*Panthera onca*) e onça-parda (*Puma concolor*) no cerrado do Brasil. Tese: Doutorado. Universidade de Brasília, Brazil.

SILVEIRA, L. & CRAWSHAW JR, P. 2008. *Panthera onca* Linnaeus, 1758. In: MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M. & PAGLIA, A.P. (Eds). 2008. Livro Vermelho

da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Vol. 2. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. p: 793-794.

SILVEIRA, L.; JÁCOMO, A.T.A.; ASTETE, S.; SOLLMANN, R.; TÔRRES, N.M.; FURTADO, M.M. & MARINHO-FILHO, J., 2009. Density of the near threatened jaguar *Panthera onca* in the Caatinga of north-eastern Brazil. *Oryx*, 44: 104–109.

SILVER, S.C.; OSTRO, L.E.T.; MARSH, L.K.; MAFFEI, L.; NOSS, A.J.; KELLY, M.J.; WALLACE, R.B.; GÓMEZ, H. & AYALA, G. 2004. The use of camera traps for estimating jaguar (*Panthera onca*) abundance and density using capture/recapture analysis. *Oryx*, 38: 1-7.

SOARES, T.N.; TELLES, M.P.C.; RESENDE, L.V.; SILVEIRA, L.; JÁCOMO, A.T.A.; MORATO, R.G.; DINIZ-FILHO, J.A.F.; EIZIRIK, E.; BRONDANI, R.P.V. & BRONDANI, C. 2006. Paternity testing and behavioral ecology: a case study of jaguars (*Panthera onca*) in Emas National Park, Central Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 735-740.

SOISALO, M.K. & CAVALCANTI, S.M.C. 2006. Estimating the density of jaguar population in the Brazilian Pantanal using camera-traps and capture-recapture sampling in combination with GPS radio-telemetry. *Biological Conservation*, 129: 487-496.

SOLLMANN, R.; FURTADO, M.M.; GARDNER, B.; HOFER, H.; JACOMO, A.T.A.; TÔRRES, N.M. & SILVEIRA, L. 2011. Improving density estimates for elusive carnivores: Accounting for sex-specific detection and movements using spatial capture–recapture models for jaguars in central Brazil. *Biological Conservation*, 144: 1017-1024.

SOLLMANN, R.; FURTADO, M.M.; HOFER, H.; JACOMO, A.T.A.; TÔRRES, N.M. & SILVEIRA, L. 2012. Using occupancy models to investigate space partitioning between

two sympatric large predators, the jaguar and puma in central Brazil. *Mammalian Biology*, 77: 41-46.

SRBEK-ARAUJO, A.C. & CHIARELLO, A.G. 2005. Is camera-trapping an efficient method for surveying mammals in Neotropical forests? A case study in south-eastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 21:121-125.

STANLEY, T.R. & BURNHAM, K.P. 1999. A closure test for time-specific capture–recapture data. *Environmental and Ecological Statistics*, 6: 197–209.

STANLEY, T.R. & RICHARDS, J.D. 2005. Software review: a program for testing capture-recapture data for closure. *Wildlife Society Bulletin*, 33: 782-785.

TÔRRES, N.M.; DE MARCO JR, P.; DINIZ FILHO, J.A.F. & SILVEIRA, L. 2008. Jaguar Distribution in Brazil: Past, Present and Future. *Cat News Special Issue*, 4: 4-8.

UTIDA, S. 1957. Population fluctuation, an experimental and theoretical approach. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, 22: 139–151.

WALLACE, R.B.; GOMEZ, H.; AYALA, G. & ESPINOZA, F. 2003. Camera trapping for jaguar (*Panthera onca*) in the Tuichi Valley, Bolivia. *Mastozoologia Neotropical / Journal of Tropical Mammalogy*, 10: 133-139.

WECKEL, M., GIULIANO, W. & SILVER, S. 2006. Jaguar (*Panthera onca*) feeding ecology: distribution of predator and prey through time and space. *Journal of Zoology*, 270: 25-30.

WHITE, G.C.; ANDERSON, D.R.; BURNHAM, K.P. & OTIS, D.L. 1982. Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations. Los Alamos: Los Alamos National Laboratory Rep. LA-8787-NERP.

WHITE, G.C. & BURNHAM, K.P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study*, 46 Supplement: 120-138.

WHITE, G.C. & GARROTT, R.A., 1990. Analysis of wildlife radio-tracking data. New York: Academic Press.

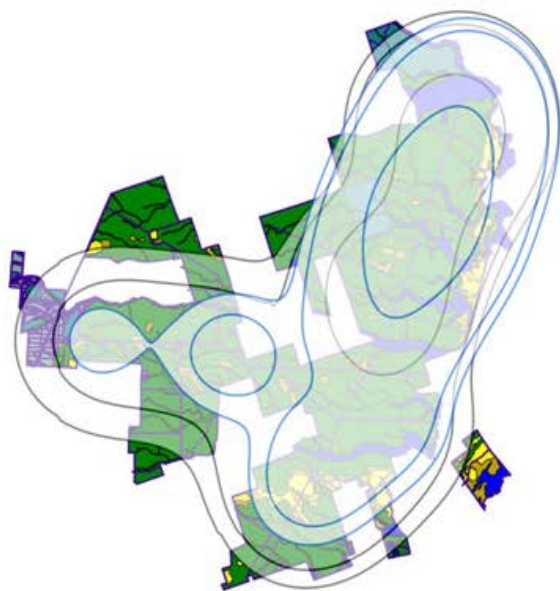
WOLFF, J.O. 1997. Population regulation in mammals: an evolutionary perspective. *Journal of Animal Ecology*, 66: 1-13.

ZAR, J.H. 1996. Biostatistical analysis. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall International.

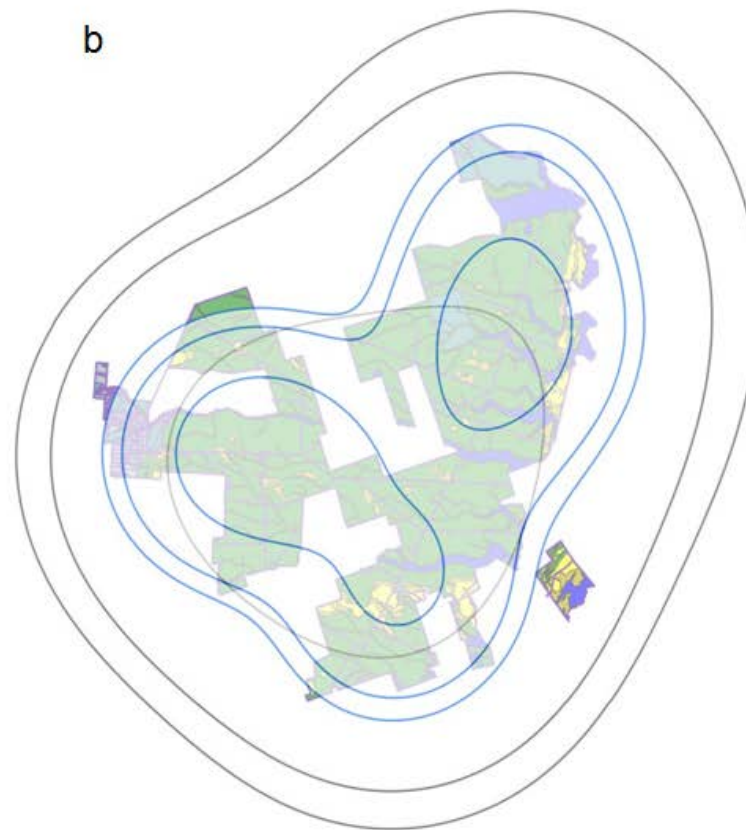
ZELLER, K.A. 2007. Jaguars in the new millennium data set update: the state of the jaguar in 2006. New York: Wildlife Conservation Society.

Anexo 1: Comparação de áreas de vida geradas para onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas, considerando os estimadores Kernel Fixo (linha azul) e Kernel Adaptive (linha cinza): a. VDR, b. Po05.

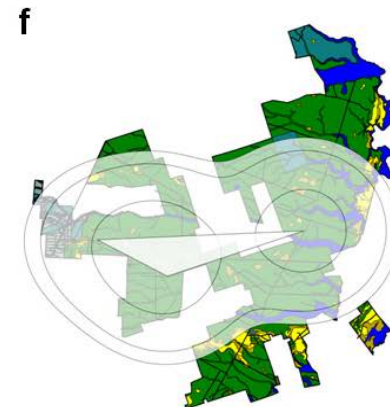
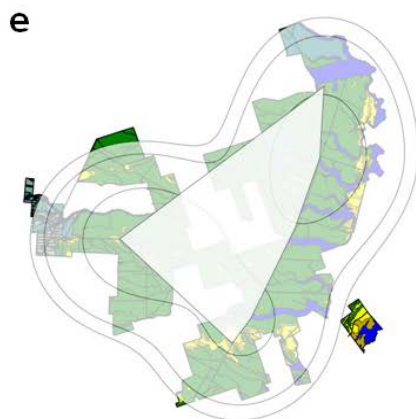
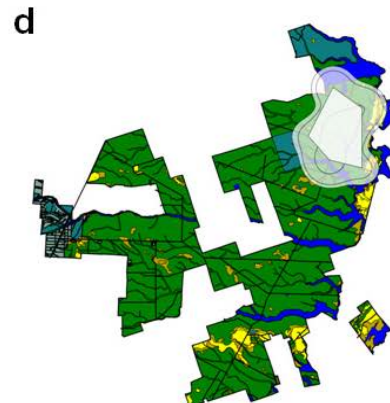
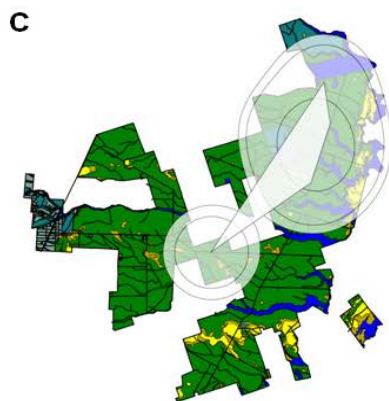
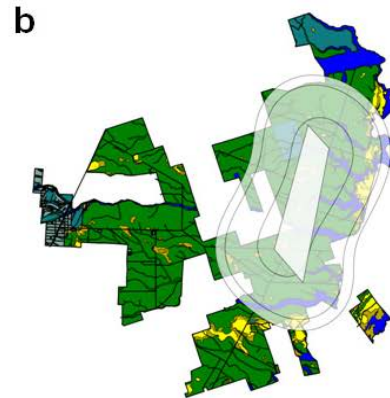
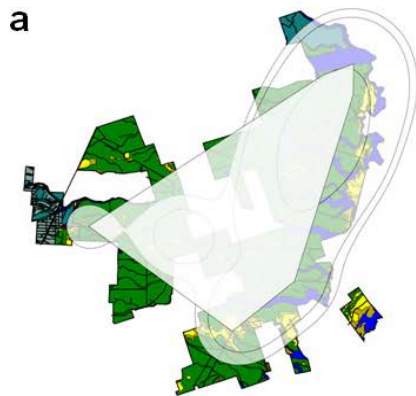
a



b



Anexo 2: Comparação de áreas de vida geradas para onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), a partir de dados obtidos por armadilhas fotográficas, considerando os estimadores Kernel Fixo (área com transparência 40%) e Mínimo Polígono Convexo (área com transparência 30%): a. VDR, b. CMP; c. FLS, d. TCB, e. Po05, f. Po07.



Diversidade genética de uma pequena e isolada população de onças-pintadas (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) em remanescente de Mata Atlântica costeira no sudeste do Brasil

Artigo em preparação para submissão à revista *Conservation Genetics*

Título original: *Genetic Diversity of a small and isolated population of jaguars (Panthera onca Linnaeus, 1758) in a Coastal Atlantic Forest remnant in Southeastern Brazil*

Ana Carolina Srbek-Araujo, Taiana Haag, Adriano Garcia Chiarello & Eduardo Eizirik

Genetic Diversity of a small and isolated population of jaguars (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) in a Coastal Atlantic Forest remnant in Southeastern Brazil

Ana Carolina Srbek-Araujo^{1,2}, Taiana Haag³, Adriano Garcia Chiarello⁴ & Eduardo Eizirik³

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - Avenida Antônio Carlos, n° 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais - CEP 31270-901, Brazil. Email: srbekaraujo@hotmail.com

² Vale S.A. / Reserva Natura Vale - Caixa Postal n° 91, Centro, Linhares, Espírito Santo – CEP 29900-970, Brazil.

³ Laboratório de Biologia Genômica e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - Avenida Ipiranga, n° 6681, Porto Alegre, Rio Grande do Sul - CEP 90619-900, Brazil. Email: taiana.haag@pucri.br; eduardo.eizirik@pucri.br

⁴ Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - Avenida dos Bandeirantes, n° 3900, Ribeirão Preto, São Paulo - CEP 14040-901, Brazil. Email: bradypus@ffclrp.usp.br

Abstract The human economic activities induces a continuous process of loss and degradation of natural habitats, culminating in irreversible losses and stochastic processes that lead to loss of genetic diversity and instability in the breeding structure of populations. Many carnivore species, particularly felids, are sensitive to land use changes and may disappear in landscapes with reducing amount of habitat and increasing of isolation. Jaguar is highly affected by these factors and is mainly in danger in Atlantic Forest, one of the most threatened biomes in the world. In the present study we investigated the genetic diversity of jaguars in Reserva Natural Vale, a large protected area in coastal region from southeastern Brazil, and compared the results with data available for other populations in Atlantic Forest. The target population is the very last

in Espírito Santo state and one of the last jaguar populations in the entire biome. The genetic analyses were performed from a noninvasive method of obtaining DNA (faecal samples) and 11 microsatellite loci were used. The genetic loss and population reduction recorded for the population studied ($H_o = 0.621$, $H_e = 0.532$, $AR = 3.195$, $N_e = 7.9$ individuals) are compatible to the values reported for other jaguar populations, and may represent the expected scenario for other Atlantic Forest populations of jaguars. Despite the low degree of genetic diversity observed in RNV, the existence of unique alleles reinforces the importance of this population to maintain the genetic diversity of jaguars in the Atlantic Forest as a whole. Our results demonstrate the urgent need to define coordinated management actions for the species in the entire biome and we propose the implementation of an integrated management intervention based on genetic rescue to remnant jaguar populations in Atlantic Forest.

Keywords Carnivora, Conservation, Faecal DNA, Felidae, Noninvasive Sampling.

Introduction

The Earth currently faces a continuous process of loss and degradation of natural habitats, especially due to the expansion and opening of new areas for human economic activities. This process culminates in the reduction of local diversity and, in some cases, in irreversible losses related to habitat destruction and species extinction (Wilson 1988). In this context, scenarios of changes in biodiversity at a global scale for the year 2100 demonstrate that modifications in land use will probably be the most severe driver of changes in biodiversity (Sala et al. 2000).

Land use changes may induce disturbances such as habitat loss, isolation, sub-division or degradation, often leading to changes in the biology and behavior of many species. These changes may include the disruption of dispersal, alteration of home ranges and modifications of breeding patterns. In addition, there may also be changes in the interactions among species, such as competition, predation, parasitism and mutualism (Fisher & Lindenmayer 2007). Furthermore, the species may be affected also by stochastic processes related to the species' life cycle (demographic and genetic stochasticity) and environmental viability (Fisher & Lindenmayer 2007).

When populations become smaller, there are increases in the occurrence of interactions between stochastic processes that lead to loss of genetic diversity (*e.g.* genetic drift and inbreeding depression) and instability in the breeding structure (unstable age distribution, sex ratio imbalances and disrupted social systems) (Lacy 2000). These interactions can be more dangerous than isolated factors, leading to a decrease of population growth and stability (Lacy 2000). Some species are at greater risk in fragmented landscapes than others and the sensitivity of species to fragmentation and habitat loss is predicted by many demographic and ecologic factors: population size, population fluctuation and storage effect, dispersal power, reproductive potential, annual survival / longevity, sociality, body size, trophic position, ecological specialization, microhabitat use and specialization, presence in matrix, competitive ability, disturbance sensitivity, rarity, and biogeographic history (Henle et al. 2004). Many carnivore species, particularly felids, possesses several of these characteristics, demonstrating the

susceptibility of these species to disappear in landscapes with reduced amount of habitat and increased isolation (Gittleman et al. 2001).

The jaguar (*Panthera onca*) is the largest felid of the Americas. Its historical distribution extends from southwestern United States to southern Argentina (Seymour 1989) but currently may be considered extinct in some parts of the original range (Sanderson et al. 2002). The species is restricted to less than 46% of its historical range and the current area is broken into 48 separate regions (Sanderson et al. 2002). In Brazil, the most significant populations can be found in Pantanal and in Amazon Basin (Silveira & Crawshaw Jr 2008) and the Atlantic Forest is one of the parts of the range where the species is more endangered (Sanderson et al. 2002). In this biome, jaguars strongly prefer less disturbed forest remnants and use dense and open marshland (Cullen Jr 2006). The riparian vegetation is important as potential dispersal corridors, but the species avoid the use of areas dominated by antropic activities, such as pasture and agriculture (Cullen Jr 2006). The current presence of jaguar was confirmed in eight regions / locations in Atlantic Forest and the subpopulations are declining (Beisiegel et al. 2012). The total jaguar population throughout the biome is no greater than 156-180 mature individuals and less than 50 mature individuals are present in almost all remnant locations (Beisiegel et al. 2012).

The Atlantic Forest is one of the most threatened biomes in the world and it is considered one of the 34 Hotspots of Biodiversity in the planet (Mittermeier et al. 2004). It once extended almost continuously from a narrow coastal strip in the northeastern Brazil to the south of the country, including interior forests on southeastern and west regions. The Atlantic Forest also extends into eastern Paraguay, extreme northern Argentina (Misiones) and narrowly along the coast into Uruguay (Mittermeier et al. 2004). The remaining habitat ranges from 11 to 16% of its original extent, including intermediate secondary forests and small fragments (< 100 ha) (Ribeiro et al. 2009). About 61% of the Brazilian population currently lives within the Atlantic Forest range (FSOSMA & INPE 2009).

In the present study we investigated the genetic diversity of jaguar population from a Coastal Atlantic Forest remnant in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil, and

compared the results with data available for other populations in the biome, aiming to contribute to the definition of management actions for jaguar conservation. Our evaluation represents the first genetic study for the species in the Brazilian coastal region and the target population is the very last in the state of Espírito Santo and one of the last jaguar populations in the entire Atlantic Forest.

Methods

Study area

We studied the jaguar (*Panthera onca*) in the Reserva Natural Vale (RNV; Vale Natural Reserve), located 30 km north of the Doce River between the municipalities of Linhares (which houses most of the reserve) and Jaguaré, in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil (19°06' S, 39°45' W and 19°18' S, 40°19' W) (Figure 1). The RNV is a private protected area with ~23,000 ha and is adjacent to Reserva Biológica de Sooretama (RBS; Sooretama Biological Reserve), a federal protected area spanning 24,250 ha. These reserves together comprise a relatively large block of native vegetation, crossed by the BR-101 highway, and represent one of the most important forest fragments in Espírito Santo state, encompassing more than 9% of the remaining forest in the state (FSOSMAtlântica & INPE 2011). RNV was formed by a gradual process of land acquisition, initiated in 1955. It reached its current limits in the early 1970s and was officially designated as a protected area in 1978. The RBS was created in 1982 and was formed by merging two pre-existing public protected areas. The reserves are within the Central Corridor of the Atlantic Forest, which is considered one of the most important areas for Atlantic Forest conservation in Brazil (Ministério do Meio Ambiente et al. 2000) and are part of the Discovery Coast World Heritage Site, as defined by UNESCO in 1999.

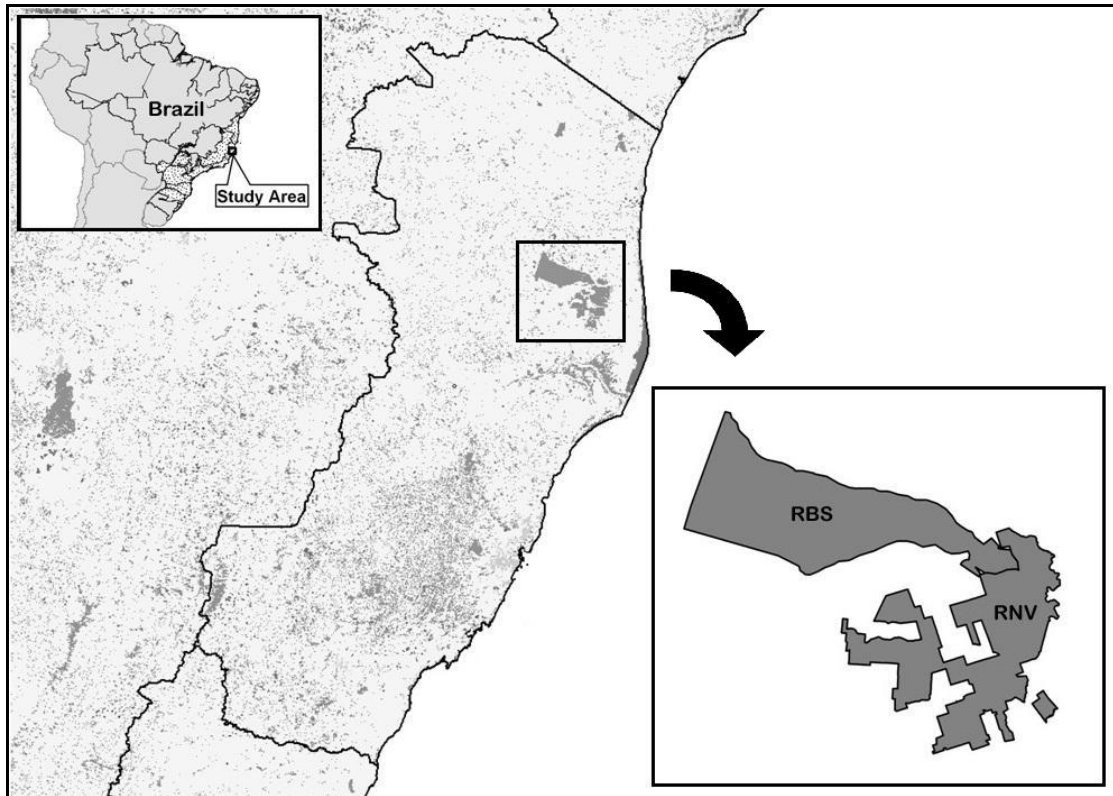


Fig. 1 Location of Reserva Natural Vale (RNV) in Espírito Santo state, southeastern Brazil, and in Atlantic Forest biome (spotted area) (upper inset). The background image shows Atlantic Forest remains (dark grey spots) in Espírito Santo state and in surrounding areas (Modified from FSOSMA 2011) and indicates the location of RNV and Reseerva Biológica de Sooretama (RBS). The detail of RNV and RBS limits are also shown (lower inset).

