



# IDENTIFICAÇÃO DE INDIVÍDUOS ATRAVÉS DE FERRAMENTAS MOLECULARES NÃO - INVASIVAS: ESTIMANDO O TAMANHO MÍNIMO POPULACIONAL DE UM MEGA - MAMÍFERO, A ANTA (*TAPIRUS TERRESTRIS*)

Tamissa G. Godoi<sup>1</sup>

Alexandra Sanches<sup>1</sup>; Paola M. Tokumoto<sup>1</sup>; Mauro Galetti<sup>1</sup>; Elson F. Lima<sup>2</sup>; Paul F. Colas - Rosas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNESP - Departamento de Ecologia Laboratório de Biologia da Conservação Rio Claro, SP, Brasil E - mail: tamigo-doi@gmail.com. <sup>2</sup> Casa da Floresta Assessoria Ambiental Ltda - Av. Joaquina Morganti, nº 289, Monte Alegre, Piracicaba, Brasil. CEP 13415 - 030. Fone/Fax: 19.3433.7422.

## INTRODUÇÃO

Estimativas de tamanho populacional são importantes para propostas de conservação e para o manejo de espécies. No entanto, estas estimativas podem ser de difícil obtenção, especialmente para espécies raras ou elusivas (Bellemain *et al.*, 2005), como a anta (*Tapirus terrestris*), um animal de hábito noturno e solitário, tornando custosos os estudos populacionais com técnicas tradicionais de campo (Norton & Ashley, 2004). Estimativas de tamanho populacional de antas vêm sendo feitas com o uso de câmeras - trap, no entanto estas não se mostram muito eficazes devido ao fato de a espécie não possuir características fenotípicas que permitam a identificação individual com segurança (Oliveira - Santos *et. al.*, 2010). Outros métodos como telemetria e transecção linear também podem ser utilizados para fins de estimativa populacional. Entretanto, o primeiro além de se tratar de um método invasivo, exige um grande esforço amostral para captura dos animais a fim de instalar os colares, enquanto que o segundo não se aplica a organismos elusivos e de hábitos noturnos como a anta e altera o comportamento dos animais durante a aproximação do pesquisador (Médici, 2010). Desta forma, métodos não invasivos, como análises moleculares utilizando fezes como fonte de DNA, trazem vantagens como logística simples, relativamente econômico e não há necessidade de ver ou perturbar o animal (Bellemain *et al.*, 2005; Médici, 2010). Essas vantagens

são essenciais principalmente para o estudo de espécies ameaçadas, como a anta (“Vulneráveis à extinção” categoria A2cde+3cde; IUCN - International Union for Conservation of Nature). A anta, abundante em muitas partes da Amazônia, tornou - se extremamente rara na Mata Atlântica devido à pressão de caça, perda de habitat, degradação e fragmentação (Cullen *et al.*, 2000). No Cerrado, mesmo em locais com vastas áreas de criação de gado, ocorre a caça destes grandes animais (Sanches *et al.*, 2011), onde a espécie é pouco conhecida, com escassos trabalhos de censos populacionais.

## OBJETIVOS

Considerando a situação problema descrita, este trabalho pretende, através das análises genéticas não - invasivas utilizando amostras fecais, realizar identificação individual de *Tapirus terrestris* na Fazenda Barra do Moeda, pertencente à Fibria Celulose S/A (Unidade Três Lagoas, MS) para estimativa do tamanho mínimo populacional.

## MATERIAL E MÉTODOS

A vegetação no local de estudo é composta predominantemente por plantações de eucalipto, com a presença de dois grandes fragmentos de cerrado. As fezes frescas foram coletadas por busca ativa, georreferenciadas

e os pontos de coleta plotados para interpretação referente à movimentação dos animais. O DNA foi extraído com a utilização de kits comerciais específicos para este tipo de material. Os genótipos das amostras de DNA estão sendo obtidos através da utilização dos marcadores microssatélites desenvolvidos para a anta (Sanches *et al.*, 2009) e a identificação dos alelos foi realizada por serviços de terceiros em seqüenciador automático. Além disso, dado que trata - se de amostras não invasivas, o que remete a um DNA de baixa qualidade, cada PCR foi replicada para confirmação do genótipo encontrado. A identificação individual foi realizada com a utilização do programa GIMLET (Valière, 2002) em que os genótipos obtidos para os diferentes loci analisados foram analisados em conjunto. A estimativa da probabilidade de identidade (PI), que se trata da probabilidade que dois indivíduos em uma população tem de compartilhar os mesmos genótipos, também foi realizada neste mesmo programa.

