

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Filogeografia da espécie *Subulo gouazoubira***  
**(Mammalia: Cervidae) na Caatinga**

Isabel Luiza de Melo Nunes Freire Lima  
Bióloga, Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente  
(Genética da Conservação)

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Filogeografia da espécie *Subulo gouazoubira***  
**(Mammalia: Cervidae) na Caatinga**

Discente: Ma. Isabel Luiza de Melo Nunes Freire Lima

Orientador: Dr. José Maurício Barbanti Duarte

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento Animal

L732f

Lima, Isabel Luiza de Melo Nunes Freire

Filogeografia da espécie *Subulo gouazoubira* (Mammalia: Cervidae) na Caatinga / Isabel Luiza de Melo Nunes Freire Lima. -- Jaboticabal, 2023

123 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: José Maurício Barbanti Duarte

1. DNA fecal não-invasivo. 2. Floresta Estacional Seca. 3. Genética populacional. 4. veado-catingueiro. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: FILOGEOGRAFIA DA ESPÉCIE *Subulo gouazoubira* (Mammalia: Cervidae) NA CAATINGA

AUTORA: ISABEL LUIZA DE MELO NUNES FREIRE LIMA

ORIENTADOR: JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Genética e Melhoramento Animal, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE (Participação Presencial)  
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE  
Data: 02/04/2023 19:18:16-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Pesquisador Dr. JOSÉ ANDERSON FEIJÓ DA SILVA (Participação Virtual)  
Institute of Zoology/Chinese Academy of Sciences / Chaoang District/Beijing

Profa. Dra. ANA PAULA CARMIGNOTTO (Participação Virtual)  
UFSCar / Sorocaba/SP

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ANA PAULA CARMIGNOTTO  
Data: 04/04/2023 09:50:49-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. ANA CAROLINA D OLIVEIRA PAVAN (Participação Virtual)  
Instituto de Biociências / Universidade de São Paulo - SP

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ANA CAROLINA D OLIVEIRA PAVAN  
Data: 03/04/2023 22:27:52-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. ELIAS ALBERTO GUTIERREZ CARNELOSSI (Participação Virtual)  
Universidade Federal de Sergipe - Campus do Sertão / Nossa Senhora da Glória/SE

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ELIAS ALBERTO GUTIERREZ CARNELOSSI  
Data: 02/04/2023 20:21:20-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Jaboticabal, 31 de março de 2023

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**Isabel Luiza de Melo Nunes Freire Lima** – graduada em Ciências Biológicas/Lic. em abril de 2013, pela Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória. Durante sua graduação, trabalhou em parceria com o Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (Nupecce) desde 2010, e foi bolsista de três iniciações científicas PIBIC/CNPq (2010, 2011 e 2012) junto ao departamento de Biologia (UFPE/CAV). Titulada no ano de 2016 como mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente, área de concentração Genética da Conservação, pela Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória. Ingressou no presente curso de doutorado em Genética e Melhoramento Animal (atual Ciência Animal) em agosto de 2018 e, durante a execução deste trabalho, foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Desde então, tornou-se integrante do Nupecce, desenvolvendo pesquisas na área de Genética de Populações e Filogeografia. Além dos estágios docência obrigatórios, cumpriu dois semestres como responsável da disciplina de Biologia da Conservação para o curso de Bacharelado em Ciências Biológicas – Eixo Meio Ambiente – na Universidade Estadual Paulista/FCAV – campus Jaboticabal.

O sertão é sem lugar.  
O sertão é do tamanho do mundo.  
O sertão é dentro da gente.  
O sertão é uma espera enorme.

Guimarães Rosa - Grande Sertão  
Veredas

Dedico este trabalho à Caatinga e a  
toda resiliência apresentada, tanto  
pelo bioma quanto pelo povo  
sertanejo.

## AGRADECIMENTOS

Não posso começar estes agradecimentos por outras pessoas que não sejam para as minhas avós. A paterna, não conhecida, sempre me inspirou pela sua garra e força de uma mulher que saiu de um quadro de pobreza da Zona da Mata pernambucana e inspirou meu pai e meus tios ao estudo acadêmico. A materna, com quem tive a honra do convívio, me deu influência direta ao estudo da Biologia, aos valores e princípios que baseiam minha trajetória e o amor pelo ensino. Por tudo que representam à minha essência lhes sou eternamente grata.

Agradeço aos meus pais, Eliane e Clovis, que sempre me deram o suporte necessário para que eu tivesse acesso às melhores oportunidades, num lar de muito aprendizado e fortalecimento familiar. Meu irmão Clécio, minha cunhada Carol, meus sobrinhos Gael e Bento (Filho de minha querida Amanda), vocês me baseiam em muito amor e vontade pra seguir.

Meus clãs familiares das famílias de Melo Nunes (minha prima Cristiane, tão presente) e Freire Lima (nas figuras de meu Tio Tomás e minha amada “primã” Fernanda), toda gratidão pelo suporte emocional, estrutural e financeiro, desde as primeiras tentativas de cursar este doutorado.