The climate at RNV is tropical hot and humid (Awi, following Köppen system), with rainy summers (October to March) and dry winters (April to September) (Jesus & Rolim 2005). The average annual temperature is 23.3°C (14.8 and 34.2°C as average minimum and maximum, respectively). Average annual rainfall is 1,202 mm, characterized by a high variability between years (Jesus & Rolim 2005).

The topography in RNV is relatively flat with elevation ranging from 28 to 65 m above sea level (Jesus & Rolim 2005). Most of the reserve area is covered by “Tabuleiro” Forest (lowland dense rainforest located on flat terrain) classified as perennial seasonal forest (Jesus &

Rolim 2005). In addition to “Tabuleiro” forests, a local forest vegetation type placed on sandy soils (called “Mussununga”) and occasional grasslands (called “Nativo”) are also present.

RNV has an internal system of unpaved roads (126 km in total length). These are *ca.* 4 m wide and were built decades ago to allow the access to all parts of the reserve by internal staff and authorized researchers only. The perimeter of the RNV is irregularly shaped (see Figure 1) and is surrounded mostly by pastures and crops, especially fruit and coffee cultivation (Jesus & Rolim 2005). In recent years, particularly after 2007, there has been an increment of *Eucalyptus* plantations surrounding the reserve.

The current situation surrounding the RNV is consequence of the process of occupation of the region and, indeed, the beginning of the process of isolating of the block of native vegetation that meets the RNV and RBS is very old. The Linhares village was founded in 1800 in order to make surveillance of gold trafficking and protection of navigation on Doce River. Originally it occupied the area that today corresponds to Linhares city and its neighboring municipalities. The forest that covered the entire region began to be devastated at this time and over a century gave way to settlements, grazing and agriculture. In 1930, the work to opening the BR-101 highway started, linking the southern and northern portions of the state. It hastened the destruction of the original vegetation. In the 1960s, Linhares already stood out in timber production and the forests were gradually decimated by logging and replaced by pastures and plantations of sugarcane, coffee, papaya and eucalyptus. These activities promoted the gradual process of RNV and RBS isolation until recent years.

Today approximately 21% of the territory of the municipalities surrounding RNV and RBS correspond to remnants of native vegetation (FSOSMA & INPE 2011). The RNV and RBS represent almost 43% of this remnant area, while the other 57% are distributed in two protected areas located in south of the Doce River (together encompassing 2,257 ha) and small size fragments scattered in the landscape (see Figure 1). Other parts of the state are composed by small and isolated fragments and the largest remnants are located in mid-south and southwest regions. These coincide with mountainous formations, as the reserves in Santa Teresa municipality (the largest protected area has ~3,560 ha) and Caparaó region (a protected area

with 31,763 ha). Unfortunately, however, there have been no records of jaguars in these regions in the last couple of decades.

Sample collection

The genetic analyses were performed using a noninvasive method of obtaining DNA, using faecal samples. Faecal samples were collected from November 2006 to October 2008 (24 months) along internal roads within the RNV, which were traveled by two observers riding bicycles. The bicycles were equipped with cycle computers (log search time, distance traveled and average speed) and racks for transporting samples and equipment. A total 1,551 km of internal roads were traveled in the RNV during the sampling period. In addition, faecal samples were collected opportunistically during other research activities conducted in the reserve, such as data collection for a camera trap study.

All faecal samples of felids encountered in the field were collected, regardless of size, considering the morphological potential overlap between the scats of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*), as well as from the scats of these species and ocelot (*Leopardus pardalis*) (Farrell et al. 2000, Haag et al. 2009, Miotto et al. 2007). Fresh faeces (shiny and damp surface; strong odor) and recent samples (opaque surface, but no signs of damage or removal of the outer surface) were collected for genetic purposes. Older faeces that had a kind of pellicle covering parts of the sample were also collected. The coordinates of all samples (collection points) were recorded with a Global Position System (GPS).

One slice with the surface and internal part of each faecal sample (and the pellicle when present) was collected. We preferentially removed the portion of the faeces with less exposition to the environment and without contact with the ground. The slice was subdivided into two parts and each one was placed in a 50 ml plastic tube. Two distinct methods of scat preservation were used: immersion in a solution of DMSO (Dimethylsulfoxide) / EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid) / Tris / Salt Solution (DETS; Seutin et al. 1991) and desiccation on silica gel (4 g silica / g faeces ratio) (Wasser et al. 1997). The samples were kept

frozen in the RNV's field laboratory for approximately 12 months and subsequently were shipped to the PUCRS Laboratory of Genomics and Molecular Biology for analysis. All samples were stored at -20°C prior to DNA extraction.

Laboratory procedures

Faecal DNA Extractions were performed with the QIAamp DNA StoolMini Kit (QIAGEN), following the manufacturers' instructions. Each batch of extractions (n=10) included one negative extraction control to check the occurrence of contamination with exogenous DNA. The extraction procedures were carried out in a separate laboratory area dedicated to the analysis of DNA from noninvasive samples.

To assign species to each scat we employed an assay that targets a short segment of the mitochondrial DNA (mtDNA) *ATP synthase subunit 6 (ATP6)* gene. This assay was successfully used in previous studies with felids and other carnivores (Chaves et al. 2012, Haag et al. 2009, 2010). The reverse primer ATP6-DR1, originally reported by Trigo et al. (2008), and the forward primers ATP6-DF2 and ATP6-DF3, designed by Haag et al. (2009), were employed throughout this study. In most cases ATP6-DF2 was used, and its performance was similar for the surveyed species to that of ATP6-DF3 (which was subsequently found to work more broadly across carnivores [Chaves et al. 2012]).

Polymerase chain reactions (PCR) for the *ATP6* gene followed the protocols described by Haag et al. (2009). PCRs were performed in a final volume of 20 ul, containing 1x PCR buffer (Invitrogen), 2.0–2.5 mM MgCl₂, 0.2% Triton X-100, 200 uM dNTPs, 0.2 uM of each primer, 0.5 unit of Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen) and 1–6 ul of empirically diluted template DNA. The reaction profile was: 10 cycles (Touchdown) of 94°C for 45 s, 60–51°C for 45 s, 72°C for 1.5 min, followed by 30 cycles of 94°C for 45 s, 50°C for 45 s, 72°C for 1.5 min, and a final extension at 72°C for 3 min.

PCR products were visualized on a 1% agarose gel stained with GelRed (Biotium), purified with PEG8000, sequenced using the DYEnamic ET Dye Terminator Sequencing Kit

(GE Healthcare), and analyzed in a MegaBACE 1000 automated sequencer (GE Healthcare). PCR products were sequenced for only one strand using the forward primer (as previously reported by Chaves et al. [2012] and Haag et al. [2009]). Sequence electropherograms were edited and analyzed using the software Finch TV Version 1.4.0 (Geospiza, Inc., USA). The *ATP6* gene fragment obtained from each faecal sample was compared with reference sequences available for the six felid species present in the RNV: jaguar (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*), ocelot (*Leopardus pardalis*), margay (*Leopardus wiedii*), oncilla (*Leopardus tigrinus*) and jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) (Chaves et al. 2012, Haag et al. 2010). DNA sequences were aligned with the CLUSTALW algorithm implemented in MEGA 5.1 (Tamura et al. 2011). MEGA was used to identify identical haplotypes, to assess the presence and consistency of diagnostic sites among the species, and to perform phylogenetic analyses.

After the confirmation of the source species, jaguar samples were analyzed in detail using microsatellite markers. Jaguar DNA extracts were screened for 11 microsatellite loci (FCA742, F146, F98, FCA740, FCA723, FCA453, FCA441, FCA391, F124, F85 and F53) originally developed for the domestic cat (Menotti-Raymond et al. 1999, 2005). The 11 loci were selected from the 13 markers used by Haag et al. (2010) on the basis of the amplification success and variability observed in that study. All forward primers were 5'-tailed with an M13 sequence and used in combination with a standardized dye-labeled (6-FAM, HEX or NED) M13 primer (Boutin-Ganache et al. 2001).

The amplification of microsatellite loci followed the protocols described by Haag et al. (2010). PCR reactions were performed in a 10- μ L volume containing 1–3 μ L of empirically diluted faecal DNA, 1x PCR Buffer (Invitrogen), 1.5–2.5 mM MgCl₂, 200 μ M of each dNTP, 0.2 μ M of the reverse and M13-fluorescent primers, 0.0133 μ M of the M13-tailed forward primer, and 0.25 or 0.5 U of Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen). To improve amplification success, we also included one or more PCR additives such as 0.2% Triton X-100, 3% DMSO or 0.5 x PCR enhancer solutions (Invitrogen). In all cases the reaction profile was: 10 cycles (Touchdown) of 94°C for 45 s, 60–51°C for 45 s, and 72°C for 1.5 min, followed by

30 cycles of 94°C for 45 s, 50°C for 45 s, 72°C for 1.5 min and a final extension at 72°C for 30 min.

Microsatellite genotyping was performed using a MegaBACE 1000 automated sequencer, the ET-ROX 550 size standard (GE Healthcare), and the accompanying Genetic Profiler 2.2 software. Negative controls were run for each batch of PCR reactions and also genotyped to monitor the presence of any exogenous DNA. We adopted the multiple-tube approach (Taberlet et al. 1996, 1999) to improve genotyping reliability, and only genotypes that had been sufficiently replicated were considered: heterozygotes were identified by a minimum of two independent scores of each allele, and homozygotes were considered to be correct if the same allele was detected by at least five independent amplifications. Amplification was attempted up to 15 times per locus for each sample, and only sample/locus combinations achieving this pre-specified threshold of reliable genotyping were included in the analyses.

Data analysis

We used the software MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) to identify possible genotypic errors due to stutter peaks, as well as to assess the existence of null alleles and large-allele dropout. After this quality control step, the number of distinct genotypes was determined with the Program GIMLET (Genetic Identification with MultiLocus Tags) version 1.3.3 (Valiere 2002). This program takes into account the probabilities of allelic mis-scoring and null alleles in the construction of consensus genotypes from repeated genotyping. On the basis of these results, samples bearing identical genotypes were considered to represent the same individual (see Results), and only one representative each was included in downstream analyses.

The discriminatory power of our microsatellite data set was assessed using the program GENECLASS version 1.2.1 (Wilberg & Dreher 2004). We calculated the identity probability ($P_{(ID)}$) index using two different approaches, one in which Hardy–Weinberg equilibrium was assumed (HW $P_{(ID)}$), and another considering that the individuals are siblings (Sib $P_{(ID)}$). The

$P_{(ID)}$ represents the probability of two individuals within the population randomly sharing the same genotype for all the analyzed loci (Waits et al. 2001, Wilberg & Dreher 2004) and quantifies the ability of the molecular markers to distinguish among the different genotypes (Perez et al. 2006). The Sib $P_{(ID)}$ is considered to be more conservative and more appropriate for populations composed of closely related individuals (Waits et al. 2001).

We tested for deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) using the procedure described by Guo & Thompson (1992) and implemented in ARLEQUIN 3.11 (Excoffier et al. 2005), with 10,000 dememorization steps. We also used ARLEQUIN to assess linkage disequilibrium (LD) among loci. In both cases, significance levels ($\alpha = 0.05$) were corrected for multiple simultaneous comparisons with the sequential Bonferroni approach (Rice 1989).

We estimated the genetic diversity present in the RNV population by assessing the number of alleles per locus (A), the observed heterozygosity (H_o), and the expected heterozygosity (H_e) under Hardy–Weinberg assumptions (Nei 1978). These estimates were performed using the program CERVUS version 3.0.3 (Marshall et al. 1998). We also used the program FSTAT version 2.9.3.2 (Goudet 2002) to calculate the allelic richness (AR), which is a measure of the observed number of alleles per locus that is independent of sample size (Petit et al. 1998).

Finally, we used the program LDNE version 1.31 (Waples & Do 2008) to estimate the genetically effective population size (N_e) in the RNV. The LD method and the bias correction, as proposed by Waples (2006), were used. We used the critical values (P_{crit}) of 0.05 as criteria for excluding rare alleles. The jackknife method was used to obtain a random mating model.

The data obtained to jaguars in RNV was compared with data available for other populations in Atlantic Forest, all located at Upper Paraná Atlantic Forest (UPAF) ecoregion, southwestern region of Brazil. The genetic diversity of jaguars populations from UPAF were studied by Haag et al. (2010). The single sample T-test was performed to evaluate differences between values for each population.

Results

We collected 32 faecal samples from RNV for genetic analyses - 16 were collected during bicycle expeditions and further 16 samples were collected opportunistically. We obtained amplification products of mitochondrial ATP6 gene from 27 scats (84.38%) and 19 of these (70.37%) belonging to jaguar (*Panthera onca*) (Figure 2). Other faecal samples were identified as puma (*Puma concolor*; n=3), ocelot (*Leopardus pardalis*; n=4) and oncilla (*Leopardus tigrinus*; n=1).

The microsatellite loci successfully amplified 15 jaguar faecal samples. We identified 11 groups of genotypes: one genotype was represented by three scats, two genotypes were represented by two faecal samples each, and the other eight genotypes were found only in a single scat (Figure 2). The HW $P_{(ID)}$ was 9.77725E-07 and the Sib $P_{(ID)}$ was 0.001855679.

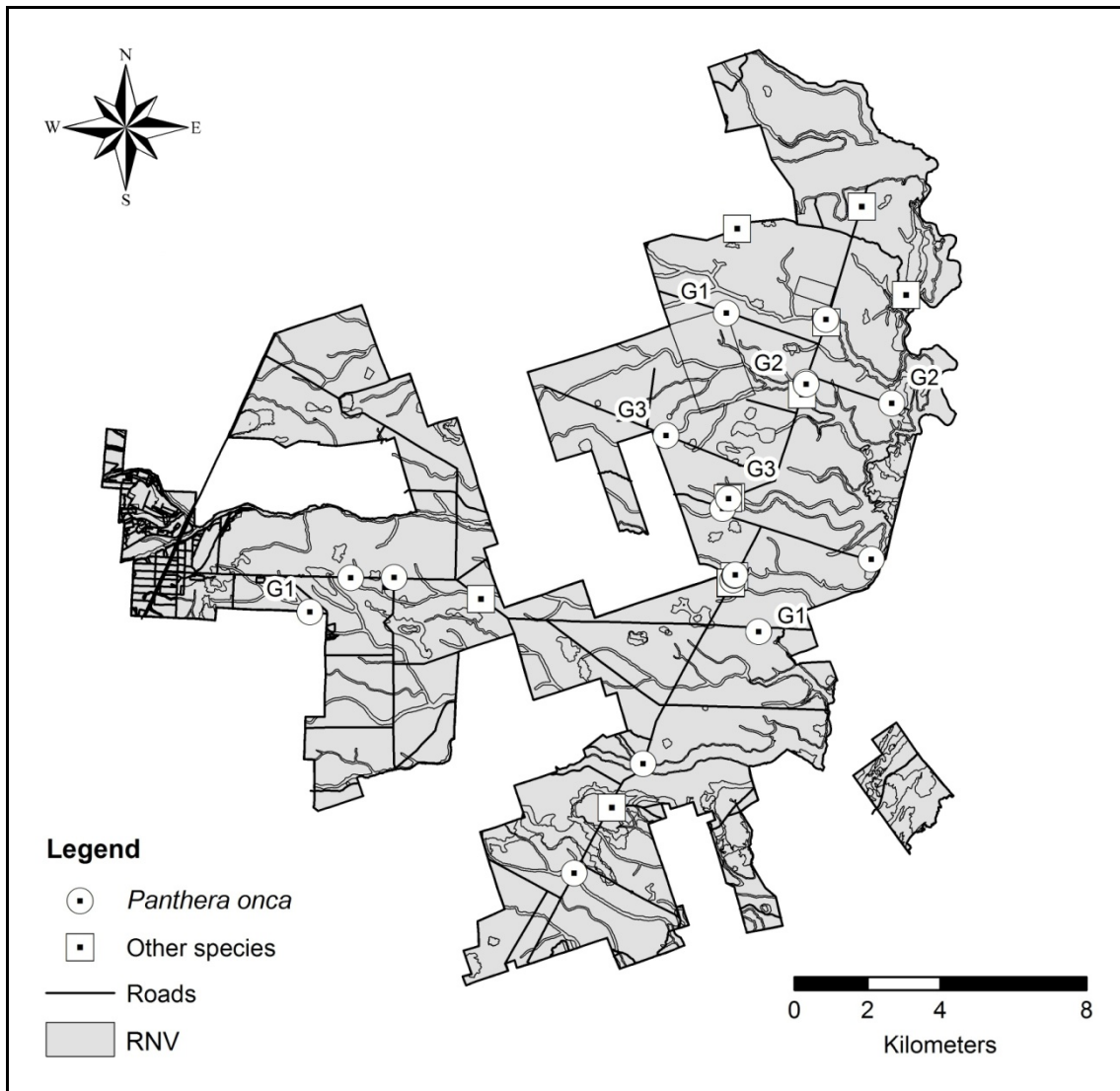


Fig. 2 Location of faecal samples with DNA confirmation of species source in Reserva Natural Vale (RNV). Jaguar genotypes ‘captured’ in more than one sample are indicated by codes “G1”, “G2” and “G3”.

No evidences for null alleles, large-allele dropout, or stutter peaks influencing the data set were revealed. Likewise, no evidence for deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) was found and all the pairwise locus combinations were in linkage equilibrium after Bonferroni correction ($\alpha = 0.05$; 55 comparisons).

Jaguars from RNV showed a mean observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity of 0.621 and 0.532, respectively. The mean allelic richness (AR) was 3.195. The number of alleles

per locus ranged from 1 to 5 alleles, with a mean of 3.455. The results obtained for each microsatellite locus are given in Table 1.

Table 1 Measures of diversity at 11 microsatellite loci in jaguar population of Reserva Natural Vale. Sample size (N), observed number of alleles (A), allelic richness (AR), observed heterozygosities (Ho), expected heterozygosities (He) and alleles identified (AId).

Locus	N	A	AR	Ho	He	AId
FCA742	10	5	4.539	0.900	0.668	154, 156, 158, 162, 170
FCA723	10	4	3.400	0.200	0.537	212, 232, 236, 240
FCA740	7	2	2.000	0.571	0.527	308, 312
FCA441	11	4	3.600	0.818	0.675	161, 165, 169, 177
FCA391	11	5	4.234	0.818	0.658	215, 219, 223, 235, 239
F98	11	3	2.600	0.364	0.325	189, 192, 198
F53	11	5	4.505	0.909	0.749	156, 164, 172, 176, 188
F124	10	3	2.982	0.800	0.647	211, 215, 219
F85	10	3	2.921	0.900	0.616	147, 151, 155
FCA453	9	3	2.777	0.556	0.451	192, 216, 244
F146	11	1	1.000	0.000	0.000	173

One locus (F146) was monomorphic in the RNV population. Unique alleles in RNV, according to data available for UPAF ecoregion, could be observed in three microsatellite loci:

FCA441 (allele 161), F53 (alleles 156 and 172) and FCA453 (allele 244), with a total of four unique alleles.

The genetically effective jaguar population size (N_e) in RNV was estimated in 7.9 individuals.

Discussion

The jaguar population in RNV has been subject to continuous monitoring with camera traps since June 2005 and nine individuals have been recorded in RNV thus far (A.C. Srбек-Araujo, unpublished data). The faecal samples collected in RNV were grouped into 11 genotypes, indicating that the population of jaguars present in this area is greater than the number recorded by camera traps. The genetic result is supported by the lack of photographic records of pups, despite the evidences of reproductive encounters between males and females, and low number and frequency of records of juveniles in RNV (A.C. Srбек-Araujo, unpublished data). These data indicate that more individuals may be present in the area. Furthermore, the probability of identity indices ($P_{(ID)}$) for the RNV data set demonstrated that our microsatellite data had considerable power to discriminate among individuals (Waits et al. 2001). Additionally, the species has not been systematically investigated in RBS and only a single specimen was photographed in this reserve in 2011 (A.C. Srбек-Araujo, unpublished data). For sure there are more individuals in this reserve and some specimens may move between both areas. Assuming that each unique genotype identified represents a single individual, we infer that jaguar population in RNV is composed by a minimum of 11 individuals. The use of faecal DNA analysis to determine minimum population estimates for carnivores have been applied in other studies (Miotto et al. 2007, Perez et al., 2006, Prugh et al. 2005, Wasser et al. 1997).