## RESULTADOS

Foram coletadas e georreferenciadas 41 amostras de fezes. A extração de DNA foi realizada para todas, bem como amplificações de locos microssatélites de interesse. Do total de amostras, 14 tiveram pelo menos dois e até cinco locos genotipados, o que possibilitou uma análise prévia da identificação dos indivíduos. O conjunto dos locos mostrou uma PI no valor de  $1,86 \times 10^{-19}$ . Este dado indica que a probabilidade de dois indivíduos compartilharem os mesmo genótipos é extremamente baixa e que, portanto, o poder de identificação individual dos locos é alto. Para as 14 amostras analisadas no GIMLET, foram encontrados pelo menos 10 genótipos distintos, ou seja, existem ao menos 10 indivíduos em uma área de 5270,2 ha, sendo que deste total, 1923,2 ha são de vegetação nativa de Cerrado. Em levantamento bibliográfico realizado por Médici, 2010, verificou - se que a densidade de antas (obtida por transecção linear e câmeras - trap) em uma área de transição Cerrado - Pantanal na Bacia do Rio Paraguai é em média de 2,19 antas/ km<sup>2</sup>, enquanto que o presente estudo encontrou 0,52/km<sup>2</sup>, considerando somente a área de vegetação nativa. Se considerarmos também a área de eucalíptos, esta densidade seria ainda menor. Vale ressaltar que estas diferenças de densidade podem ser reflexos de diferenças metodológicas para obtenção do número de indivíduos. No entanto, a análise das demais amostras e a inclusão de novos locos possibilitará uma melhor comparação da densidade populacional encontrada

com outros trabalhos.

## CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou que os métodos de análises moleculares não invasivas podem ser úteis na obtenção de estimativas de um tamanho mínimo populacional, especialmente no caso de espécies elusivas e ameaçadas. Ademais, a análise das demais amostras e a inclusão de mais locos microssatélites possibilitará novas informações sobre a população de estudo e posterior comparação com outras áreas onde a anta habita. (Agradecemos à Fibria Celulose S/A pela autorização, à Casa da Floresta Assessoria Ambiental pelo apoio e suporte na execução do trabalho no local e à Fapesp pelo financiamento do projeto).

## REFERÊNCIAS

Bellemain, E.; Swenson, J.E.; Tallmon, D.; Brunberg, S.; Taberlet, P. 2005. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter - collected feces: four methods for brown bears. *Conservation Biology*, 19 (1): 150 - 161. Cullen, L.Jr.; Bodmer, R.E.; Padua, C.V. 2000. Effects of hunting in habitat fragments of the Atlantic forests, Brazil. *Biological Conservation*, 95: 49 - 56. Médici, E. P. 2010. Assessing the Viability of Lowland Tapir Populations in a Fragmented Landscape. 2010. 292 f. Tese (Doutorado) - University Of Kent, Canterbury. Norton, J.E.; Ashley, M.V. 2004. Genetic variability and population structure among wild Baird's tapirs. *Anim Cons* 7:21120. Oliveira - Santos, L. G.R.; Zucco, C. A.; Antunes, P.C.; Crawshaw Jr., P.G. 2010. Is it possible to individually identify mammals with no natural markings using camera - traps? A controlled case - study with lowland tapirs. *Mamm. biol.* 75: 375378. Sanches, A.; Figueiredo, M.G.; Hatanaka, T.; Paula, F.F.P.; Silveira, L.; Jácomo, A.T.A.; Galetti Jr., P.M. 2009. Microsatellite loci isolated from the lowland tapir (*Tapirus terrestris*), one of the largest Neotropical mammal. *Conservation Genet Resour*, 1:115117. Sanches, A.; Perez, W.A.M.; Figueiredo, M.G.; Rossini, B.C.; Cervini, M.; Galetti Jr., P.M.; Galetti, M. 2011. Wildlife forensic DNA and lowland tapir (*Tapirus terrestris*) poaching. *Conservation Genet Resour*, 3:189 - 193. Valiere, N. 2002. GIMLET: a computer program for analyzing genetic individual identification data. *Molecular Ecology Notes*, 2: 377 - 379.