The jaguar population from RNV demonstrates a low degree of genetic diversity when compared to UPAF as a whole and with each population from this ecoregion separately, except at Morro do Diabo Park for both mean H_o (0.548) and H_e (0.497), and in the Green Corridor for mean H_o (0.607) (Haag et al. 2010). These values are, however, very similar between each other

and the difference is not statistically significant. The same was observed at Ivinhema Park and UPAF global population for mean H_o (0.680 and 0.682, respectively). The mean allelic richness in RNV is similar to Morro do Diabo (3.2), but the value for each allele is higher than in Morro do Diabo for five alleles and for only one allele at Ivinhema. Other alleles in RNV have lower or similar richness values than the observed in other areas. However, Haag et al. (2010) analyzed biological samples obtained between 1992 and 2007 in four study sites, including material from dead animals (pelts from Green Corridor and Ivinhema) and samples from an extirpated habitat and essentially extinct population (area affected by Porto Primavera dam). Considering the time of sample set (obtained in a range of 15 years) and the potential reduction of local populations, it is likely that the current genetic diversity of jaguars in UPAF ecoregion might be actually lower than the recorded by Haag et al. (2010). For this reason, it is recommended to perform newer analyses including only recent biologic samples for that region.

Morro do Diabo Park (37,000 ha) and the large block composed by RNV and RBS (> 47,000 ha) are the smallest Atlantic Forest sites where genetic data have been analyzed for jaguar thus far. Both areas showed reduction of genetic variability and fixed alleles in at least one microsatellite locus each, presenting the lowest known genetically effective jaguar populations size (Haag et al. 2010 and present study) and the lowest levels of genetic diversity reported for jaguars (Eizirik et al. 2001, Eizirik et al. 2008, Ruiz-Garcia et al. 2006). We consider that these comparative analyses are valid despite of two microsatellite loci analyzed by Haag et al. (2010) were not used in present study and in spite of methodological differences between these and other cited studies.

In felines, the extreme lack of genetic diversity was first reported for south African cheetah (*Acinonyx jubatus jubatus*) and it seems to affect negatively the reproductive function and long-term survival of individuals (O'Brien et al. 1983). Low rates of genetic variation were also detected for the east-central African subspecies (*A. jubatus raineyi*) whose loss of genetic diversity was attributed to bottlenecks events that leading to modern populations (O'Brien et al. 1987). According to O'Brien et al. (1987), the geographic separation of subspecies (within the XX century) was the second major genetic purges and bottleneck or chance-driven founder

effect, followed by inbreeding, may have caused the severe loss of genetic diversity in cheetahs (O'Brien et al. 1987). The loss of genetic diversity may have been intensified by excessive overhunting by farmers (driven by retaliation) or by poaching for the skin trade, and these threats have reduced the cheetah populations considerably (O'Brien et al. 1987). More recently, Perez et al. (2006) indicated that the long duration of the population's isolation, the small population size and the high inbreeding rate are the reasons for the alarmingly low genetic variability detected for Arabian leopards (*Panthera pardus nimr*) in Israel. For jaguars in Brazil, Haag et al. (2010) described that isolation and small population size were sufficiently strong in UPAF ecoregion to promote differentiation induced by genetic drift, resulting in loss of genetic diversity and rapid genetic differentiation between populations. For these authors, genetic drift was probably the primary force of differentiation between Green Corridor and Porto Primavera populations, but it could not be explained solely by geographical distances among areas (Haag et al. 2010). There is no doubt that these problems are common threats for other remaining populations of jaguars in Atlantic Forest as a whole, and may be present at different proportions and degrees of severity.

Small and isolated populations are susceptible to negative effects of environmental, demographic and genetic stochasticity, becoming more vulnerable to extinction (Gilpin & Soulé, 1986). The increase of demographic fluctuations in small population lead to loss of genetic variation and accumulation of inbreeding and these processes can occur in a shorter time than suggested before (Lacy 2000), impacting population viability on great extent, more quickly, and less reversibly than previously supposed (Lacy 1997). The inbreeding depression is not necessarily the primary cause of extinction, but it can be critical depending on survival, sex ratio, fecundity and growth rate of species (Mills & Smouse 1994), negatively affecting the fitness of individuals (Keller & Waller 2002). The genetic drift is another critical genetic problem affecting the viability of small populations (Lacy 1997) and the number of interacting stochastic processes which can destabilize the population increases as populations become smaller (Lacy 2000).

Unique alleles were observed for all populations in UPAF ecoregion, except for Morro do Diabo Park, the smallest studied area. The largest and most distant fragment in UPAF possesses 18 private alleles (n=16 considering only the microsatellite loci used in present study; Green Corridor) and the other two areas have only 3 or 2 unique alleles (Porto Primavera population and Ivinhema Park, respectively) (Haag et al. 2010). The presence of private alleles in RNV, compared with the set of alleles mapped to UPAF ecoregion, demonstrates that the loss of alleles does not occur in a similar course between loci in different populations and that small populations can keep important information for regional species conservation. It corroborates the random nature of the loss of genetic variability by genetic drift; and reinforces the need to manage the remaining populations of jaguars as a single conservation unit. On the other hand, Nijhawan (2012) suggested six distinct conservation units for jaguar in Atlantic Forest. Despite the importance of the population present in the block composed by RNV and RBS, which is the last one in entire state of Espírito Santo and probably the most northerly population in the biome (see comments below for details), this area was not included in the approaches presented by Nijhawan (2012), and neither was considered as an important area for the species conservation. In studies with integration of population genetics and landscape ecology approaches (landscape genetics), the operational unit is ideally the individual and, when allele frequencies are available for enough populations, the analyses can be extended to populations as operational units (Manel et al. 2003). The landscape genetics approach can be very useful for jaguar's conservation in the Atlantic Forest, once data for distinct regions of this biome (Haag et al. 2010 and present study) are now available.

The recent removal of habitat in a large-scale (as the flooded ~220.000 ha of Porto Primavera Hydroelectric dam in 1998, for example) limited in a significant level the ability of jaguars to effectively disperse across the human dominated landscape in UPAF ecoregion (Haag et al. 2010). And if the dispersion is very limited (or currently non-existent) within UPAF ecoregion, the effective movement of individuals between areas with current presence of jaguars in other Atlantic Forest regions is improbable. Although the species has good dispersal ability (Quigley & Crawshaw 2002), it showed avoidance of human dominated areas (Cullen Jr 2006)

and all remaining populations of jaguars in Atlantic Forest are immersed in altered landscapes (Figure 3). These inferences corroborate Beisiegel et al. (2012) in considering that the remaining subpopulations in Atlantic Forest are isolated from one another. However, we believe that not all of the eight areas suggested by Beisiegel et al. (2012) maintain resident populations (some of them may represent records of transient or dispersant individuals trying to establish territory) and that some groups of animals within these regions are already isolated and genetically differentiated, as observed in UPAF by Haag et al. (2010). Jaguars are already divided into three subpopulations in this region (Haag et al. 2010) (Figure 3) and not into two groups as proposed by Beisiegel et al. (2012). Furthermore, we suggest that Espinhaço subpopulation should be better investigated (including genetic data) because the only one record of jaguar in this region (border between Atlantic Forest and Cerrado biomes) may be a dispersant individual coming from jaguar populations from Cerrado areas in central or northeast regions of Minas Gerais state (Figure 3). Similarly, Monte Pascoal/Pau Brasil subpopulation also needs to be confirmed. According Canale et al. (2012), jaguar is virtually extinct across the Atlantic Forest of Bahia.

Regardless of the number of remaining subpopulations, the current situation of jaguar in RNV and UPAF can be expanded to other areas with presence of this species in Atlantic Forest, although the prospect might be even worse in some localities (smaller area and / or smaller population size). It highlighting the urgency to establish management actions coordinated and integrated for jaguar in the biome as a whole.



Fig. 3 Areas with current presence of jaguars according Beisiegel et al. (2012), with adaptations based on Haag et al. (2010): 1 – Parque Nacional do Iguaçu and Parque Estadual do Turvo; 2 – Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema (Ivinhema Park); 3 – Parque Estadual Morro do Diabo (Morro do Diabo Park); 4 – Serra do Mar region; 5 - Parque Estadual do Rio Doce (Rio Doce Park); 6 – Serra da Mantiqueira region; 7 – Serra do Espinhaço region; 8 – RNV and RBS region; 9 – Parque Nacional do Monte Pascoal and Parque Nacional do Pau-Brasil region. The original cover of Atlantic Forest is represented by the white area (background image) and the Atlantic Forest remains are the dark grey spots (background image and insertions). Background image and insertions modified from FSOSMA (2011).

Large carnivores require large areas for their persistence and long-term viability, including the maintenance of available communities of prey species (Gittleman et al. 2001). If the effective population size required to retain the evolutionary potential of endangered species (avoid inbreeding and loss of genetic variation) range from 500 to 5,000 individuals (Franklin &

Frankham 1998), how large must be the Atlantic Forest remnants to the maintenance of viable jaguar populations? Whereas in Atlantic Forest this scenario is not possible (fragmented landscape with high human interference and use), the conservation of remaining populations is crucial for maintenance of the species in the biome.

The management of individuals seems to be one of the best options to maintain the remaining populations and the translocation of one or more individuals between genetically compatible populations may work as a genetic rescue (rescue effect) in a metapopulation model (Brown & Kodric-Brown 1977, Gotelli 1991). With this strategy, gene flow could be reestablished, reducing inbreeding depression and increasing the mean fitness of a population through the addition of genes from another population (Keller & Waller, 2002). Alternatively, considering that the situation of all jaguar populations in Atlantic Forest is potentially or reportedly critical, some genetically compatible populations in other biomes should be investigated to evaluate their inclusion in this management strategy. However, it is necessary to define carefully the boundaries of the managed population and which groups of animals may be included to prevent outbreeding depression (Templeton et al. 1976). The local adaptations (interacting between the gene complex and the natural environment in which the specimens live) and coadaptations (sets of genes derived from different geographical populations) are the main aspects to be considered (Templeton et al. 1976). The management of jaguars “genetically adapted” to open areas (*e.g.* from Pantanal and Cerrado), for example, may not be successful in the Atlantic Forest sites. These animals might be more willing to use altered areas surrounding RNV (such as pastures, for example), than jaguars adapted to forested areas, potentiating the risk of conflicts with farmers. The artificial insemination of females from Atlantic Forest remaining populations may also be evaluated as an alternative for management of individuals to the species. In this case, semen from specimens capture in the wild or from captive individuals may be used in the fertilization, since the genetic compatibility has been certified. It can be done in wild populations through a process of short term animal capture, ovulation induction, artificial insemination with cryopreserved sperm and reintroduction of pregnant females (Howard & Wildt 2009), eliminating the translocation of individuals between sites. Another

advantage of this approach is allow genetic material to be rederived and infused into managed collections and populations, even years after the death of the original donor (Howard & Wildt 2009), as a genome resource bank for ensuring species integrity and survival (Wildt et al. 1997). However, captive researches are needed to better understand the reproductive physiology of jaguar and to define the procedures and protocols to successfully induce ovulation and to retain post-thaw viability of sperm.

One case of genetic rescue with translocation of individuals was done in mid-1990s, when eight female Florida panther (*Puma concolor coryi*) from Texas were introduced into south Florida hoping to reverse the genetic problems observed in the last population. Data collected before, during and after the management intervention suggested positive fitness gains in hybrid kittens and hybrid adult female, but data for hybrid adult males were not conclusive (Pimm et al. 2006). The translocation of individuals as an attempt to increase the genetic diversity was also proposed for Arabian leopards (Perez et al. 2006). However, genetic rescue with translocation of individuals is not a simple process and there are controversial opinions about its effectiveness and risks (*e.g.* Creel 2006, Tallmon et al. 2004).

Considering the widespread loss of genetic variability (all populations are threatened) and the reduction of available areas for the species in all regions, we propose that the genetic rescue should be performed as an integrated management intervention. For the particular case of RNV, while no data are available for the population of Rio Doce Park, in Minas Gerais state, the closest remnant population (about 250 km away from RNV), the population of Green Corridor could be seen as a potential source of individuals (or sperm) due to the existence of shared alleles between them and unique alleles in both populations, which may contribute to the increase of genetic diversity in both areas. Despite the management of individuals aiming to the genetic supplementation of populations represents a risk strategy, not consisting in a simple procedure, it seems to be one of the last alternatives to conservation of the species in long term in RNV and RBS region and probably in Atlantic Forest as a whole. The present study presents an initial proposal and additional discussions are required to define in detail the scope of the management strategy, as well as complementary studies are need to ensure the compatibility of

populations to be managed. In this sense, it is necessary to study urgently the population of Rio Doce Park, including genetic analysis, as well as other not studied populations in Atlantic Forest and in other biomes.

References

- Beisiegel, B.M., Sana, D.A. & Moraes Jr, E.A. 2012. The jaguar in the Atlantic Forest. *Cat News Special Issue*, 7: 14-18.
- Boutin-Ganache, I., Raposo, M., Raymond, M., Descepper, C.F. 2001. M13-tailed primers improve the readability and usability of microsatellite analyses performed with two different allelesizing methods. *BioTechniques*, 31: 1–3.
- Brown, J.H. & Kodric-Brown, A. 1977. Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration on extinction. *Ecology*, 58: 445-449.
- Canale, G.R., Peres, C.A., Guidorizzi, C.E., Gatto, C.A.F. & Kierulff, M.C.M. 2012. Pervasive Defaunation of Forest Remnants in a Tropical Biodiversity Hotspot. *PLoS ONE*, 7(8): e41671.
- Chaves, P.B., Graeff, V.G., Lion, M.B., Oliveira, L.R. & Eizirik, E. 2012. DNABarcoding meets molecular scatology: short mtDNA sequences for standardized species assignment of carnivore noninvasive samples. *Molecular Ecology Resources*, 12 (1): 18-35.
- Crawford, N.G. 2010. SMOGD: software for the measurement of genetic diversity. *Molecular Ecology Resources*, 10: 556–557.
- Creel, S. 2006. Recovery of the Florida panther - genetic rescue, demographic rescue, or both? Response to Pimm et al. (2006). *Animal Conservation*, 9 (2): 125-126.
- Cullen Jr, L. 2006. Jaguar as landscape detectives for the conservation in the Atlantic Forest of Brazil. Doctoral Thesis. University of Kent, United Kingdom.
- Eizirik, E., Kim, J., Menotti-Raymond, M., Crawshaw Jr, P.G., O'Brien, S.J. & Johnson, W.E. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Molecular Ecology*, 10: 65–79.

- Eizirik, E., Haag, T. & Santos, A.S., Salzano, F.M., Silveira, L., Azevedo, F.C.C. & Furtado, M.M. 2008. Jaguar conservation genetics. *Cat News Special Issue: The Jaguar in Brazil*, 4: 31–34.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47–50.
- Farrell, L.E., Roman, J. & Sunquist, ME. 2000. Dietary separation of sympatric carnivores identified by molecular analysis of scats. *Molecular Ecology*, 9: 1583-1590.
- Fischer, J. & Lindenmayer, D.B. 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography*, 16: 265-280.
- Franklin, I.R. & Frankham, R. 1998. How large must population be to retain evolutionary potential? *Animal Conservation*, 1: 69-73.
- FSOSMA. 2011. Mapas SOS Mata Atlântica. Available online at: <http://mapas.sosma.org.br/> [Accessed: August 22, 2012 and March 15, 2013].
- FSOSMA & INPE. 2009. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2005-2008. Relatório Parcial. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo. 156 p.
- FSOSMA & INPE. 2011. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2008-2010. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo. Available online at: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2008-10_relatorio%20final_versao2_julho2011.pdf [Accessed: August 10, 2012].
- Gittleman, J.L., Funk, S.M., Macdonald, D.W., Wayne, R.K. (Eds). 2001. *Carnivore Conservation*. Cambridge: Cambridge University Press. 690 p.
- Gilpin, M.E. & Soule, M.E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. p: 19-34. In: Soule, M.E. (Ed.). 1986. *Conservation Biology, the Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Gotelli, N.J. 1991. Metapopulation models: the propagule rain, the rescue effect, and the core-satellite hypothesis. *The American Naturalist*, 138: 768-776.

- Goudet, J. 2002. FSTAT: A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices. Lausanne: Institute of Ecology, Switzerland.
- Guo, S. & Thompson, E. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiples alleles. *Biometrics*, 48: 361–372.
- Haag, T., Santos, A.S., Angelo, C., Srbek-Araujo, A.C., Sana, D.A., Morato, R.G., Salzano, F.M. & Eizirik, E. 2009. Development and testing of an optimized method for DNA-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) faecal samples for use in ecological and genetic studies. *Genetica*, 136: 505-512.
- Haag, T., Santos, A.S., Sana, D.A., Morato, R.G., Cullen Jr, L., Crawshaw Jr, P.G., De Angelo, C., Di Bitetti, M.S., Salzano, F.M. & Eizirik, E. 2010. The effect of habitat fragmentation on the genetic structure of a top predator: loss of diversity and high differentiation among remnant populations of Atlantic Forest jaguars (*Panthera onca*). *Molecular Ecology*, 19 (22): 4906-4921.
- Heller, R., Okello, J.B.A. & Siegismund, H. 2010. Can small wildlife conservancies maintain genetically stable populations of large mammals? Evidence for increased genetic drift in geographically restricted populations of Cape buffalo in East Africa. *Molecular Ecology*, 19: 1324–1334.
- Henle, K., Davies, K.F., Kleyer, M., Margules, C. & Settele, J. 2004. Predictors of species sensitivity to fragmentation. *Biodiversity and Conservation*, 13: 207–251.
- Howard, J.G. & Wildt, D.E. 2009. Approaches and efficacy of artificial insemination in felids and mustelids. *Theriogenology*, 71: 130–148.
- Jesus, R.M. & Rolim, S.G. 2005. Fitossociologia da Mata Atlântica de Tabuleiro. *Boletim Técnico da Sociedade de Investigações Florestais* 19: 1-149.
- Jost, L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17: 4015–4026.
- Keller, L.F. & Waller, D.M. 2002, Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, 17 (5): 230–241.

- Lacy, R.C. 1997. Importance of genetic variation to the viability of mammalian populations. *Journal of Mammalogy*, 78: 320–335.
- Lacy, R.C. 2000. Considering threats to the viability of small populations with individual-based models. *Ecological Bulletins*, 48: 39-51.
- Manel, S., Schwartz, M., Luikart, G. & Taberlet, P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 189–197.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B. & Pemberton, J. M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7: 639-655.
- Menotti-Raymond, M.M., David, V.A., Lyons, L.A., Schaffer, A.A., Tomlin, J.F., Hutton, M.K. & O'Brien, S.J. 1999. A genetic linkage map of microsatellites in the domestic cat (*Felis catus*). *Genomics*, 57: 9–23.
- Menotti-Raymond, M.M., David, V.A., Wachter, L.L., Butler, J.M., O'Brien, S.J. 2005. An STR forensic typing system for genetic individualization of domestic cat (*Felis catus*) samples. *Journal Forensic Science Society*, 50: 1061–1070.
- Mills, L.S. & Smouse, P.E. 1994. Demographic consequences of inbreeding in remnant populations. *American Naturalist*, 144: 412-431.
- Ministério do Meio Ambiente, Conservation International do Brasil, Fundação SOS Mata Atlântica, Fundação Biodiversitas, Instituto de Pesquisas Ecológicas, Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo & SEMAD/Instituto Estadual de Florestas-MG. 2000. Avaliação e Ações Prioritárias para a Conservação da Biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. MMA/SBF, Brasília. 40 p.
- Miotto, R.A., Ciocheti, G., Rodrigues, F.P. & Galetti Jr, P.M. 2007. Determination of the minimum population size of pumas (*Puma concolor*) through faecal DNA analysis in two protected cerrado areas in the Brazilian southeast. *Biotropica*, 39: 647-654.

- Mittermeier, R.A., Gil, P.R., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamoreux, J. & Fonseca, G.A.B. 2004. Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Chicago: University of Chicago Press. 392p.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583–590.
- Nijhawan, S. 2012. Conservation units, priority areas and dispersal corridors for jaguars in Brazil. *Cat News Special Issue*, 7: 43-47.
- O'Brien, S.J., Wildt, D.E., Goldman, D., Merrill, C.R. & Bush, M. 1983. The cheetah is depauperate in genetic variation. *Science*, 221: 459–462.
- O'Brien, S.J., Wildt, D. E., Bush, M., Caro, T.M., Fitzgibbon, C., Aggundey, I. & Leakey, R.E. 1987. East African cheetahs: Evidence for two population bottlenecks? *Proceedings of the National Academy of Science*, 84:508-511.
- Perez, I., Geffen, E. & Mokady, O. 2006. Critically Endangered Arabian leopards *Panthera pardus nimr* in Israel: estimating population parameters using molecular scatology. *Oryx*, 40 (3): 295-301.
- Petit, R.J., Mousadik, E.L. & Pons, O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 12: 844–855.
- Pimm, S.L., Dollar, L. & Bass Jr, O.L. 2006. The genetic rescue of the Florida panther. *Animal Conservation*, 9 (2): 115-122.
- Pritchard, J.K., Stephens, P. & Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- Prugh, L.R., Ritland, C.E., Arthur, S.M. & Krebs, C.J. 2005. Monitoring coyote population dynamics by genotyping faeces. *Molecular Ecology*, 14: 1585–1596.
- Quigley, H.B. & Crawshaw Jr, P.G. 2002. Reproducción, crecimiento y dispersion del jaguar en la región del Pantanal de Brasil. P. 289–302. In: Medellín, R.A., Equihua, C., Chetkiewicz, C.B., Crawshaw Jr, P.G., Rabinowitz, A., Redford, K.H., Robinson, J.G., Sanderson, E.W. & Taber, A.B. (Eds). 2002. *El jaguar en el nuevo milenio: una evaluación de su estado, detección de prioridades y recomendaciones para la conservación*

de los jaguares en América. México. D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México and Wildlife Conservation Society.

- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J. & Hirota, M.M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1141-1153.
- Rice, W.R. 1989. Analyzing table of statistical tests. *Evolution*, 43: 223–225.
- Ruiz-Garcia, M., Payán, E., Murillo, A. & Alvarez, D. 2006. DNA microsatellite characterization of the jaguar (*Panthera onca*) in Colombia. *Genes & Genetic Systems*, 81: 115–127.
- Sala, O.E., Chapin III, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770-1774.
- Sanderson, E., Redford, K.H., Chetkiewicz, C., Medellin, R.A., Rabinowitz, A., Robinson, J.G. & Taber, A. 2002. Planning to save a species: the jaguar as a model. *Conservation Biology*, 16 (1): 58-72.
- Seutin, G., White, B.N. & Boag, P.T. 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analysis. *Canadian Journal of Zoology*, 69: 82-90.
- Seymour, K.L. 1989. *Panthera onca*. *Mammalian Species*, 340: 1-9.
- Silveira, L. & Crawshaw Jr, P. 2008. *Panthera onca* Linnaeus, 1758. p. 793-794. In: Machado, A.B.M., Drummond, G.M. & Paglia, A.P. (Eds). 2008. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Volume 2. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. 907 p.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457–462.
- Tallmon, D.A., Luikart, G. & Waples, R.S. 2004. The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. *Trends in Ecology and Evolution*, 19: 489–496.

- Taberlet, P., Griffin, S., & Goossens, B. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research*, 24, 3189–3194.
- Taberlet, P., Waits, L.P. & Luikart, G. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution*, 14: 323–327.
- Templeton, A.R., Hemmer, H., Mace, G., Seal, U.S., Shields, W.M. & Woodruff, D.S. 1986. Local Adaptation, Coadaptation, and Population Boundaries. *Zoo Biology*, 5: 115-125.
- Trigo, T.C., Freitas, T.R., Kunzler, G., Cardoso, L., Silva, J.C., Johnson, W.E., O'Brien, S.J., Bonatto, S.L. & Eizirik, E. 2008. Inter-species hybridization among Neotropical cats of the genus *Leopardus*, and evidence for an introgressive hybrid zone between *L. geoffroyi* and *L. tigrinus* in southern Brazil. *Molecular Ecology*, 17:4317–4333.
- Valiere, N. 2002. GIMLET: a computer program for analyzing genetic individual identification data. *Molecular Ecology Notes*, 2: 377–379.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. & Shipley, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535–538.
- Waits, L.P., Luikart, G. & Taberlet, P. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular Ecology*, 10: 249–256.
- Waples, R.S. 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics*, 7: 167–184.
- Waples, R.S. & Do, C. 2008. LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, 8: 753–756.
- Wasser, S.K., Houston, C.S., Koehler, G.M., Cadd, G.G. & Fain, S.R. 1997. Techniques for application of faecal DNA methods to field studies of Ursids. *Molecular Ecology*, 6: 1091-1097.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358–1370.

- Wilberg, M.J. & Dreher, B.P. 2004. Genecap: a program for analysis of multilocus genotype data for non-invasive sampling and capture-recapture population estimation. *Molecular Ecology Notes*, 4: 783–785.
- Wildt, D.E., Rall, W.F., Critser, J.K., Monfort, S.L. & Seal, U.S. 1997. Genome resource banks living collections for biodiversity conservation. *Bio Sci*, 47: 689–98.
- Wilson, E. O. 1988. *Biodiversity*. National Academy Press, Washington. 521 p.

Parasitas intestinais em uma população silvestre de onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil

Colaboradores: Prof. Doutor Marcos Pezzi Guimarães, Juliana Lúcia Costa Santos, Viviane Medeiros e Hudson Andrade dos Santos - Laboratório de Helminologia Veterinária, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais / UFMG

1. Introdução

As doenças são particularmente relevantes para a conservação de grandes carnívoros, uma vez que muitas espécies ou populações de grandes predadores já se encontram seriamente ameaçadas por outros fatores, tais como: distribuição reduzida, perda de hábitat, superexploração das populações de presas e perseguição da própria espécie pelo homem (Murray *et al.* 1999). Combinadas a estas fontes de ameaça, as doenças podem reduzir ainda mais as populações silvestres, colocando a sobrevivência dos grandes carnívoros em risco.

A onça-pintada (*Panthera onca*) é o maior felino das Américas e, portanto, o maior predador terrestre do Brasil. Sua distribuição histórica se estendia do sudoeste dos Estados Unidos ao norte da Argentina (Seymour 1989), sendo atualmente considerada extinta em parte de sua distribuição original (Sanderson *et al.* 2002). No Brasil, as populações mais expressivas estão localizadas no Pantanal e na Amazônia (Silveira &

Crawshaw 2008), sendo a Mata Atlântica o bioma no qual a espécie encontra-se mais ameaçada (Sanderson *et al.* 2002). A presença atual da espécie foi confirmada em apenas oito regiões / localidades no bioma e todas as subpopulações remanescentes na Mata Atlântica brasileira encontram-se em declínio (Beisiegel *et al.* 2012), estando limitadas a áreas pequenas, em relação às demandas ecológicas e comportamentais da espécie, e isoladas.

Populações em áreas reduzidas podem apresentar maior suscetibilidade a doenças devido ao aumento da densidade populacional e consequente favorecimento da transmissão de infecções entre indivíduos (micro ou macro parasitos), o que contribui também para o aumento da carga parasitária dos espécimes devido a repetidas reinfecções (Gilbert 1994). Neste contexto, as doenças podem se tornar ameaças adicionais à conservação da fauna, com destaque para a alteração da longevidade das populações em decorrência da redução do tempo de vida dos indivíduos (Primack & Rodrigues 2001), sendo mais devastadoras em populações pequenas, isoladas e/ou em declínio (Murray *et al.* 1999) e que sofrem de desnutrição, estresse (Ullrey 1993) e/ou endogamia (O'Brien *et al.* 1985).

O presente estudo teve como objetivo investigar os parasitos intestinais existentes em uma população silvestre de onças-pintadas na Mata Atlântica do sudeste do Brasil, que representa a última população da espécie no estado do Espírito Santo. Os resultados obtidos constituem os primeiros esforços para caracterização dos parasitos intestinais na população em estudo e, por serem indicativos da saúde geral da espécie, fornecem elementos que contribuem para a avaliação da vulnerabilidade da onça-pintada na região.

2. Metodologia

2.1. Área de Estudo

O estudo foi conduzido na Reserva Natural Vale (RNV), localizada na porção norte do estado do Espírito Santo, a 30 km ao norte do rio Doce, entre os municípios de Linhares e Jaguaré (19°06' – 19°18' S e 39°45' – 40°19' W) (Figura 1). A RNV é uma área protegida privada, de propriedade da Vale S.A., que possui 22.711 ha e é adjacente à Reserva Biológica de Sooretama (RBS; 24.250 ha). Juntas estas reservas formam um bloco contínuo de vegetação nativa (bloco Linhares / Sooretama), interceptado pela Rodovia BR-101, e representam quase 10% da área com cobertura florestal remanescente no estado (FSOSMA & INPE 2011). A população de onças-pintadas presente nestas duas reservas representa a última do Espírito Santo e uma das últimas populações da espécie em todo o bioma Mata Atlântica.

2.2. Coleta de Amostras e Exames Laboratoriais

Os exames parasitológicos foram realizados a partir de amostras fecais coletadas na RNV, entre novembro de 2006 e outubro de 2007, não tendo sido realizada a captura de espécimes para obtenção de material. A procura por amostras fecais foi realizada mensalmente, ao longo das estradas e aterros localizados no interior da Reserva, os quais foram percorridos por dois observadores, com o auxílio de bicicletas. Apenas amostras fecais frescas (superfície brilhante e úmida, com odor forte), que apresentam maior probabilidade de conter ovos, larvas, cistos e oocistos de parasitos

ainda intactos, foram encaminhadas para laboratório para exames parasitológicos. Para isso, foram coletados fragmentos da porção interna das fezes, evitando-se a coleta de partes que estavam em contato com o solo para reduzir a probabilidade de contaminação das amostras (contaminação ambiente). Os fragmentos coletados eram acondicionados em embalagens plásticas e preservados em solução conservante de MIF (Mertiolato / Iodo / Formaldeído) para melhor fixação de ovos e larvas de helmintos e de cistos e oocistos de protozoários, bem como de parasitos adultos.

Considerando a potencial sobreposição morfológica entre fezes de onça-pintada e de onça-parda e entre estas e de jaguatirica (Farrell *et al.* 2000, Haag *et al.* 2009, Miotto *et al.* 2007), a confirmação da identificação das amostras foi realizada em laboratório, a partir da identificação de pêlos-guarda do predador (pêlos ingeridos pelos espécimes durante auto-limpeza, sendo então eliminados nas fezes; Del Duque Júnior 2012) e/ou a partir de análises genéticas (extração de DNA Fecal; Haag *et al.* 2009) (para detalhes, ver Capítulos 2 e 3).

Para obtenção de ovos e larvas de helmintos e cistos e oocistos de protozoários (análises qualitativas), foram adotadas três técnicas parasitológicas distintas. Esta estratégia foi adotada com o objetivo de otimizar a obtenção de dados, considerando que não há um único método capaz de diagnosticar todas as formas parasitárias concomitantemente (Souza & Amor 2010). O processamento das fezes era iniciado com a diluição das amostras em água contida em um béquer e filtragem do produto em um cálice de sedimentação, por intermédio de gaze dobrada quatro vezes, para retenção dos fragmentos ósseos e pêlos. Em seguida, uma pequena amostra do diluído de fezes era transferida para um tubo de coleta e acrescentada solução saturada de Cloreto de Sódio. A partir desta técnica (Método de Willis; Willis 1921) são obtidos os ovos mais leves, cistos e oocistos, os quais permanecem em suspensão (flutuação) próximo à superfície do líquido e são coletados com o auxílio de uma lamínula mantida na borda do recipiente, em contato com o líquido, por cerca de cinco

minutos. Posteriormente, a outra parte do líquido resultante da diluição e filtração era deixada em repouso no cálice, por um período mínimo de uma hora, para sedimentação espontânea do material. Após esse intervalo, o sobrenadante era desprezado, permanecendo no cálice somente o material sedimentado. Esta técnica (Método de HPJ; Hoffman *et al.* 1934) é usada principalmente para obtenção de ovos mais pesados e larvas de helmintos, embora também possa resultar em cistos e oocistos de protozoários. Uma parte do sedimento era então retirada e centrifugada com formol-éter a fim de se obter uma amostra com menor concentração de impurezas e detritos (Método de Centrifugação com Éter; Ritchie 1948). O material resultante da flutuação, sedimentação espontânea e centrifugação em formol-éter era preparado entre lâmina e lamínula descartáveis e examinado com o auxílio de microscopia óptica para identificação dos ovos, larvas, cistos e oocistos de parasitos. A pesquisa de parasitos adultos foi realizada a partir de exame macroscópico do conteúdo das amostras, antes da diluição do material, seguida da análise detalhada das frações selecionadas com o auxílio de lupa estereoscópica.

A identificação dos parasitos foi realizada com base nas informações disponíveis em Soulsby (1968), Skrjabin (1969) e Yamaguti (1961, 1963).

3. Resultados

Entre as amostras fecais de onça-pintada coletadas na Reserva Natural Vale (RNV), 10 foram encaminhadas para exames parasitológicos. Destas, sete amostras ($n = 7$) foram positivas quanto à presença de parasitos intestinais. Foram identificados sete táxons a partir de ovos e oocistos: Apicomplexa, Acanthocephala, Pseudophyllidea, Trematoda, Ancylostomatidae, Ascarididae e Trichuridae. (Tabela 1). Em apenas uma das amostras analisadas foi detectada a presença de um parasito adulto, identificado

como pertencente ao gênero *Toxocara* sp. (Família Ascarididae; Tabela 1). Na Figura 1 são apresentadas imagens de ovos de alguns dos parasitos detectados nas amostras analisadas.

Foram detectados de dois a seis diferentes táxons de parasitos por amostra positiva analisada, com uma média de 3,71 táxons quando consideradas apenas as amostras positivas e 2,60 considerando todas as amostras analisadas. A Ordem Pseudophyllidea e a Família Ancylostomatidae foram os grupos de parasitos mais comuns, tendo sido detectados em cinco amostras, seguida do Filo Acanthocephala, registrado em quatro amostras. A Família Trichuridae foi observada em apenas uma das amostras fecais analisadas, representando o grupo menos frequente entre os identificados.

De acordo com dados obtidos a partir das análises genéticas (para detalhes, ver Capítulo 3), três amostras fecais para as quais foram realizados exames parasitológicos foram atribuídas a um mesmo indivíduo (fezes coletadas em novembro de 2006 e abril e julho de 2007). Na primeira amostra analisada foram identificados quatro táxons, na terceira amostra foram registrados apenas dois e na segunda amostra não foi detectada a presença de nenhum parasito intestinal. Quando considerados os registros obtidos nas três amostras, o número total de táxons identificados para o espécime em questão ($n = 4$) foi semelhante ao identificado na primeira amostra.

Tabela 1: Parasitos intestinais identificados nas amostras fecais de onça-pintada coletadas na Reserva Natural Vale (Linhares / ES) entre novembro de 2006 e outubro de 2007, incluindo o tipo de forma parasitária detectada.

Filo	Classe	Ordem	Superfamília	Família	Forma Parasitária	Parasito (n° amostras)
Apicomplexa					oocisto	Apicomplexa (2)
Acanthocephala					ovo	Acanthocephala (4)
Platyhelminthes	Cestoda	Pseudophyllidea			ovo	Pseudophyllidea (5)
Platyhelminthes	Trematoda				ovo	Trematoda (3)
Nemathelminthes	Nematoda	Strongylida	Ancylostomatoidea	Ancylostomatidae	ovo	Ancylostomatidae (5)
Nemathelminthes	Nematoda	Ascaridida	Ascaridoidea	Ascarididae	ovo	Ascarididae 1 (2)
Nemathelminthes	Nematoda	Ascaridida	Ascaridoidea	Ascarididae	ovo	Ascarididae 2 (3)
Nemathelminthes	Nematoda	Ascaridida	Ascaridoidea	Ascarididae	adulto	<i>Toxocara</i> sp. (1)
Nemathelminthes	Nematoda	Enoplida	Trichinelloidea	Trichuridae	ovo	Trichuridae (1)

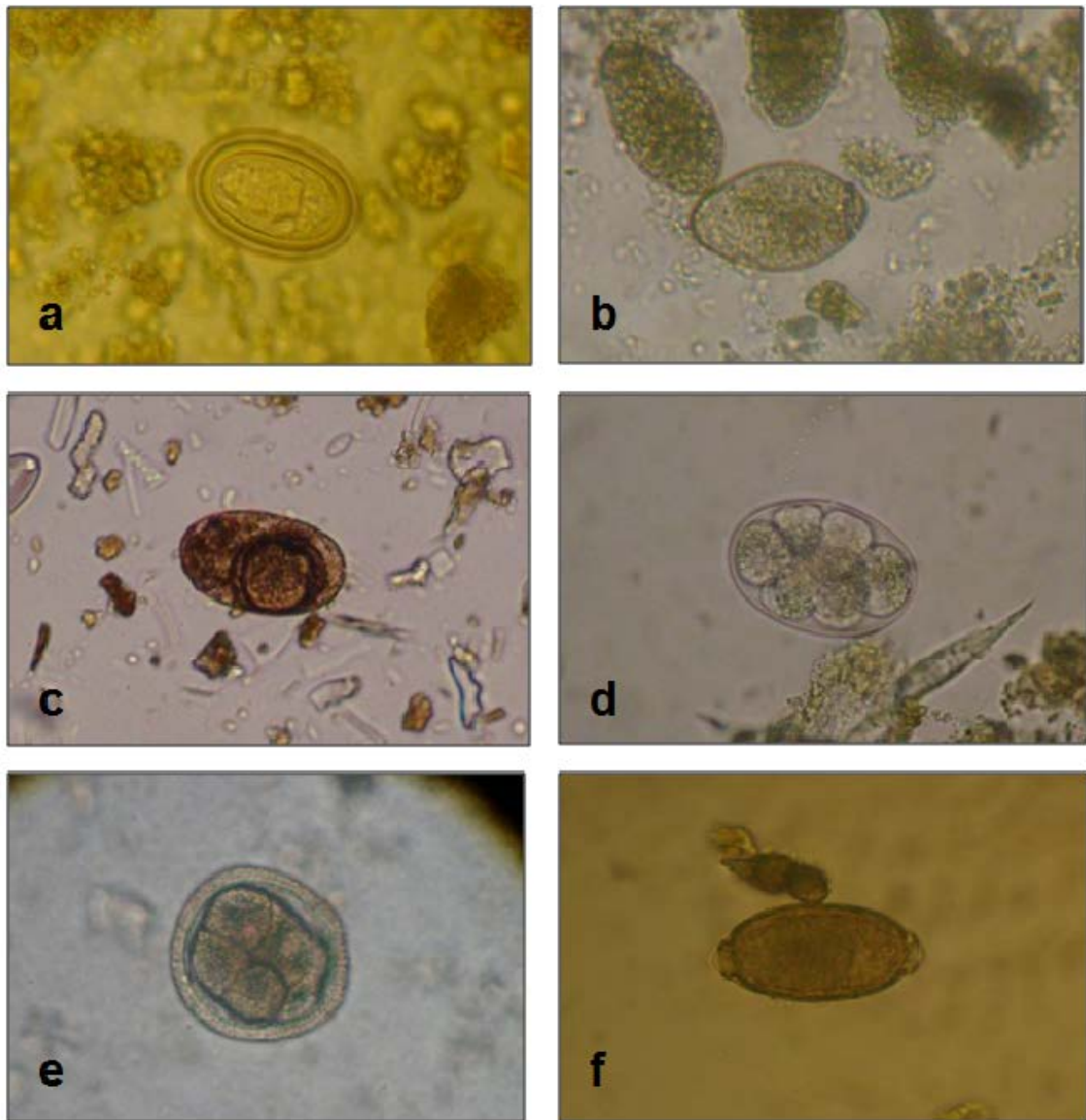


Figura 1: Ovos de parasitos identificados em amostras fecais de onça-pintada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES): a. Acanthocephala; b. Pseudophyllidea; c. Trematoda; d. Ancylostomatidae; e. Ascarididae; f. Trichuridae.

4. Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo indicam uma alta prevalência de parasitos intestinais em onças-pintadas na RNV (70%), embora valores mais elevados (92%)

tenham sido registrados para a espécie em Belize (Patton *et al.* 1986). O número médio de táxons identificados por amostra foi superior ao registrado por Patton *et al.* (1986) para felinos em geral (n = 2), apesar destes autores terem identificado um maior número de táxons por fezes (até oito tipos) e amostras com apenas um tipo de parasito.

A variação no número de táxons de parasitos identificados nas diferentes amostras fecais de um mesmo indivíduo, incluindo uma amostra considerada negativa, indica que a não detecção de parasitos pode representar, na verdade, resultados falsos negativos. Esta observação corrobora Souza & Amor (2010) ao considerar que um exame isolado, cujo resultado é negativo, não deve ser avaliado como conclusivo, ressaltando que a produção de ovos, larvas, cistos e oocistos não é uniforme ao longo do dia ou durante o ciclo do parasito. Além disso, sugere-se também que os resultados falsos negativos, considerando a ausência de evidências de parasitos em geral ou de um táxon específico, possam estar relacionados à distribuição não homogênea de formas parasitárias em determinada amostra fecal, o que pode levar a resultados subestimados quando apenas uma porção das fezes é coletada para a realização dos exames parasitológicos.

Estudos relacionados à investigação de parasitos intestinais em onças-pintadas silvestres são escassos e a maior parte das informações disponíveis para a espécie provém de indivíduos mantidos em cativeiro (ex. Brandão *et al.* 2009, Freitas 2011, Müller *et al.* 2005, Otto 1974, Patton *et al.* 1986, Vieira *et al.* 2008). Apesar disso, os dados disponíveis na literatura científica reúnem registros de cinco Filos e cerca de 14 Famílias com espécies de parasitos associados à onça-pintada. Todos os grupos identificados para a população da RNV constam em trabalhos anteriores realizados para a espécie, embora os registros da Classe Trematoda, obtidos no presente estudo (detectada em três amostras), sejam as primeiras evidências deste grupo de parasitos em onças-pintadas no Brasil (Brandão *et al.* 2009, Freitas 2011, Furtado & Filoni 2008,

Müller *et al.* 2005, Vieira *et al.* 2008).

Os parasitos intestinais de forma geral, especialmente os helmintos, não são apontados como a causa de morte em animais silvestres, sendo atribuídas a eles alterações de comportamento, na reprodução e na assimilação de nutrientes, o que pode tornar os indivíduos mais vulneráveis a outras pressões ambientais (Anderson 1976). Entretanto, a idade do animal parasitado e a intensidade da infecção influenciam na severidade das parasitoses intestinais, as quais podem causar, por exemplo, a obstrução mecânica do intestino, em decorrência da existência de um elevado número de parasitos adultos, e anemia grave, devido à subtração de nutrientes e comprometimento do estado nutricional do hospedeiro, sendo estas manifestações observadas em casos de parasitismo prolongado e maciço (para detalhes, ver revisão apresentada em Freitas 2011).

Além de serem susceptíveis a uma grande variedade de parasitos, incluindo vírus, bactérias, protozoários e helmintos, entre outros grupos, os carnívoros são vulneráveis a patógenos facilmente transmitidos por espécies domésticas (Murray *et al.* 1999). Neste sentido, destaca-se que o contato entre espécies silvestres e cães-domésticos (*Canis lupus familiaris*), por exemplo, que tem sido registrado em diferentes regiões na Mata Atlântica (Galetti & Sazima 2006, Paschoal *et al.* 2012, Srbek-Araujo & Chiarello 2008), pode promover a transmissão de doenças entre estes grupos, sendo esta apontada como umas das consequências mais graves do contato entre animais exóticos e nativos (Butler *et al.* 2004, Carpenter *et al.* 1998, Cleaveland *et al.* 2000, Haass *et al.* 1996, Roelke-Parker *et al.* 1996). A RNV possui contorno irregular (maior extensão de áreas de borda) e entorno constituído principalmente por pastagens e culturas agrícolas (Jesus & Rolim 2005), o que favorece o contato entre representantes da fauna nativa e doméstica. De fato, a presença de cães-domésticos tem sido registrada eventualmente na RNV, incluindo a visualização de animais, o registro de vocalizações e a obtenção de registros a partir de armadilhas fotográficas

instaladas em estradas internas à área de estudo (dados não publicados). Desta forma, a possibilidade de contato entre onças-pintadas e cães-domésticos, culminando com a introdução de novos parasitos nessa população silvestre, é um risco real e pode ter efeitos extremamente graves para a conservação da espécie, ressaltando que a população de onças-pintadas encontra-se extremamente reduzida no bloco Linhares / Sooretama (estimada em aproximadamente 20 indivíduos adultos; para detalhes, ver Capítulo 2).

Além do risco de transmissão de outros parasitos intestinais por animais domésticos, destaca-se a transmissão de doenças mais graves, causadas por bactérias ou por vírus, tais como a raiva e a cinomose, ambas virais e que podem ter efeitos devastadores em populações de felinos silvestres (Murray *et al.* 1999; Roelke-Parker *et al.* 1996). Segundo Haass *et al.* (1996), pelo menos oito das 11 famílias atuais de carnívoros, incluindo os felinos, mostram-se susceptíveis ao vírus da cinomose. Na África, declínios populacionais representativos causados pela cinomose foram observados em populações de leões (*Pathera leo*) e a transmissão da doença foi atribuída ao contato com cães-domésticos (Roelke-Parker *et al.* 1996), estando os padrões de infecção significativamente associados à densidade da espécie doméstica na região (Cleaveland *et al.* 2000). A exposição de onças-pintadas de vida livre ao vírus da cinomose foi confirmada pela primeira vez para a Mata Atlântica por Nava *et al.* (2008). Segundo os autores, este resultado também pode ser atribuído à presença de cães-domésticos infectados na área por eles estudada (Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema / Mato Grosso do Sul). Evidências sorológicas de exposição de onças-pintadas silvestres e de indivíduos de cativeiro a patógenos comuns em animais domésticos também foram obtidas para outros tipos de vírus, além de bactérias, protozoários e fungos em território brasileiro (Furtado & Filoni 2008).

Embora informações sobre o real impacto de doenças nas populações silvestres de onças-pintadas sejam limitadas (Furtado & Filoni 2008) e as doenças estejam

naturalmente presentes em populações de felinos em vida livre, seu efeito pode se tornar mais grave em populações pequenas e isoladas (Murray *et al.* 1999) e expostas à endogamia (O'Brien *et al.* 1985), que representa a situação compartilhada pelas populações de onça-pintada em toda a Mata Atlântica. Uma vez que a dinâmica de infecções em populações silvestres pode ser influenciada por fatores ecológicos e epidemiológicos, o grande desafio para a conservação é identificar as condições que favorecem a propagação e que definem a gravidade das doenças, antes que estas se tornem epidemias, além de implementar medidas de controle para prevenir ou mitigar sua propagação (Murray *et al.* 1999). Desta forma, mostra-se necessária a realização de investigações e monitoramentos visando à adequada compreensão da dinâmica de doenças em populações de onças-pintadas em vida livre (Furtado & Filoni 2008), bem como a identificação dos parasitos presentes nas populações remanescentes e a avaliação do risco de contração de outras doenças a partir do contato com espécies exóticas, como parte das ações para conservação da espécie.

Para a população de onças-pintadas presente no bloco Linhares / Sooretama, mostra-se necessário também o desenvolvimento de ações para evitar que novas doenças sejam introduzidas à população silvestre, considerando: realização de exames sorológicos periódicos na população de cães e gatos-domésticos (*Felis catus*) presentes nos municípios vizinhos à RNV e à RBS para atestar a saúde dos animais e confirmar os patógenos para os quais as espécies domésticas podem estar atuando como reservatório; tratamento ou eutanásia de animais domésticos infectados, recorrendo-se à segunda opção nos casos de doenças não tratáveis ou cujo tratamento é dispendioso, não podendo ser arcado pelos donos dos animais; realização de campanhas de vacinação e vermifugação periódica de cães e gatos-domésticos nos municípios de entorno da RNV e RBS; recolhimento de animais errantes e aqueles encontrados no interior da RNV e da RBS, com encaminhamento dos mesmos para o Canil da Secretaria Municipal de Saúde de Linhares; e repetições

periódicas de exames parasitológicos para detalhamento e acompanhamento dos táxons presentes em onças-pintadas na RNV, estendendo-se as coletas de amostras para a RBS. Estas ações se mostram relevantes para conservação da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, podendo ser aplicáveis à Mata Atlântica como um todo, bem como às populações presentes em outros biomas. Ressalta-se ainda que as doenças transmitidas entre a fauna silvestre e a doméstica são frequentemente bidirecionais, podendo ser igualmente fatais para os dois grupos, com potencial de transmissão para o homem, favorecendo o surgimento de novas zoonoses (Bengis *et al.* 2002). Por este motivo, evitar ou impedir o contato entre animais silvestres e domésticos, além de contribuir para a conservação da fauna nativa, representa também uma ação preventiva relacionada à saúde pública.

Apesar de ter sido analisado um pequeno número de amostras e de não terem sido obtidas identificações de todos os parasitos em nível específico ou de Família (limitações implícitas à análise de formas imaturas, sendo necessária a obtenção de parasitos adultos para identificações mais precisas), o presente estudo representa um dos primeiros trabalhos relacionados à investigação de parasitos intestinais em onças-pintadas silvestres no Brasil e o primeiro desenvolvido para a espécie na Mata Atlântica brasileira, colaborando para o melhor conhecimento dos fatores que contribuem para a vulnerabilidade da onça-pintada na RNV e no bioma de forma geral.

5. Referências Bibliográficas

ANDERSON, R.C. 1976. Helminths. In: PAGE, L.A. (Ed.). 1976. III International Wildlife Disease Conference. New York: Plenum. p. 35-43.

BEISIEGEL, B.M.; SANA, D.A. & MORAES JR, E.A. 2012. The jaguar in the Atlantic

Forest. Cat News Special Issue, 7: 14-18.

BENGIS, R.G.; KOCK, R.A. & FISCHER, J. 2002. Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 21 (1): 53-65.

BRANDÃO, M.L.; CHAME, M.; CORDEIRO, J.L.P. & CHAVES, S.A.M. 2009. Diversidade de helmintos intestinais em mamíferos silvestres e domésticos na Caatinga do Parque Nacional Serra da Capivara, Sudeste do Piauí, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18: 19-28.

BUTLER, J.R.A.; DU TOIT, J.T. & BINGHAM, J. 2004. Free-ranging domestic dogs (*Canis familiaris*) as predators and prey in rural Zimbabwe: threats of competition and disease to large wild carnivores. *Biological Conservation*, 115: 369-378.

CARPENTER, M.A.; APPEL, M.J.G.; ROELKE, P.M.E. ; MUNSON, L.; HOFER, H.; EAST, M. & O'BRIEN, S. J. 1998. Genetic characterization of canine distemper virus in Serengeti carnivores. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 65: 259-266.

CLEAVELAND, S.; APPEL, M.G.J.; CHALMERS, W.S.K.; CHILLINGWORTH, C.; KAARE, M. & DYE, C. 2000. Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary Microbiology*, 72: 217-227.

DEL DUQUE JÚNIOR, H.J. 2012. A dieta da onça-pintada em uma das últimas populações deste felino na Mata Atlântica: a Reserva Natural Vale, Linhares (ES), sudeste do Brasil. Dissertação: Mestrado. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil.

FARRELL, L.E.; ROMAN, J. & SUNQUIST, M.E. 2000. Dietary separation of sympatric carnivores identified by molecular analysis of scats. *Molecular Ecology*, 9: 1583-1590.

FREITAS, M.V.M. 2011. Levantamento de parasitos intestinais e pulmonares de

felídeos e canídeos silvestres da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte por meio de técnicas coprológicas. Monografia: Especialização. Centro Universitário da Grande Dourados, Brasil.

FSOSMA & INPE. 2011. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2008-2010. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo. Disponível online: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2008-10_relatorio%20final_versao2_julho2011.pdf [Acessado em: 10 de agosto de 2012].

FURTADO, M.M. & FILONI, C. 2008. Diseases and Their Role for Jaguar Conservation. *Cat News Special Issue*, 4: 35-40.

GALETTI, M. & SAZIMA, I. 2006. Impacto de cães ferais em um fragmento urbano de Floresta Atlântica no sudeste do Brasil. *Natureza & Conservação*, 4: 58 – 63.

GILBERT, K.A. 1994. Parasitic infection in red howling monkeys in forest fragments. *Neotropical Primates*, 2: 10-12.

HAAG, T.; SANTOS, A.S.; ANGELO, C.; SRBEK-ARAUJO, A.C.; SANA, D.A.; MORATO, R.G.; SALZANO, F.M. & EIZIRIK, E. 2009. Development and testing of an optimized method for DNA-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) faecal samples for use in ecological and genetic studies. *Genetica*, 136: 505-512.

HAASS, L.; HOFER, H.; EAST, M.; WOHLSEIN, P.; LIESS, B. & BARRETT, T. 1996. Canine distemper virus infection in Serengeti spotted hyaenas. *Veterinary Microbiology*, 49: 147-152.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A. & JANER, J.L. 1934. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico Journal of Public Health*, 9: 281-298.

JESUS, R.M. & ROLIM, S.G. 2005. Fitossociologia da Mata Atlântica de Tabuleiro.

Boletim Técnico da Sociedade de Investigações Florestais, 19: 1-149.

MIOTTO, R.A.; CIOCHETI, G.; RODRIGUES, F.P. & GALETTI JR, P.M. 2007. Determination of the minimum population size of pumas (*Puma concolor*) through faecal DNA analysis in two protected cerrado areas in the Brazilian southeast. *Biotropica*, 39: 647-654.

MÜLLER, G.C.K.; GREINERT, J.A. & SILVA FILHO, H.H. 2005. Frequência de parasitas intestinais em felinos mantidos em zoológicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57: 559-561.

MURRAY, D.L.; KAPKE, C.A.; EVERMANN, J.F. & FULLER, T.K. 1999. Infectious disease and the conservation of free-ranging large carnivores. *Animal Conservation*, 2: 241-254.

NAVA, A.F.D.; CULLEN JR, L.; SANA, D.A.; NARDI, M.S.; RAMOS FILHO, J.D.; LIMA, T.F.; ABREU, K.C.; FERREIRA, F. 2008. First Evidence of Canine Distemper in Brazilian Free-Ranging Felids. *EcoHealth*, 5: 513-518.

O'BRIEN, S.J.; ROELKE, M.E.; MARKER, L.; NEWMAN, A.; WINKLER, C.A.; MELZER, D.; COLLY, L.; EVERMANN, J.F.; BUSH, M. & WILDT, D.E. 1985. Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. *Science*, 227: 1428–1434.

OTTO, G.F. 1974. Occurrence of the heartworm in unusual locations and in unusual hosts. In: American Heartworm Society (Org). 1974. Proceedings of the Heartworm Symposium. Auburn: American Heartworm Society. p. 6-13.

PASCHOAL, A.M.O.; MASSARA, R.L.; SANTOS, J.L. & CHIARELLO, A.G. 2012. Is the domestic dog becoming an abundant species in the Atlantic forest ? A study case in southeastern Brazil. *Mammalia*, 76: 67-76.

PATTON, S.; RABINOWITZ, A.; RANDOLPH, S. & STRAWBRIDGE, S. 1986. A coprological survey of parasites of wild neotropical felidae. *Journal of Parasitology*, 72:

517-520.

PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. 2001. *Biologia da Conservação*. Londrina: Midiograf.

RITCHIE, L.S. 1948. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the United States Army Medical Department*, 8: 326.

ROELKE-PARKER, M.E.; MUNSON, L.; PACKER, C.; KOCK, R.; CLEVELAND, S.; CARPENTER, M.; O'BRIEN, S.J.; POSPISCHIL, A.; HOFFMANN-LEHMANN, R.; LUTZ, H.; MWAMENGELE, G.L.M.; MGASA, M.N.; MACHANGE, G.A.; SUMMERS, B.A. & APPEL, M.J.G. 1996. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 379: 441-445.

SANDERSON, E.; REDFORD, K.H.; CHETKIEWICZ, C.; MEDELLIN, R.A.; RABINOWITZ, A.; ROBINSON, J.G. & TABER, A. 2002. Planning to save a species: the jaguar as a model. *Conservation Biology*, 16: 58-72.

SEYMOUR, K.L. 1989. *Panthera onca*. *Mammalian Species*, 340: 1-9.

SILVEIRA, L. & CRAWSHAW JR, P. 2008. *Panthera onca* Linnaeus, 1758. In: MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M. & PAGLIA, A.P. (Eds). 2008. *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção*. Vol. 2. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. p: 793-794.

SKRJABIN, K.I. 1969. *Key to parasitic nematodes: Spirurata and filariata*. Jerusalem: IPST Press Binding.

SOULSBY, E.J.L. 1968. *Helminths, Arthropods & Protozoa of domesticated animals*. London: Baillière, Tindall and Cassell.

SOUZA, R.F. & AMOR, A.L.M. 2010. Controle de qualidade de técnicas realizadas nos laboratórios de parasitologia da Secretaria Municipal de Saúde do Município de

Salvador, Bahia. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 42: 101-106.

SRBEK-ARAUJO, A.C. & CHIARELLO, A.G. 2008. Domestic dogs in Atlantic Forest preserves of south-eastern Brazil: A Camera-Trapping Study on Patterns of Entrance and Site Occupancy Rates. *Brazilian Journal of Biology*, 68 (4): 631-637.

ULLREY, D.E. 1993. Nutrition and predisposition to infectious disease. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 24 (3): 304–314.

VIEIRA, F.M.; LUQUE, J.L. & MUNIZ-PEREIRA, L.S C. 2008. Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. *Zootaxa*, 1721: 1–23.

WILLIS, H.H. 1921. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Medicine Journal of Australia*, 11: 375-376.

YAMAGUTI, S. 1961. *Systema Helminthum: The Nematodes of Vertebrates*. New York: Interscience.

YAMAGUTI, S. 1963. *Systema Helminthum: Acanthocephala*. New York: Interscience.

Atropelamento de onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) em rodovia federal no Espírito Santo, sudeste do Brasil, e implicações para a conservação da espécie

Comunicação Científica

As estradas causam alterações da paisagem, tanto em decorrência da fragmentação, quanto da deterioração de habitats, acarretando uma série de efeitos negativos sobre as comunidades animais e vegetais que afetam a integridade de ecossistemas terrestres e aquáticos (Trombulak & Frissell 2000). Os efeitos negativos das estradas estão associados à mortalidade de espécimes durante sua construção, à mortalidade de animais em decorrência da colisão com veículos, à modificação do comportamento dos indivíduos, à alteração física e química do ambiente, à dispersão de espécies exóticas e à alteração no uso do solo pelo homem, favorecendo o acesso a áreas remotas e até então pouco ou não acessíveis (Trombulak & Frissell 2000).

Os atropelamentos, em especial, podem ser apontados como uma das principais causas de mortalidade em populações de animais silvestres em diferentes partes do mundo (Forman & Alexander 1998) e este problema tem sido agravado pelo aumento da intensidade do tráfego e gradativo aumento de estradas permeando áreas naturais (Hughes *et al.* 1996). Para Trombulak & Frissell (2000), poucas espécies de vertebrados terrestres estão inunes a esta ameaça e, segundo Forman & Alexander (1998), nas últimas décadas, as estradas provavelmente ultrapassaram a caça como a causa direta da mortalidade de vertebrados terrestres.

Os mamíferos de médio e grande porte são especialmente suscetíveis a atropelamentos em estradas com duas pistas e em vias de alta velocidade (Forman & Alexander 1998). As estradas representam uma ameaça especial à conservação de carnívoros devido à sua grande mobilidade e amplas exigências de área de vida, o que os expõem constantemente ao risco de atropelamentos em paisagens cortadas por estradas (Noss *et al* 1996). Entre os carnívoros, destaca-se que a morte de felinos em decorrência da colisão com veículos tem sido registrada em várias partes do mundo, incluindo registros de espécies de grande porte, como tigre (*Panthera tigris*) (Gruisen 1998a), leão (*Panthera leo*) (Drews 1995), leopardo (*Panthera pardus*) (Gruisen 1998a, Gruisen 1998b, Baskaran & Boominathan 2010), onça-pintada (*Panthera onca*) (Cullen 2006, Faria 2006, Fischer *et al.* 2004) e onça-parda (*Puma concolor*) (Cáceres *et al.* 2010, Maehr *et al.* 1991), além de afetar também espécies de menor porte, como jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (Cáceres *et al.* 2010), gato-do-mato (*Leopardus geoffroyi*) (Attademo *et al.* 2011), gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) (Hegel *et al.* 2012) e gato-mourisco (*Puma yaguarondi*) (Cunha *et al.* 2010, Hegel *et al.* 2012). Os atropelamentos podem apresentar um efeito substancial na demografia das populações mais frequentemente afetadas pela colisão com veículos (Trombulak & Frissell 2000) e têm se tornado um problema crescente nos últimos anos (Baskaran & Boominathan 2010), representando uma ameaça ainda maior para espécies ameaçadas cujas populações estão restritas a um pequeno número de indivíduos e em contato com estradas.

A presente comunicação reporta o atropelamento de uma onça-pintada na Rodovia BR-101, em trecho associado à Reserva Biológica de Sooretama (RBS) e próximo à Reserva Natural Vale (RNV), entre os municípios de Linhares e Sooretama, na porção norte do Espírito Santo, sudeste do Brasil.

Área de Estudo

A Reserva Biológica de Sooretama (RBS: 24.250 ha) e a Reserva Natural Vale (RNV: 22.711 ha) estão localizadas na porção norte do Espírito Santo e representam um bloco único de vegetação nativa que corresponde a quase 10% da área com cobertura florestal remanescente no estado (FSOSMA & INPE 2011). O bloco é interceptado pela Rodovia BR-101 em um trecho de aproximadamente 5,7 km que atravessa a RBS e apresenta vegetação nativa nos dois lados da estrada (Figura 1). Outros 8,5 km da Rodovia BR-101 estão associados à RNV e propriedades vizinhas, os quais incluem a divisa entre esta reserva e áreas com uso variado do solo (plantios de eucalipto, plantações de mamão e pastagens, entre outros) e remanescentes de vegetação nativa (Figura 1). O trecho associado à RBS conta com quatro passagens para a fauna (tipo túnel, localizadas abaixo da estrada), sendo duas estruturas com aproximadamente 2,0m x 2,0m e as demais com cerca de 1,5m x 1,5m (altura x largura). Não há passagens para a fauna no trecho associado à RNV e propriedades vizinhas. O registro dos atropelamentos de fauna ocorridos no trecho associado à RBS é realizado desde agosto de 2010 pela equipe técnica desta reserva, mas não há ações direcionadas para a avaliação da efetividade das passagens para fauna.



Figura 1: Imagem da região de inserção da Reserva Biológica de Sooretama (RBS) e da Reserva Natural Vale (RNV), na porção norte do Espírito Santo, com destaque para a Rodovia BR-101 (linha branca). A localização das reservas no bioma Mata Atlântica (área pontilhada) [inserção superior] e o detalhe dos limites da RBS e da RNV [inserção inferior] são também apresentados. Fonte da imagem de fundo: Google Earth (2012 Cnes/Spot Image; Image U.S. Geological Survey; Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, CEBCO).

A Onça-pintada e a Rodovia BR-101

O monitoramento da população de onças-pintadas foi iniciado na RNV em 2005, tendo sido identificados nove indivíduos nesta reserva a partir de armadilhas fotográficas. Para a RBS, foram realizadas amostragens não sistematizadas com armadilhas fotográficas, as quais resultaram no registro de um único indivíduo, diferente daqueles identificados na RNV (para detalhes, ver Capítulo 2). Embora não seja possível estimar a frequência com a qual ocorre deslocamento de indivíduos entre as porções

de mata a leste e a oeste da Rodovia BR-101, o intenso fluxo de veículos leves e pesados (especialmente caminhões tipo bitrem) nesta importante via de transporte que comunica as porções norte e sul do país a tornam uma constante ameaça à conservação das onças-pintadas na região.

A constatação do risco de atropelamentos de onças-pintadas na Rodovia BR-101 foi obtida em 31 de agosto de 2000, quando foi encontrado um espécime morto, no trecho associado à RBS. O animal, uma fêmea, foi encaminhado para o Museu de Biologia Professor Mello Leitão (município de Santa Teresa / Espírito Santo) e, a partir da análise do crânio e da mandíbula, confirmou-se tratar de um indivíduo adulto.

Eventos de atropelamento de outras espécies de felinos são eventualmente registrados na Rodovia BR-101 no trecho associado à RBS e à RNV, os quais incluem a morte de uma onça-parda (*Puma concolor*), em 07 de abril de 2009, embora as espécies de pequeno porte (*Leopardus* spp.) sejam as mais comumente afetadas na região (dados não publicados). Apesar de não haver outros registros oficiais de atropelamento de onças-pintadas na região, anteriores ou posteriores ao relatado na presente comunicação, não se deve descartar a ocorrência de mais eventos ao longo do tempo e que não tenham sido comunicados às autoridades locais e pesquisadores que atuam na região. Adicionalmente, considera-se também que a morte dos espécimes atingidos por veículos pode não ser imediata e que os animais podem vir a se refugiar no interior das reservas após a colisão, vindo a óbito posteriormente como consequência dos ferimentos sofridos.

A morte de onças-pintadas em decorrência de atropelamentos não é incomum no Brasil. Embora estes registros sejam escassos na literatura científica, o relato de acidentes fatais envolvendo a espécie tem sido divulgado em jornais impressos e virtuais e as notícias podem ser facilmente encontradas em sites de busca na internet (palavras-chave: “atropelamento onça-pintada”). Os registros mais recentes datam de

outubro de 2012, na Rodovia MT-242, próximo ao município de Sorriso (Mato Grosso); e dezembro e agosto de 2012, na Rodovia BR-262, no trecho entre os municípios de Corumbá e Miranda (Mato Grosso do Sul), que já registrou pelo menos quatro onças-pintadas mortas nos últimos cinco anos, incluindo um filhote, sendo este trecho considerado o mais problemático do estado quanto ao atropelamento de animais silvestres.

Na Mata Atlântica, os registros de atropelamento de onças-pintadas estão vinculados às áreas protegidas que funcionam como os últimos refúgios da espécie no bioma: em março de 2009, foi registrado o atropelamento de um espécime na Rodovia BR-469, no interior do Parque Nacional Foz do Iguaçu (Paraná); e, em novembro de 2002 (Cullen 2006) e em junho de 2001 (Faria 2006), na Rodovia SP-613, que atravessa o Parque Estadual do Morro do Diabo (São Paulo), foram registrados outros dois eventos, não sendo estes os únicos registros de atropelamento de onças-pintadas conhecidos para esta região. Neste cenário, as estradas e rodovias associadas a áreas protegidas funcionam como fontes adicionais de risco de extinção local para a espécie, ressaltando que as populações remanescentes nestas áreas estão isoladas e extremamente reduzidas.

A Rodovia BR-101 será totalmente duplicada no Espírito Santo e as obras já foram iniciadas na porção sul do estado. Apesar disso, ainda não há estudo de impacto ambiental para o projeto de duplicação contemplando a porção norte do estado e não existe, até o momento, o planejamento de medidas especiais para evitar ou reduzir o risco de atropelamento de fauna no trecho localizado entre a RBS e a RNV (informações obtidas junto à Superintendência Regional do Departamento Nacional de Infra-Estrutura de Transportes - DNIT, em Linhares). Sem a adoção de mecanismos eficientes de transposição ou adaptação do projeto de engenharia, que permitam o deslocamento seguro de espécimes no trecho que intercepta esse importante remanescente de Mata Atlântica do estado e um dos mais importantes do país, a

conservação das espécies que atualmente atravessam a Rodovia BR-101 estará ainda mais ameaçada por sua duplicação.

A Duplicação da Rodovia e os Impactos sobre a Fauna

O impacto das estradas sobre as populações silvestres pode se tornar ainda mais drástico em vias com maior número de pistas. Reilly & Green (1974) demonstraram que a duplicação de uma rodovia interestadual em Michigan (EUA) resultou em um aumento imediato de aproximadamente 500% na taxa anual de atropelamento de veados-da-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), em relação à média de atropelamentos registrados ao longo dos quatro anos anteriores à duplicação. Houve nos anos seguintes uma gradativa redução nos acidentes com veados, até que a taxa anual permaneceu em média duas vezes maior do que o valor registrado quando a estrada era composta por apenas duas pistas (Reilly & Green 1974). Além da intensificação do risco de atropelamentos, a duplicação da estrada poderá também interromper ou reduzir significativamente o fluxo de espécimes entre a RNV e RBS, uma vez que algumas espécies têm limitações para deslocamento em áreas abertas e que, quanto maior o espaço a ser transposto, menor a probabilidade de efetivação do movimento em vários grupos de vertebrados. Ao atuarem como inibidores de movimento ou funcionarem como barreiras para o deslocamento das espécies, as estradas contribuem para a fragmentação de habitats e de populações, interrompendo o fluxo de vários processos naturais importantes para a manutenção das espécies (Forman & Alexander 1998, Trombulak & Frissell 2000).

Medidas de Mitigação e Impactos do Atropelamento de Fauna

As espécies respondem diferentemente à presença de mecanismos de transposição, o que faz com que a maioria das estruturas seja seletivamente permeável para a fauna (Clevenger & Waltho 2005). Seu uso pelas espécies está relacionado à combinação de vários fatores, que incluem as características da própria estrutura, tais como altura, largura, comprimento (distância a ser percorrida), nível de ruído (decorrente do tráfego de veículos) e presença ou quantidade de cobertura vegetal na entrada da passagem, e características ambientais, como distância do corpo d'água mais próximo e existência de atividade humana próximo às passagens, por exemplo (Clevenger & Waltho 2005). Adicionalmente, observa-se que o uso das passagens pode variar entre as estações do ano (sazonalidade) (Clevenger & Waltho 2005) e as estruturas podem ser parcialmente bem sucedidas para uma mesma espécie, uma vez que alguns animais não conseguem encontrá-las (Foster & Humphrey 1995), tornando sua eficiência variável entre indivíduos. Observa-se ainda que o efeito das passagens de fauna não é imediato, sendo necessário um período de habituação para que as estruturas sejam utilizadas pela fauna. A habituação pode demandar vários anos, dependendo da espécie, das experiências prévias e do aprendizado dos indivíduos, bem como da capacidade destes em ajustar seu próprio comportamento (Clevenger *et al.* 2002).

Desta forma, para que as medidas de mitigação sejam eficientes, maximizando a conectividade ao longo das estradas e tornando-as permeáveis para o maior número de espécies de mamíferos de grande porte, os projetos de construção de estradas devem incluir uma grande variedade de mecanismos de transposição, considerando estruturas com diferentes configurações e dimensões (Clevenger & Waltho 2005). Ressalta-se ainda que as estratégias de mitigação não se encerram com a instalação dos mecanismos de transposição, sendo necessário também garantir que as

estruturas permaneçam funcionais ao longo do tempo, o que requer monitoramentos contínuos (Clevenger & Waltho 2005).

Embora nem todos os efeitos negativos das estradas possam ser remediados e as estradas continuem representando fontes de mortalidade para várias espécies, mesmo após a implantação de medidas para mitigação de seus impactos negativos sobre a fauna (Trombulak & Frissell 2000), a não utilização de mecanismos eficientes que visem à redução dos acidentes envolvendo espécimes silvestres pode colocar em risco a conservação de várias espécies no estado. Somados aos efeitos negativos para a fauna, acidentes rodoviários envolvendo espécies silvestres também apresentam custos sociais e econômicos, devendo ser analisados como um relevante problema sócio-econômico e uma questão de segurança de tráfego (Hughes *et al.* 1996). Estimativas conservadoras apontam que aproximadamente 415 acidentes envolvendo veados ocorrem todos os anos no Reino Unido (Langbein 2011). Apenas na Inglaterra, cerca de 46% dos acidentes que resultam em pessoas feridas, incluindo acidentes fatais, são atribuídos a colisões com veados, sendo a espécie mencionada nas descrições oficiais de 133 acidentes em média por ano (Langbein 2011). Os danos econômicos decorrentes deste tipo de acidente são estimados em mais de £ 28 milhões para todo o Reino Unido por ano, o que inclui custos médicos e de saúde, danos materiais, administração de seguros e custos legais e judiciais, entre outros gastos (Langbein 2011). Nos Estados Unidos, os valores são ainda mais elevados. Anualmente são registrados cerca de 26 mil acidentes envolvendo animais silvestres de grande porte no país, considerando aqueles que resultam em condutores e/ou passageiros feridos, e aproximadamente 200 vítimas fatais são contabilizadas todos os anos em decorrência de acidentes desta natureza (Huijser *et al.* 2008). Os impactos financeiros diretos dos acidentes envolvendo fauna silvestre são estimados em quase US\$ 8,4 bilhões por ano nos Estados Unidos (Huijser *et al.* 2008).

Embora esse tipo de informação não esteja disponível para o Brasil, é provável que os acidentes envolvendo fauna silvestre também resultem em grandes números, considerando a extensa malha rodoviária e o intenso tráfego de veículos no país. No Brasil, a rede rodoviária está composta por mais de 1,7 milhão de km e mais de 31% destes estão localizados na região sudeste do país (ANTT 2009), onde se encontra a maior parte dos remanescentes de Mata Atlântica do território brasileiro. Merece destaque, entretanto, um dos atropelamentos de onças-pintadas ocorrido na Rodovia SP-613, no interior do Parque Estadual do Morro do Diabo. O caso foi levado à promotoria pública, que estabeleceu uma multa indenizatória a ser paga pela empresa responsável pelo caminhão envolvido no acidente. Embora o animal tenha um valor intrínseco, não mensurável, a quantia a ser paga pela empresa foi estimada com base nos custos para cuidar de um filhote recém-nascido, até sua devolução à natureza, incluindo as despesas com treinamentos e soltura. O valor final calculado foi US\$ 200 mil e o dinheiro foi revertido na compra de equipamentos para continuidade dos estudos com onças-pintadas na região (Chiaravalloti 2011).

A Estratégia para o bloco Linhares / Sooretama

Em função das incertezas e das dificuldades em se definir o melhor desenho para as estruturas de transposição e do elevado impacto que a perda de espécimes ou o isolamento das duas reservas representa para a população de onças pintadas no bloco Linhares / Sooretama, recomenda-se para o trecho da Rodovia BR-101 localizado entre a RNV e a RBS: a não duplicação dos 15 km de estrada associados às duas reservas, incluindo a construção de novas passagens de fauna, que contemplem inclusive o trecho associado à RNV, e a melhoria das estruturas atualmente existentes na área (aplicação de conceitos atuais relacionados à ecologia

de estradas), além da instalação de redutores eletrônicos de velocidade, placas advertindo a travessia de animais silvestres e placas educativas.

Alternativamente, é proposta a elevação da rodovia por meio de viadutos construídos nos pontos mais críticos quanto à ocorrência de atropelamentos de fauna, mantendo-se a área adjacente e sob os viadutos coberta com vegetação nativa herbácea e arbustiva, sem iluminação artificial e livre para deslocamento dos espécimes, intercalados por redutores eletrônicos de velocidade e placas nos trechos não elevados. Estruturas semelhantes têm sido adotadas atualmente em países da Europa e na América do Norte para minimização dos efeitos negativos das estradas sobre a fauna silvestre.

Além da reavaliação do projeto de duplicação, mostra-se necessário também o monitoramento contínuo e sistematizado dos atropelamentos de fauna ocorridos na região, considerando o trecho associado às duas reservas e a avaliação da efetividade das passagens de fauna, para a identificação dos pontos mais críticos e das espécies mais afetadas, contribuindo para o melhor entendimento dos impactos da Rodovia BR-101 sobre a comunidade de vertebrados presente no bloco Linhares / Sooretama. O monitoramento deve ser iniciado antes do início das obras para definição do padrão atual de atropelamentos na região e identificação dos pontos que requerem ações de mitigação, sejam passagens de fauna, redutores eletrônicos de velocidade ou viadutos para elevação da estrada. Conforme citado anteriormente, a continuidade do monitoramento após a conclusão das obras mostra-se extremamente importante para que a funcionalidade das estruturas implementadas possa ser avaliada de forma contínua.

Conclusão

Ainda que o atropelamento de grandes felinos possa ser caracterizado como um evento esporádico na Rodovia BR-101, o efeito negativo da perda de um único espécime revela-se extremamente grave para a população local de onças-pintadas, a qual se encontra extremamente reduzida (estimada em aproximadamente 20 indivíduos adultos; para detalhes, ver Capítulo 2). Além disso, a interrupção do fluxo de indivíduos entre as duas reservas, decorrente de insucesso nas tentativas de travessia da Rodovia BR-101 ou de sua transformação em uma barreira para a espécie após sua duplicação, acarretará a divisão da população atual em duas subpopulações menores e mais susceptíveis a problemas demográficos e genéticos. Neste cenário, a duplicação da Rodovia BR-101 poderá resultar em perdas inestimáveis para o estado, ressaltando que a perda de indivíduos e a divisão de populações têm potencial para afetar grande parte das espécies de vertebrados que ocorrem no bloco Linhares / Sooretama, incluindo espécies ameaçadas de extinção em nível nacional e estadual, como o mutum-do-sudeste (*Crax blumenbachii*), o crejoá (*Cotinga maculata*), o tatu-canastra (*Priodontes maximus*) e as espécies de felinos em geral. Destaca-se que a população de onças-pintadas presente no bloco composto pela RNV e pela RBS é a última do Espírito Santo e que estas reservas consistem em uma das últimas áreas em todo o bioma Mata Atlântica com registros de populações atuais da espécie (Beisiegel *et al.* 2012), sendo extremamente importante a adoção de ações que contribuam para sua conservação em longo prazo.

Referências Bibliográficas

ANTT 2009. Anuário Estatístico dos Transportes Terrestres – Período 2004 a 2008. Agência Nacional de Transportes Terrestres, Brasília: Disponível online:

http://www.antt.gov.br/index.php/content/view/10868/Ano_2009.html [Acessado em: 28 de março de 2013].

ATTADEMO, A.M.; PELTZER, P.M.; LAJMANOVICH, R.C.; ELBERG, G.; JUNGES, C.; SANCHEZ, L.C. & BASSÓ, A. 2011. Wildlife vertebrate mortality in roads from Santa Fe Province, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82: 915-925.

BASKARAN, N. & BOOMINATHAN, D. 2010. Road kill of animals by highway traffic in the tropical forests of Mudumalai Tiger Reserve, southern India. *Journal of Threatened Taxa*, 2: 753-759.

BEISIEGEL, B.M.; SANA, D.A. & MORAES JR, E.A. 2012. The jaguar in the Atlantic Forest. *Cat News Special Issue*, 7: 14-18.

CÁCERES, N.C.; HANNIBAL, W.; FREITAS, D.R.; SILVA, E.L.; ROMAN, C. & CASELLA, J. 2010. Mammal occurrence and roadkill in two adjacent ecoregions (Atlantic Forest and Cerrado) in south-western Brazil. *Zoologia*, 27: 709–717.

CHIARAVALLOTI, R.M. 2011. “Ai Meu Deus! Matei a onça do Globo Rural!”. *Diário do Verde, Café com Sustentabilidade*. Disponível online: <http://diariodoverde.com/ai-meu-deus-matei-a-onca-do-globo-rural/#ixzz2O0v1gg00> [Acessado em: 19 de Março de 2013].

CLEVINGER, A.P.; CHRUSZCZ, B.; GUNSON, K. & WIERZCHOWSKI, J. 2002. *Roads and wildlife in the Canadian Rocky Mountain Parks - Movements, mortality and mitigation*. Final report to Parks Canada. Banff, Alberta, Canada. 426 p.

CLEVINGER, A.P. & WALTHO, N. 2005. Performance indices to identify attributes of highway crossing structures facilitating movement of large animals. *Biological Conservation*, 121: 453-464.

CULLEN, L. 2006. *Jaguar as landscape detectives for the conservation in the Atlantic Forest of Brazil*. Tese: Doutorado. University of Kent, United Kingdom.

CUNHA, H.F.; MOREIRA, F.G.A. & SILVA, S.S. 2010. Roadkill of wild vertebrates along the GO-060 road between Goiânia and Iporá, Goiás State, Brazil. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 32: 257-263.

DREWS, C. 1995. Road kill of animals by public traffic in Mikumi National Park, Tanzania with notes on baboon mortality. *African Journal of Ecology*, 33: 89-100.

FARIA, H.H. (Coord). 2006. *Parque Estadual do Morro do Diabo: Plano de Manejo*. Santa Cruz do Rio Pardo: Editora Viena. 311 p.

FISCHER, W.A.; RAMOS-NETO, M.B.; SILVEIRA, L. & JACOMO, A.T. 2004. Human transportation network as ecological barrier for wildlife on Brazilian Pantanal-Cerrado corridors. In: IRWIN, C.L.; GARRETT, P. & MCDERMOTT, K.P. (Eds). 2004. *Proceedings of the 2003 International Conference on Ecology and Transportation*. Center for Transportation and the Environment, North Carolina State University, Raleigh, NC. pp. 182-194.

FORMAN, R.T.T. & ALEXANDER, L.E. 1998. Roads and their Major Ecological Effects. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 29: 207–231.

FOSTER, M.L. & HUMPHREY, S.R. 1995: Use of highway underpasses by Florida Panthers and other Wildlife. *Wildlife Society Bulletin*, 23 (1): 95-100.

FSOSMA & INPE. 2011. *Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - Período 2008-2010*. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo. Disponível online: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2008-10_relatorio%20final_versao2_julho2011.pdf [Acessado em: 10 de agosto de 2012].

GRUISEN, J.V. 1998a. Rajasthan. *Tiger Link*, 4 (1): 10-11.

GRUISEN, J.V. 1998b. Uttar Pradesh. *Tiger Link*, 4 (1): 14.

HEGEL, C.G.Z.; CONSALTER, G.C. & ZANELLA, N. 2012. Mamíferos silvestres atropelados na rodovia RS-135, norte do Estado do Rio Grande do Sul. *Biotemas*, 25: 165-170.

HUGHES, W.E.; SAREMI, A.R. & PANIATI, J.F. 1996. Vehicle-animal crashes: an increasing safety problem. *Institute of Transportation Engineers Journal*, 66: 24-28.

HUIJSER, M.P.; MCGOWEN, P.; FULLER, J.; HARDY, A.; KOCIOLEK, A.; CLEVENGER, A.P.; SMITH, D. & AMENT, R. 2008. *Wildlife-Vehicle Collision Reduction Study: Report to Congress*. Federal Highway Administration, Western Transportation Institute. 232 p.

LANGBEIN, J. 2011. *Monitoring reported deer road casualties and related accidents in England to 2010*. Deer Initiative Research Report to The Highways Agency. 63 p.

MAEHR, D.S.; LAND, E.D. & ROELKE, M.E. 1991. Mortality patterns of panthers in southwest Florida. *Proceeding of Annual Conference of Southeast Association of Fish and Wildlife Agencies*, 45: 201-207.

NOSS, R.F.; QUIGLEY, H.B.; HORNOCKER, M.G.; MERRILL, T. & PAQUET, P.C. 1996: Conservation biology and carnivore conservation in the Rocky Mountains. *Conservation Biology*, 10 (4): 949-963.

REILLY, R.E. & GREEN, H.E. 1974. Deer mortality on a Michigan interstate highway. *Journal of Wildlife Management*, 38 (1): 16–19.

TROMBULAK, S.C. & FRISSELL, C.A. 2000. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology*, 14:18-30.

Análise de Viabilidade Populacional da onça-pintada (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) no Espírito Santo: ameaças x ações de manejo

“Não há casos sem esperança, apenas pessoas sem esperança e casos dispendiosos.” (Soulé 1987)

1. Introdução

A conservação de carnívoros, em especial de grandes felinos, depende da manutenção de grandes extensões de hábitat, com suficiente disponibilidade de presas, para manutenção de populações viáveis em longo prazo, sendo este um dos principais aspectos que definem a permanência e o risco de extinção das espécies de grandes predadores em paisagens fragmentadas (Gittleman *et al.* 2001). Além destes aspectos, algumas características demográficas e ecológicas podem potencializar a sensibilidade de determinadas espécies à fragmentação e à perda de hábitat. O tamanho corporal, o tamanho da população, a taxa de reprodução, a taxa de sobrevivência / longevidade, a posição trófica, a especialização ecológica, a resistência / tolerância ao uso da matriz e a sensibilidade a perturbações, por exemplo, são alguns dos elementos que definem a susceptibilidade das espécies à fragmentação (Henle *et al.* 2004), contribuindo para sua permanência ou eliminação em pequenos remanescentes.

No cenário atual de perda e degradação de habitats naturais, devido especialmente à expansão e abertura de novas áreas para desenvolvimento de atividades antrópicas, observa-se que a conservação das espécies está cada vez mais baseada na manutenção de pequenas populações, sendo necessário avaliar a viabilidade ou vulnerabilidade das espécies à extinção para que sejam definidas ações de manejo adequadas à sua conservação (Lindenmayer *et al.* 1993). Neste sentido, a análise de viabilidade populacional (AVP), que consiste em procedimento que simula processos de extinção de pequenas populações e avalia sua viabilidade em longo prazo, tem sido amplamente adotada na avaliação do risco e vulnerabilidade de populações de felinos em diferentes partes do mundo (ex.: Kelly & Durant 2000, Maehr *et al.* 2002, Murayama 2008, Seal & Lacy 1989, Seal *et al.* 1994, Sollmann *et al.* 2008, Wiese *et al.* 1994, Wilkinson & O'Regan 2003). Esta se revela uma ferramenta especialmente importante na avaliação da gravidade das ameaças de extinção, orientação à definição de estratégias de conservação e avaliação da eficácia das ações de manejo propostas para espécies raras e ameaçadas de extinção (Lindenmayer *et al.* 1993), visando o restabelecimento das populações a tamanhos adequados e a redução do risco de extinção (Miller & Lacy 2005). As AVPs demandam uma série de dados biológicos, ecológicos e demográficos, os quais são difíceis de obter para populações pequenas e sob risco imediato de extinção, o que pode limitar a aplicabilidade da ferramenta e a relevância dos resultados obtidos. Apesar disso, segundo Lindenmayer *et al.* (1993), os benefícios obtidos a partir da AVP superam suas limitações, sendo mais útil quando integrada à tomada de decisões (avaliação e comparação sistemática de diferentes opções de manejo considerando os custos e os benefícios esperados) e avaliação das ações de manejo em execução.

A partir da AVP realizada para as populações de onça-pintada presentes em áreas protegidas no Brasil, Sollmann *et al.* (2008) sugerem que mais de 50% das populações atuais são viáveis por até 10 anos apenas, exceto na Amazônia, que mantém as

populações com maior probabilidade de sobrevivência. Na Mata Atlântica, a situação da espécie foi considerada especialmente crítica, onde as populações presentes em áreas protegidas apresentaram as menores estimativas de sobrevivência em longo prazo (Sollmann *et al.* 2008).

A presença da onça-pintada na Mata Atlântica brasileira, considerando registros atuais, é apontada para apenas oito regiões / localidades no bioma (Beisiegel *et al.* 2012), sendo a população presente no bloco Linhares / Sooretama, composto pela Reserva Natural Vale (RNV) e pela Reserva Biológica de Sooretama (RBS), a última população remanescente no Espírito Santo. Simulações realizadas para esta população, considerando um número máximo de 35 indivíduos e empregando-se valores de referência obtidos para a espécie em outras localidades ou em cativeiro e dados disponíveis para espécies aparentadas, resultaram em uma probabilidade de sobrevivência em 100 anos igual a 0%, com previsão de extinção em 30 anos (Eizirik *et al.* 2002). Adicionalmente, foi realizada também uma avaliação considerada pelos autores como mais realista, baseada na existência de apenas 14 indivíduos no bloco Linhares / Sooretama (menor densidade populacional em comparação com o primeiro cenário), o que resultou em uma ameaça de extinção imediata (Eizirik *et al.* 2002). No entanto, Thomas (1990) afirma que há modelos e evidências empíricas que indicam que algumas populações podem persistir por muitos anos, mesmo quando reduzidas a um pequeno número de indivíduos, não devendo ser abandonadas à própria sorte. Neste sentido, ainda que a AVP indique que uma população não é viável em longo prazo, os esforços de conservação devem ser mantidos (Lindenmayer *et al.* 1993).

Este capítulo tem como objetivo avaliar a viabilidade da população de onças-pintadas presente no bloco Linhares / Sooretama, com base em dados reais gerados para a população em estudo e informações disponíveis na literatura científica, realizando-se a análise de diferentes cenários compostos por interações entre as principais ameaças à conservação da espécie na região e as ações de manejo propostas para a onça-

pintada no Espírito Santo, conforme apresentado nos capítulos temáticos que compõem a presente tese. A partir das simulações, objetivou-se também demonstrar a gravidade das ameaças diagnosticadas para a espécie no bloco Linhares / Sooretama e verificar o resultado potencial das ações de conservação propostas para a população em estudo.

2. Metodologia

As análises de viabilidade populacional (AVP) da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama foram realizadas empregando-se o Programa VORTEX (Versão 9.99) (Lacy *et al.* 2012). Este programa simula o efeito de forças determinísticas e de eventos estocásticos (aspectos demográficos, genéticos e ambientais) sobre a dinâmica da população em análise, permitindo a geração de projeções de viabilidade populacional em diferentes cenários e num período de tempo determinado (Miller & Lacy 2005).

As simulações foram realizadas para o bloco Linhares / Sooretama, utilizando-se como base os dados coletados na Reserva Natural Vale (RNV) entre junho de 2005 e junho de 2006 a partir de armadilhas fotográficas (para detalhes, ver Capítulo 2). Os valores apresentados em Desbiez *et al.* (2012) foram utilizados como referência para os parâmetros cujos dados específicos não estão disponíveis para a população em estudo. Para o parâmetro “tamanho máximo da ninhada”, entretanto, optou-se por adotar um valor mais conservador ($n = 2$ filhotes), em comparação com o dado apontado por Desbiez *et al.* (2012) ($n = 4$ filhotes). A frequência alélica obtida para os 11 loci de DNA microssatélite investigados a partir de amostras fecais coletadas na RNV entre novembro de 2006 e outubro de 2008 (para detalhes, ver Capítulo 3) também foi utilizada como “*input*” para as simulações realizadas. Os valores utilizados

nas AVPs da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores utilizados nas análises de viabilidade populacional da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama.

Parâmetro	Valor
Número de populações	1
Tamanho inicial da população	18 indivíduos
Sistema reprodutivo	Poligamia
Idade da primeira reprodução (♀ / ♂) *	3 / 4 anos
Idade máxima *	15 anos
Reprodução dependente de densidade	Não
% machos adultos reproduzindo *	90
% fêmeas adultas reproduzindo anualmente (variação ambiental) *	50 (5)
Tamanho médio da ninhada *	2 filhotes
Tamanho máximo da ninhada	2 filhotes
Razão sexual da prole	50:50

(Continua)

(Continuação)

Parâmetro	Valor
% mortalidade de idade 0-1 (variação ambiental) (♀ / ♂) *	42 (7) / 42 (7)
% mortalidade de idade 1-2 (variação ambiental) (♀ / ♂) *	17 (3,5) / 17 (3,5)
% mortalidade de idade 2-3 (variação ambiental) (♀ / ♂) *	20 (5,0) / 20 (5,0)
% mortalidade de idade 3-15 (variação ambiental) (♀)	6 (1,5)
% mortalidade de idade 3-4 (variação ambiental) (♂) *	25 (6,0)
% mortalidade de idade 4-15 (variação ambiental) (♂)	10 (2,0)
Depressão endogâmica *	6 letais equivalentes
% do efeito da endogamia devido a alelos recessivos letais *	50
Capacidade suporte (variação ambiental)	24 indivíduos (2,0)

* Valores apresentados em Desbiez *et al.* (2012).

O tamanho inicial da população e a capacidade suporte empregada nas simulações foram baseados nos limites superiores do intervalo de confiança (95%) das estimativas de abundância obtidas para a região a partir dos dados coletados na RNV durante o primeiro ano de estudo (para detalhes, ver Capítulo 2). Ressalta-se que não há dados disponíveis para a Reserva Biológica de Sooretama (RBS) e que o hábitat disponível para a espécie na região está restrito ao bloco Linhares / Sooretama e áreas vizinhas menos alteradas (entorno), tendo sido adotada a estimativa mais parcimoniosa para a população em estudo. Para composição da população inicial foi considerada a opção “*Stable Age Distribution*” (distribuição constante dos indivíduos entre as classes de idade).

Para análise da viabilidade da população de onças-pintadas no bloco Linhares / Sooretama foram avaliados 11 cenários, considerando as principais ameaças à

conservação da espécie na região de estudo (perda de espécimes em decorrência de caça, atropelamento na Rodovia BR-101 e doenças = remoção de indivíduos), conforme discutido nos Capítulos 2, 4 e 5, e o efeito do manejo de indivíduos (translocação de espécimes entre populações da Mata Atlântica = suplementação), de acordo com o proposto no Capítulo 3, associado ou não à adoção de ações para evitar a remoção de indivíduos. O objetivo das simulações envolvendo diferentes cenários foi verificar as tendências de extinção ou sobrevivência da população sob diferentes combinações de ameaça e manejo. Os cenários analisados no presente estudo foram:

- Cenário 1: Dados populacionais gerados para a RNV, sem remoção de indivíduos ou suplementação populacional.
- Cenário 2: Dados populacionais e frequência alélica gerados para a RNV, sem remoção de indivíduos ou suplementação populacional. Os valores empregados neste cenário foram mantidos como a base para os outros cenários analisados.
- Cenário 3: Remoção de um indivíduo de cada sexo, a partir do primeiro ano, em intervalos de cinco anos.
- Cenário 4: Remoção de indivíduos (conforme Cenário 3) + Suplementação de uma fêmea, a partir do quinto ano, em intervalos de 10 anos.
- Cenário 5: Remoção de indivíduos (conforme Cenário 3) + Suplementação de uma fêmea e um macho, a partir do quinto ano, em intervalos de 10 anos.
- Cenário 6: Remoção de indivíduos (conforme Cenário 3) + Suplementação de uma fêmea a cada 10 anos e de um macho a cada 20 anos, a partir do quinto ano.
- Cenário 7: Suplementação de uma fêmea, a partir do quinto ano, em intervalos de 10 anos, sem remoção de indivíduos.
- Cenário 8: Suplementação de um macho, a partir do quinto ano, em intervalos de 10 anos, sem remoção de indivíduos.

- Cenário 9: Suplementação de uma fêmea a cada 10 anos e de um macho a cada 20 anos, a partir do quinto ano, sem remoção de indivíduos.
- Cenário 10: Suplementação de uma fêmea a cada 20 anos e de um macho a cada 10 anos, a partir do quinto ano, sem remoção de indivíduos.
- Cenário 11: Suplementação de uma fêmea e um macho, a partir do quinto ano, em intervalos de 10 anos, sem remoção de indivíduos.

Além dos cenários citados, foram realizadas também simulações para verificar o tamanho mínimo necessário para que a população em estudo apresente pelo menos 1% de probabilidade de sobrevivência em 100 anos. Para isso, foi realizada uma sequência de simulações com aumento gradativo da capacidade suporte, empregando-se os valores utilizados no primeiro e no segundo cenários, sem remoção ou suplementação populacional.

Para cada simulação realizada foram executadas 1.000 iterações e considerados intervalos de 100 anos. Ressalta-se que o objetivo das simulações foi modelar os efeitos das ameaças e das ações de manejo apresentadas para a população em estudo, representando um norteador da estratégia proposta para o bloco Linhares / Sooretama e não necessariamente o detalhamento da ação a ser desenvolvida. Este deverá ser objeto de estudo posterior.

Para verificar se a diferença dos valores estimados para cada cenário foi significativa, foi empregado o Teste do Qui-quadrado (χ^2). Quando o grau de liberdade foi igual a um, foi aplicada a Correção de Continuidade de Yates $[(O-E)^2 - 0,5 / E]$; onde O = frequência observada e E = frequência esperada] (Zar 1996). As análises em questão foram realizadas empregando-se o Programa STATISTICA (Versão 7.0).

3. Resultados

Os resultados das análises de viabilidade populacional (AVP) para a onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, geradas pelo Programa VORTEX para os 11 cenários avaliados, são apresentados na Tabela 2. Os gráficos das simulações geradas para cada cenário são apresentados na Figura 1.

Os resultados obtidos para os diferentes cenários indicam que a situação da população estudada é extremamente crítica, resultando em 100% de probabilidade de extinção em 100 anos, com previsão de extinção em 31 anos, caso nenhuma ação de manejo seja realizada e a capacidade suporte da área seja mantida (Cenário 1). Quando inseridos os dados relativos à frequência alélica da população, o tempo médio até a extinção sofre pouca alteração, passando para 30 anos (Cenário 2).

Tabela 2: Resultados das simulações realizadas para onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama: taxa de crescimento populacional (r), probabilidade de extinção em 100 anos (PE), tempo médio até a extinção (TE) e heterozigozidade esperada (HE). O desvio padrão é apresentado entre parênteses, sendo o erro padrão apresentado para a probabilidade de extinção. Detalhes sobre os cenários testados são apresentados no item “Metodologia”.

Cenário	r	PE	TE	HE
1	-0,0514 (0,2003)	1,00	30,63 (11,96)	-
2	-0,0536 (0,2017)	1,000	29,90 (11,90)	-
3	-0,0822 (0,2266)	1,000	19,07 (7,75)	-
4	-0,0642 (0,2252)	1,000	22,04 (10,08)	-
5	-0,0485 (0,2474)	0,9720 (0,0052)	27,12 (13,21)	0,6537 (0,0962)
6	-0,0489 (0,2449)	0,9780 (0,0046)	27,02 (12,64)	0,6716 (0,0849)
7	-0,0304 (0,2074)	0,9800 (0,0044)	40,86 (18,17)	0,7372 (0,0638)
8	-0,0395 (0,2149)	0,9890 (0,0033)	37,15 (16,79)	0,7327 (0,0672)
9	-0,0118 (0,2420)	0,2410 (0,0135)	50,38 (22,55)	0,7794 (0,0604)
10	-0,0116 (0,2407)	0,2530 (0,0137)	50,07 (22,88)	0,7803 (0,0634)
11	-0,0117 (0,2414)	0,2360 (0,0134)	48,80 (22,38)	0,7817 (0,0640)

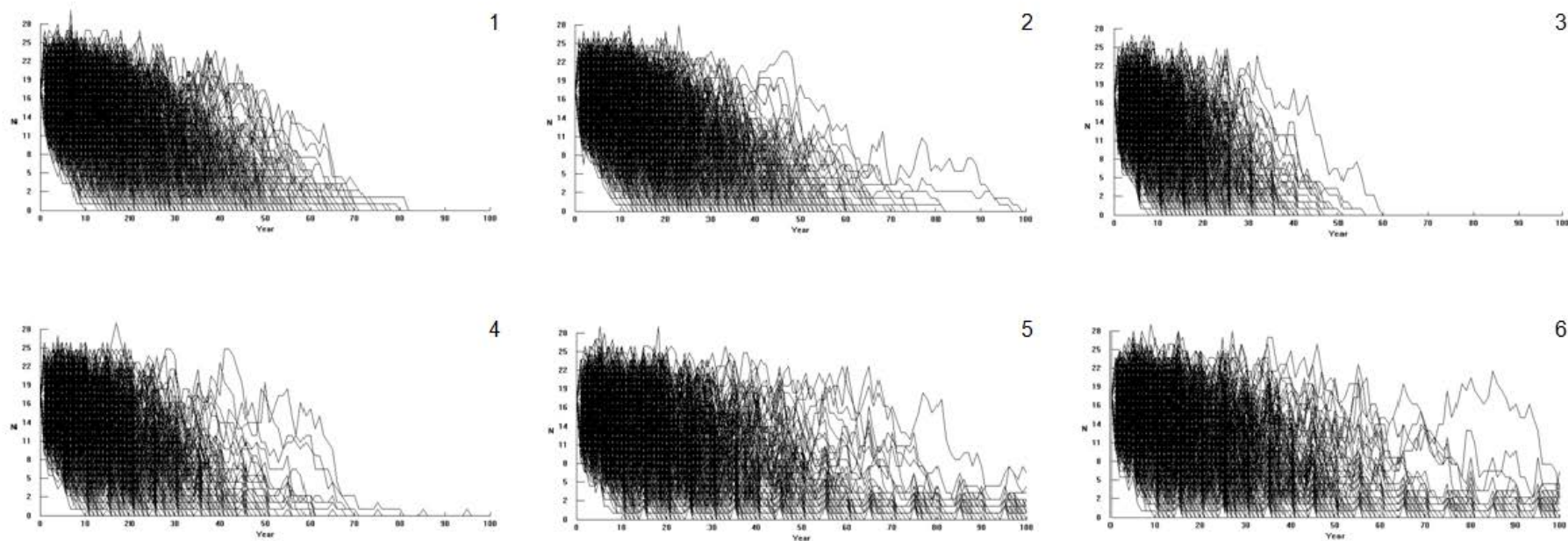


Figura 1a: Simulações geradas pelo Programa VORTEX para a onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, considerando os cenários 1 a 6 (N máximo = 28; 1.000 iterações). A descrição dos cenários é apresentada no item “Metodologia”.

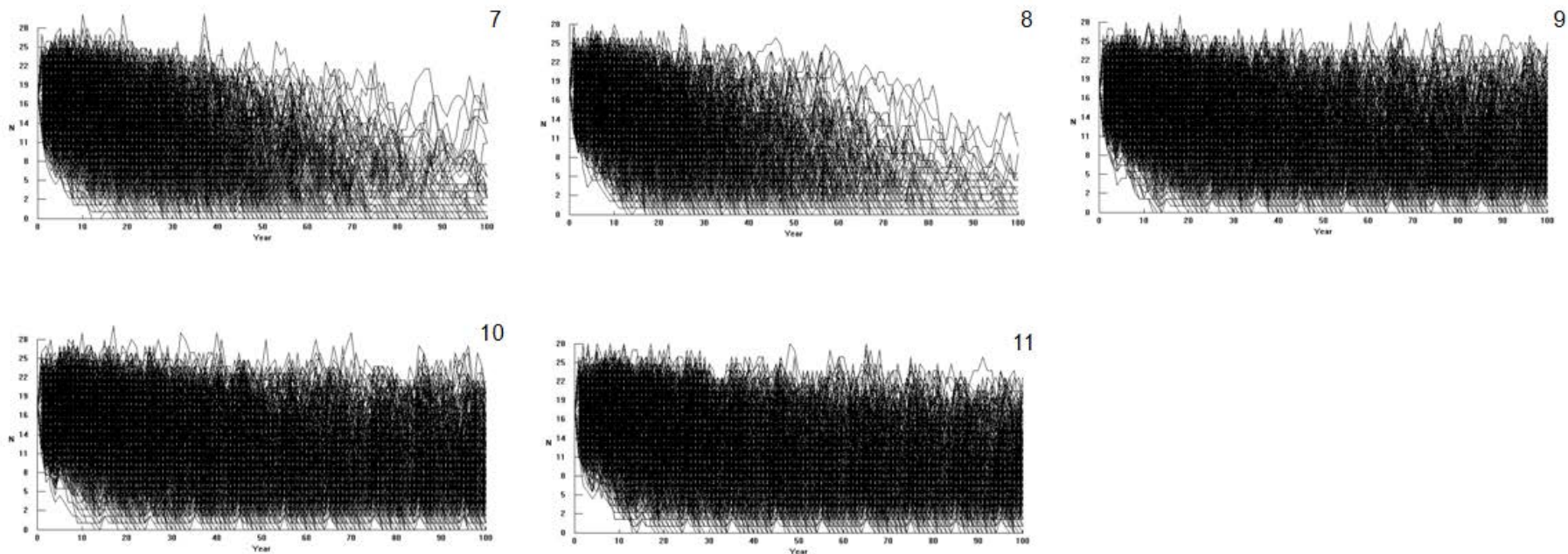


Figura 1b: Simulações geradas pelo Programa VORTEX para a onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, considerando os cenários 7 a 11 (N máximo = 28; 1.000 iterações). A descrição dos cenários é apresentada no item “Metodologia”.

As simulações realizadas confirmaram que a remoção de espécimes apresenta efeitos negativos sobre a população (Cenário 3), mesmo quando aplicadas ações de manejo baseadas na suplementação populacional (Cenários 4 a 6), sendo os melhores resultados obtidos quando os dois sexos são manejados. Entretanto, apenas quando adotadas ações para evitar a remoção de espécimes, associadas à suplementação de indivíduos, foram obtidos melhores valores para o tempo médio de sobrevivência da população (Cenários 7 a 11), superando os valores observados no cenário inicial. O manejo de apenas um dos sexos (Cenários 7 e 8) gerou resultados semelhantes, embora a priorização da suplementação de fêmeas (Cenário 7) tenha acarretado melhor resultado para o tempo médio até a extinção. Reduções significativas na probabilidade de extinção da espécie foram obtidas apenas quando o manejo de indivíduos incluiu a suplementação dos dois sexos, sem remoção de indivíduos (Teste do Qui-quadrado: g.l. = 1; $p < 0,0001$ em todos os casos), considerando intervalos diferentes entre os eventos de suplementação de machos (Cenário 9) e de fêmeas (Cenário 10) ou o manejo de ambos os sexos em igual proporção (Cenário 11), reforçando que as ações devem incluir fêmeas e machos para que os resultados do manejo de indivíduos sejam mais promissores. Apesar da variação na probabilidade de extinção e no tempo médio até a extinção, não houve variação significativa na heterozigotidade esperada, considerando todos os cenários para os quais foi possível estimar este parâmetro (Teste do Qui-quadrado: $\chi^2 = 0,0229404$; g.l. = 6; $p < 1,000$).

As simulações para verificação do tamanho populacional mínimo viável indicaram que, sem a adoção de ações de manejo de indivíduos, a probabilidade de extinção da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama se mantém 100% em 100 anos, mesmo quando a capacidade suporte é alterada para 500 indivíduos (Tabela 3). Observa-se ainda que, independente da capacidade suporte considerada, o número máximo de indivíduos presente na população ao longo das simulações não ultrapassou 75 espécimes em nenhuma das análises realizadas (Figura 2).

Tabela 3: Resultados das simulações realizadas para onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, com capacidade suporte de 500 indivíduos: taxa de crescimento populacional (r), probabilidade de extinção em 100 anos (PE), tempo médio até a extinção (TE) e heterozigozidade esperada (HE). O desvio padrão é apresentado entre parênteses, sendo o erro padrão apresentado para a probabilidade de extinção. Detalhes sobre os cenários testados são apresentados no item “Metodologia”.

Cenário	r	PE	TE	HE
1	-0,0535 (0,1970)	1,00	32,49 (13,91)	-
2	-0,0538 (0,1996)	1,00	32,32 (13,31)	-

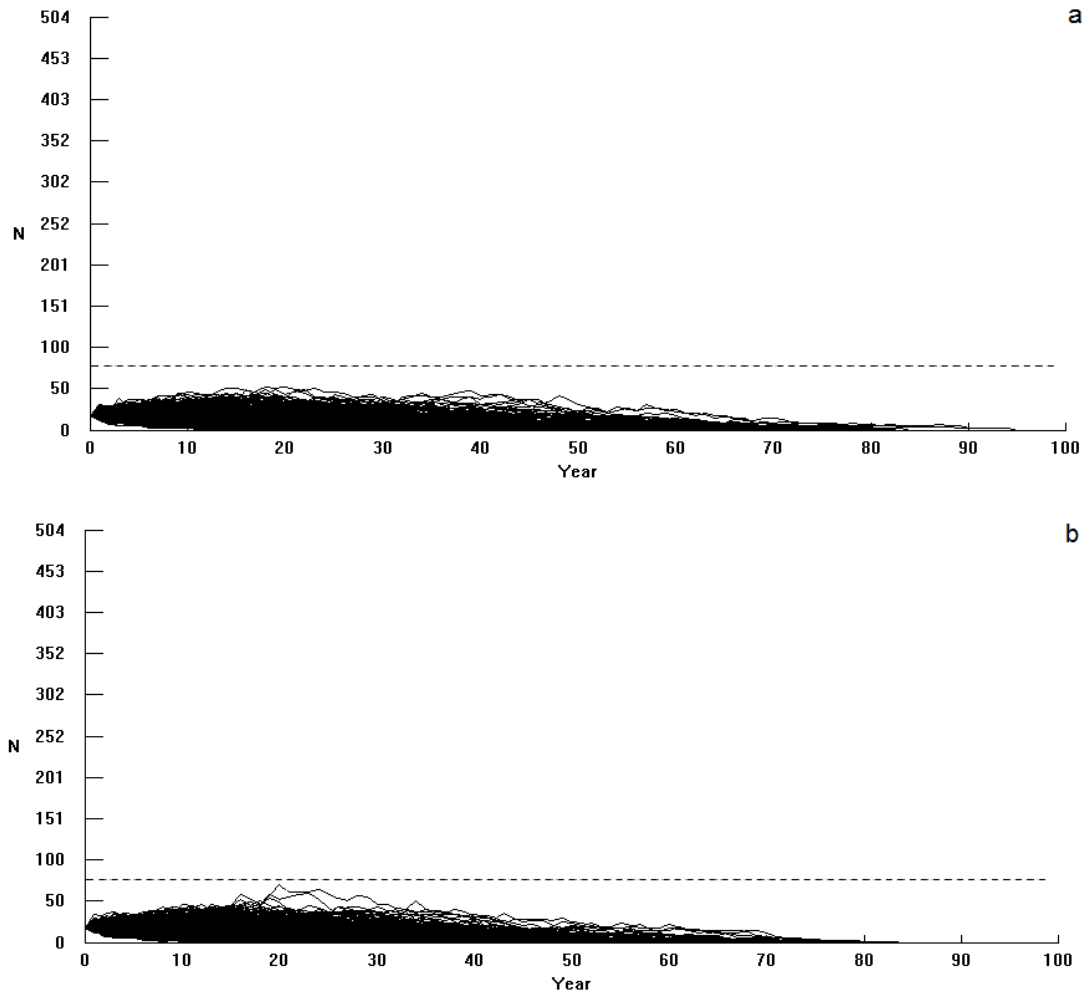


Figura 2: Simulações geradas pelo Programa VORTEX para a onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama com ampliação da capacidade suporte para até 500 indivíduos (1.000 iterações), considerando: apenas dados populacionais (a) e inclusão das frequências alélicas (b). A linha pontilhada indica $n = 75$ indivíduos.

4. Discussão

A extinção é resultado de uma sequência de eventos determinísticos e estocásticos e a tendência de declínio populacional pode ser identificada precocemente, sendo possível a adoção de ações preventivas, a partir das quais a espécie pode ser

manejada antes de se tornar ameaçada (Lindenmayer *et al.* 1993). Infelizmente, as populações de onça-pintada na Mata Atlântica já se encontram em declínio (Beisiegel *et al.* 2012) e as ações preventivas não são mais aplicáveis, sendo necessária a implementação de ações intensivas de manejo para evitar a extinção das populações remanescentes.

A população de onças-pintadas presente na Reserva Natural Vale (RNV) está reduzida a um pequeno número de indivíduos, apresentando alta densidade populacional, elevadas taxas de sobreposição de áreas de vida e evidências de perda de diversidade genética, estando restrita a uma porção limitada de hábitat, onde a disponibilidade de presas pode ser apontada como um dos elementos chave para manutenção dos indivíduos na área (para detalhes, ver Capítulos 2 e 3). Apesar deste cenário pouco promissor, que pode ser estendido para o bloco Linhares / Sooretama como um todo, considera-se que a população estudada ainda represente uma importante fonte de informação para conservação da espécie, destacando-se, por exemplo, a presença de alelos que não foram identificados em outras populações anteriormente estudadas na Mata Atlântica. Isso demonstra que mesmo as pequenas populações, que possuem pequena probabilidade de sobrevivência em longo prazo, podem contribuir para a manutenção da diversidade genética da onça-pintada no bioma como um todo. E, uma vez que a acentuada perda de hábitat e redução das populações é observada para a espécie na Mata Atlântica de forma geral, todas as populações remanescentes se tornam importantes, sendo fundamental sua incorporação às ações previstas nos planos de ação para conservação da espécie.

No estudo realizado por Sollmann *et al.* (2008), o tempo de persistência estimado para a onça-pintada nas áreas protegidas da Mata Atlântica com mais de 100 km² foi de 10 anos para 85,7% das áreas com presença potencial da espécie (n = 42) e de até 50 anos para outras 12,3% (n = 6), havendo apenas uma área (2,0%) com estimativa de persistência de até 150 anos. Os valores estimados para o bloco Linhares / Sooretama

no presente estudo, quando não considerada a remoção ou a implementação de ações de manejo, foram superiores ao apresentado por Sollmann *et al.* (2008) para a maioria das áreas localizadas na Mata Atlântica, embora o bloco Linhares / Sooretama tenha sido classificado no estudo anterior entre as áreas com menor tempo de persistência para a onça-pintada.

A análise de viabilidade populacional apresentada no presente estudo representa o aprimoramento das simulações realizadas por Eizirik *et al.* (2002) para o bloco Linhares / Sooretama, considerando o emprego de valores específicos para a população em estudo e não apenas dados de referência estimados para a espécie com base em informações disponíveis para outras áreas ou biomas, dados de cativeiro e informações de outras espécies. Isso pode ter promovido a obtenção de resultados mais próximos à realidade atual da espécie na área estudada, ressaltando que os valores obtidos foram mais otimistas do que os estimados por Eizirik *et al.* (2002) e Sollmann *et al.* (2008). Adicionalmente, cita-se que os valores empregados nos modelos gerados por Eizirik *et al.* (2002) foram também utilizados no estudo realizado por Sollmann *et al.* (2008), com ajustes de alguns parâmetros demográficos baseados em dados de campo disponíveis para a espécie, o que sugere que os dados utilizados nos estudos anteriores possam conter valores subestimados para alguns parâmetros, em relação à realidade da população analisada, não sendo condizentes com a situação atual da espécie no bloco Linhares / Sooretama.

Resguardadas as peculiaridades dos valores utilizados para cada parâmetro, o tempo médio até a extinção estimado neste estudo foi semelhante ao obtido no cenário otimista analisado por Eizirik *et al.* (2002)¹, apesar do tamanho populacional considerado no presente trabalho ter sido inferior ao valor utilizado no estudo anterior

¹ No estudo desenvolvido por Eizirik *et al.* (2002), o tamanho inicial da população e a capacidade suporte da área foram mantidos com valores iguais.

(n = 18 e 35 indivíduos, respectivamente). O cenário considerado por Eizirik *et al.* (2002) como o mais realista (n = 14 indivíduos), cujo número de indivíduos é mais próximo ao valor utilizado no presente estudo, no entanto, gerou resultados mais catastróficos. Segundo Desbiez *et al.* (2012), embora populações pequenas e isoladas de onças-pintadas não tendam a persistir por longo prazo, a capacidade suporte pode influenciar o impacto do pequeno tamanho populacional sobre outros parâmetros (crescimento da população, persistência em longo prazo, diversidade genética e tempo médio de extinção), uma vez que ela contribui para o aumento ou redução do número de indivíduos na população. Embora a diferença entre os resultados obtidos neste e no trabalho realizado por Eizirik *et al.* (2002) possam corroborar Desbiez *et al.* (2012), as simulações realizadas no presente estudo sugerem que, apesar da influência da capacidade suporte, o tamanho das populações iniciais pode ser crucial para a persistência da espécie em médio e longo prazo, mesmo quando a capacidade suporte não representa um fator limitante, o que pode ser atribuído a problemas relacionados à estocasticidade genética e demográfica.

A mortalidade de fêmeas pode ser apontada como um dos parâmetros de maior sensibilidade para as onças-pintadas, uma vez que elas representam o potencial de reprodução da espécie e, por conseguinte, a capacidade da população crescer e se recuperar de declínios (Desbiez *et al.* 2012). No presente estudo, entretanto, embora a priorização da suplementação de fêmeas tenha acarretado maior tempo médio até a extinção, em comparação com ações direcionadas apenas para machos, as ações que contemplaram simultaneamente os dois sexos foram aquelas que geraram resultados mais promissores. Estes resultados sugerem que, em alguns contextos, os parâmetros associados aos dois sexos podem representar componentes de sensibilidade para onças-pintadas, especialmente quando o tamanho populacional é muito pequeno e o número de machos na população é limitado.

As simulações realizadas demonstraram a importância de se evitar a remoção de espécimes no bloco Linhares / Sooretama, sendo necessária a aplicação de ações efetivas para: combater a caça, reduzindo ao máximo o risco de morte de onças-pintadas por caçadores, além de contribuir para a manutenção das populações de presas que são também caçadas pelo homem na região (o que favorece a manutenção ou melhoria da capacidade suporte local); evitar a perda de indivíduos devido ao atropelamento de espécimes na Rodovia BR-101; e melhor conhecer o impacto de doenças sobre a espécie, evitando também a contração de novos patógenos em decorrência do contato com espécies exóticas.

Ressalta-se ainda que, mesmo que a situação atual seja mantida ou, hipoteticamente, a capacidade suporte do bloco Linhares / Sooretama pudesse ser ampliada (hábitat, disponibilidade de presas e abundância de fêmeas, por exemplo), as simulações realizadas sugerem que a população tende a desaparecer em menos de 100 anos. Neste sentido, observa-se que a possibilidade de entrada de novos indivíduos na população por processos naturais (imigração) é muito remota, se não totalmente improvável, o que seria possível apenas a partir da dispersão de espécimes provenientes de outros estados e de sua sobrevivência durante deslocamento por centenas de quilômetros em áreas de uso antrópico intensivo, até sua chegada ao bloco Linhares / Sooretama (a população mais próxima encontra-se no Parque Estadual do Rio Doce, em Minas Gerais, distando mais de 250 km). Neste contexto, o manejo de indivíduos é proposto como alternativa para reduzir os efeitos do isolamento da população, considerando a translocação de animais entre populações da Mata Atlântica de forma integrada ou, alternativamente, a inseminação artificial de fêmeas que compõe as populações remanescentes (para detalhes, ver Capítulo 3). A partir desta ação, as populações remanescentes seriam manejadas de forma coordenada e com intervenções recíprocas, como metapopulações, para promover o resgate genético e reduzir a perda de diversidade genética nas populações. Segundo

Desbiez *et al.* (2012), a translocação de indivíduos precisa ser bem planejada e fazer parte de um programa abrangente para se tornar uma ferramenta eficaz de conservação, estando seu sucesso associado a uma série de aspectos (idade e sexo dos indivíduos, número de animais a serem translocados, intervalo entre translocações, taxa de sobrevivência e de fecundidade dos indivíduos reintroduzidos, entre outros fatores). No entanto, embora represente uma ação de risco, não consistindo em procedimento simples, o manejo de indivíduos para suplementação populacional, associado à eliminação dos fatores que podem promover a remoção de espécimes, parece ser a única alternativa para conservação da espécie no bloco Linhares / Sooretama em longo prazo e, provavelmente, na Mata Atlântica como um todo.

Para Soulé (1987), no cenário atual de perda e fragmentação de habitats, a conservação de muitas espécies de vertebrados, sobretudo aquelas que ocorrem em pequenas populações, será efetiva apenas a partir de ações colaborativas e que contem com a participação de diferentes organizações de conservação para garantir a manutenção de uma rede adequada de manejo composta por populações menores. Embora esta colocação tenha sido dita há mais de 25 anos, ela tem se tornado cada vez mais atual e sua aplicabilidade permeia a realidade de conservação de várias espécies, em diferentes biomas brasileiros, mas especialmente na Mata Atlântica.

5. Considerações Finais

O presente estudo demonstrou, por meio de simulações, a gravidade das ameaças e a vulnerabilidade da população de onças-pintadas no bloco Linhares / Sooretama, evidenciando a urgência na implementação de ações de manejo efetivas para a conservação da espécie na região em longo prazo.

Neste sentido, conforme apresentado nos capítulos anteriores, como estratégia para conservação da onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama, propõe-se o desenvolvimento de um conjunto ações, cujos resultados devem ser analisados de forma integrada:

- Avaliação da abundância e monitoramento sistemático e contínuo das populações de presas potenciais e consumidas pela onça-pintada na RNV e na Reserva Biológica de Sooretama (RBS) (Capítulos 1 e 2), incluindo a avaliação periódica da dieta da espécie para detecção de alterações no conjunto de espécies consumidas ao longo do tempo (Capítulo 2) e definição de ações específicas para conservação das espécies de presa em longo prazo (a ser definido com base nas avaliações de abundância e resultados do monitoramento);
- Combate às atividades de caça na RNV e na RBS (intensificação das ações em andamento), tanto no que se refere a seu efeito sobre a comunidade de presas, quanto ao risco de morte de onças-pintadas por caçadores (Capítulo 2);
- Investigação e monitoramento da dinâmica de doenças na população de onças-pintadas existente na região e identificação dos parasitos e do risco de contração de outras doenças a partir do contato com espécies exóticas, incluindo a implementação de ações para evitar que novas doenças sejam introduzidas à população, tais como: a avaliação da saúde e dos patógenos presentes nas espécies domésticas nos municípios vizinhos à RNV e à RBS, o tratamento ou eutanásia de animais domésticos infectados, a realização de campanhas de vacinação e vermifugação periódica de cães e gatos-domésticos nos municípios do entorno, e o recolhimento e encaminhamento adequado de animais errantes e daqueles encontrados no interior da RNV e da RBS (Capítulo 4);
- Não duplicação da Rodovia BR-101 no trecho de 15 km associados à RBS e à RNV, com a construção de novas passagens de fauna, a melhoria das estruturas

atualmente existentes e a instalação de redutores eletrônicos de velocidade e placas. Estas medidas são fundamentais para reduzir o risco de atropelamentos e evitar acidentes com espécimes silvestres, ressaltando ainda que a duplicação da rodovia pode acarretar a interrupção ou redução significativa do fluxo de espécimes entre a RNV e a RBS (Capítulo 5);

- Estruturação e implementação de programa integrado para manejo de indivíduos entre populações geneticamente conhecidas e geneticamente compatíveis de onça-pintada na Mata Atlântica, considerando a translocação ou a inseminação artificial de espécimes, visando o resgate genético das populações remanescentes (Capítulo 3);
- Continuidade do monitoramento da população de onças-pintadas presente no bloco Linhares / Sooretama visando à detecção de tendências de declínio e a definição de ações de proteção emergenciais para combater eventuais problemas que venham a ser detectados, incluindo a atualização e a complementação dos valores utilizados nas análises de viabilidade populacional, com a geração de dados específicos para a população também na RBS (parâmetros populacionais, diversidade genética, dieta e parasitologia, conforme procedimentos apresentados nos Capítulos 2, 3 e 4).

A acentuada perda de hábitat e o isolamento populacional, com redução das populações a um pequeno número de indivíduos, são aspectos comuns a todas as populações de onça-pintada na Mata Atlântica e fazem com que as ameaças à conservação da espécie sejam compartilhadas por diferentes populações. Além destas ameaças, destaca-se também a existência de outros fatores que acarretam riscos às populações remanescentes e que são comuns a outras áreas com presença atual da espécie no bioma, tais como proximidade ou associação com estradas e presença de

cães-domésticos, por exemplo. Neste contexto, embora a estratégia de conservação apresentada para a onça-pintada no bloco Linhares / Sooretama tenha sido desenvolvida com base nas ameaças diagnosticadas para a espécie na região de estudo, as ações propostas podem ser aplicáveis também a outras populações na Mata Atlântica, contribuindo para a conservação da espécie no bioma como um todo.

6. Referências Bibliográficas

BEISIEGEL, B.M.; SANA, D.A. & MORAES JR, E.A. 2012. The jaguar in the Atlantic Forest. *Cat News Special Issue*, 7: 14-18.

DESBIEZ, A.L.J.; TRAYLOR-HOLZER, K.; LACY, B.; BEISIEGEL, B.M.; BREITENMOSER-WÜRSTEN, C.; SANA, D.A.; MORAES JR, E.A.; CARVALHO JR, E.A.R.; LIMA, F.; BOULHOSA, R.L.P.; PAULA, R.C.; MORATO, R.G.; CAVALCANTI, S.M.C. & OLIVEIRA, T.G. 2012. Population Viability Analysis of jaguar populations in Brazil. *Cat News Special Issue*, 7: 35-37.

EIZIRIK, E.; INDRUSIAK, C.B. & JOHNSON, W.E. 2002. Analisis de la viabilidad de poblaciones de jaguar: evaluacion de parametros y estudios de caso en tres poblaciones remanentes del sur de Sudamerica. In: MEDELLÍN, R.A.; CHETKIEWICZ, C.; RABINOWITZ, A.; REDFORD, K.H.; ROBINSON, J.G.; SANDERSON, E. & TABER, A. (Org.). 2002. *El jaguar en el nuevo milenio: una evaluación de su condición actual, historia natural y prioridades para su conservación*. Mexico, D.F.: Prensa de la Universidad Nacional Autónoma de México / Wildlife Conservation. p. 501-518.

GITTLEMAN, J.L.; FUNK, S.; MACDONALD, D.W. & WAYNE, R.K. (Eds.). 2001. *Carnivore Conservation*. Cambridge: Cambridge University Press.

HENLE, K.; DAVIES, K.F.; KLEYER, M.; MARGULES, C. & SETTELE, J. 2004. Predictors of species sensitivity to fragmentation. *Biodiversity and Conservation*, 13: 207–251.

KELLY, M.J. & DURANT, S.M. 2000 Viability of the Serengeti Cheetah population. *Conservation Biology*, 14: 786-797.

LACY, R.C.; BORBAT, M. & POLLAK, J.P. 2012. VORTEX: A Stochastic Simulation of the Extinction Process. Version 9.99. Brookfield, IL: Chicago Zoological Society.

LINDENMAYER, D.B.; CLARK, T.W.; LACY, R.C. & THOMAS, V.C. 1993. Population viability analysis as a tool in wildlife conservation policy: With reference to Australia. *Environmental Management*, 17: 745-758.

MAEHR, D.S.; LACY, R.C.; LAND, E.D.; BASS JR., O.L. & HOCTOR, T.S. 2002. Evolution of Population Viability Assessments for the Florida Panther: A Multiperspective Approach. In: BEISSINGER, S.R. & MCCULLOUGH, D.R. (Eds.). 2002. *Population Viability Analysis*. Chicago: University of Chicago Press. p. 284-311.

MILLER, P.S. & LACY, R.C. 2005. VORTEX: A Stochastic Simulation of the Extinction Process. Version 9.50 User's Manual. Apple Valley, Minnesota: Conservation Breeding Specialist Group (SSC/IUCN).

MURAYAMA, A. 2008. The Tsushima Leopard Cat (*Prionailurus bengalensis euphilura*): Population Viability Analysis and Conservation Strategy. Dissertação: Mestrado. Imperial College London, Inglaterra.

SEAL, U.S. & LACY, R.C. 1989. Florida panther population viability analysis and recommendations. Report to the U.S. Fish and Wildlife Service. Apple Valley, Minnesota: Captive Breeding Specialist Group (SSC/IUCN).

SEAL, U.S.; SOEMARNA, K. & TILSON, R. 1994. Population biology and analysis for Sumatran tigers. In: TILSON, R. L.; SOEMARNA, K.; RAMONO, W.; LUSLI, S.;

TRAYLOR-HOLZER, K. & SEAL, U.S. (Eds.). 1994. Sumatran tiger population and habitat viability analysis report. Apple Valley, Minnesota: Indonesian Directorate of Forest Protection and Nature Conservation and Conservation Breeding Specialist Group (SSC/ IUCN). p. 45-70.

SOLLMANN, R.; TÔRRES, N.M. & SILVEIRA, L. 2008. Jaguar Conservation in Brazil: The Role of Protected Areas. *Cat News Special Issue*, 4: 15-20.

SOULÉ, M.E. 1987. *Viable populations for conservation*. Cambridge: Cambridge University Press.

THOMAS, C.D. 1990. What Do Real Population Dynamics Tell Us About Minimum Viable Population Sizes? *Conservation Biology*, 4: 324-327.

WIESE, R.; WILDT, D.; BYERS, A. & JOHNSTON, L. 1994 Tiger population management. In: TILSON, R. L.; SOEMARNA, K.; RAMONO, W.; LUSLI, S.; TRAYLOR-HOLZER, K. & SEAL, U.S. (Eds.). 1994. Sumatran tiger population and habitat viability analysis report. Apple Valley, Minnesota: Indonesian Directorate of Forest Protection and Nature Conservation and Conservation Breeding Specialist Group (SSC/ IUCN). p. 71-74.

WILKINSON, D.M. & O'REGAN, H.J. 2003. Modelling differential extinctions to understand big cat distribution on Indonesian Islands. *Global Ecology & Biogeography*, 12: 519-524.

ZAR, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall International.

ANEXO FOTOGRÁFICO



Figura 1: Divisa da Reserva Natural Vale (Linhares / ES) com propriedades rurais.

[Fotos: Ana Carolina Srbek de Araujo]



Figura 2: Mata de Tabuleiro. [Foto: Vinícius Albergaria]



Figura 3: Mussununga. [Fotos: Ana Carolina Srbek de Araujo]



Figura 4: Campo Nativo. [Fotos: Geovane Souza Siqueira (imagem superior esquerda) e Ana Carolina Srbek de Araujo (demais imagens)]



Figura 5: Áreas Alagadas. [Fotos: Ana Carolina Srbek de Araujo]



Figura 6: Corpos D'água – Rio Barra Seca (imagem superior) e Córrego Rancho Alto (imagem inferior). [Fotos: Ana Carolina Srbek de Araujo]



Figura 7: Estradas Internas – Estrada do Flamengo (imagem superior) e Aterro Rancho Alto (imagem inferior). [Fotos: Ana Carolina Srbek de Araujo]



Figura 8: Onças-pintadas (machos) registradas na Reserva Natural Vale (Linhares / ES): VDR, Po06 e CRG (de cima para baixo). [Fotos: Projeto Felinos RNV]



Figura 9: Onça-pintada jovem (fêmea Po05) registrada na Reserva Natural Vale (Linhares / ES). [Foto: Projeto Felinos RNV]



Figura 10: Indicativo de comportamento reprodutivo na Reserva Natural Vale (Linhares / ES): macho VDR e fêmea TCB. [Foto: Projeto Felinos RNV]