Sigo os agradecimentos os poucos e bons amigos, e aos mais presentes Rosana, Messias, Arthur, Adriana, Crislaine, que seguraram minha mão e muitas vezes sem isso eu não levantaria. Como os apelido carinhosamente, meu “vínculos vitais”.

Tão primordiais quanto, aos amigos do Sudeste que encontrei em Jaboticabal, em destaque aos que me foram casa: Cláudia, Branca, Isa Rodrigues, Lúcia, Edson, Agda e Pedro. Fabi, Isa Trentini, Lipe, Ana Paula, Bruna, Dona Débora, Déa, Michele, todos que fazem a Casa do Pai Tobias, TODOS VOCÊS fazem parte da minha história.

Chegando ao Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, o Nupecce, casa que me foi sonho durante toda minha formação acadêmica desde 2010, meu agradecimento principal à trajetória e exemplo do Prof. Maurício Barbanti, que sempre me inspirou a querer alcançar um posto ao seu lado para aprender sobre a conservação de cervídeos neotropicais. Sem esquecer que esse acesso me foi passado pelos anos de trabalho com o Prof. José Eduardo Garcia, meu orientador pelos oito anos de formação em pesquisa, em Pernambuco.

Aos aliados do Nupecce, em que convivi como uma grande família, muito obrigada! Em destaque, Cláudia, Agda, Maria Helena, Elu, Thay, Laís, Bianca e Eveline, braços direito e esquerdo na trajetória. Sem esquecer de Liss “Regina” e Jeferson que foram extensões do meu corpo e mente, seja no horário comercial ou beirando a 1h da manhã, e me auxiliaram com louvor para que eu burlasse os contratempos dos atrasos alheios e que quase colocaram esta pesquisa em perda.



Aos colegas Pedro, Chico e Rullian, toda gratidão pela generosidade no compartilhamento das experiências acadêmicas e de campo, tão essenciais para a minha formação e execução deste trabalho.

Ao Leonardo, do Canil Karaíbas, gratidão pelo profissionalismo e amizade nos ensinamentos da tutoria de cães farejadores e todo o suporte disponibilizado para que a expedição de campo ganhasse as adequações necessárias.

Agradeço a oportunidade de conduzir a cadela Nicks, como parceira de trabalho e expedição. Creiam, eu vivi uma das experiências mais incríveis da minha vida ao conviver com tanta lealdade e companheirismo num trabalho tão sonhado, num bioma tão amado.

Devo gratidão eterna a todas as mãos que fizeram a expedição de coleta de campo, durante os 5 meses em que rodei todos os estados da Caatinga. São tantos nomes, rostos, casas, refeições, ajudas nas coletas, guardidas, apoios emocionais e estruturais, que eu não conseguiria expressar tudo em menos de 100 páginas. A todos os gestores e brigadistas do ICMBio que me foram de total apoio e aprendizado, minha alta gratidão. O apoio de Yan e a todos que fazem a Associação Caatinga na Paraíba, aos mateiros e caçadores com quem troquei conhecimento e consciência, aos sitiantes que sabiam do meu trabalho e me acolhiam pelo que me creditavam coragem, esse trabalho não existiria sem vocês.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista - Campus Jaboticabal por ser minha casa de aprendizado e experiência profissional na pesquisa e no ensino, me permitindo experiências memoráveis com meus alunos de graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 01

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>6</b>
2.1. A Família Cervidae .....	6
2.2. Cervídeos Neotropicais .....	9
2.3. <i>Subulo gouazoubira</i> e suas características na Caatinga.....	17
2.4. Caatinga: Biogeografia, Ecorregiões e Histórico de Cervídeos .....	25
2.5. Contribuições da Filogeografia para os Cervídeos da Caatinga .....	35
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
3.1. Amostras de Referência .....	39
3.2. Amostragem Fecal .....	42
3.3. Coleta de Fezes em Campo .....	43
3.4. Extração, Amplificação e Sequenciamento das Amostras Fecais.....	45
3.5. Tratamento da Matriz de Dados Moleculares.....	47
3.6. Análises de Genética Populacional e Demografia.....	48
3.7. Análises Filogeográficas e Filogenéticas.....	50
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>52</b>
4.1. Coleta e Triagem de Amostras Fecais de Cervidae .....	52
4.2. Amplificação, Sequenciamento e Matrizes Moleculares .....	55
4.3. Diversidade Genética e Inferências Demográficas.....	56
4.4. Inferências Filogeográficas e Filogenéticas.....	63
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>71</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>79</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>81</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>104</b>
APÊNDICE A .....	105
APÊNDICE B .....	107
APÊNDICE C .....	109
APÊNDICE D .....	113

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Relações filogenéticas de cervídeos neotropicais (Odocoileini: Capreolinae: Cervidae) inferidas a partir do gene mitocondrial Citocromo b. Fonte: Duarte et al. (2008). ..... 12
- Figura 2.** Espécimes adultos de uma espécie do gênero *Subulo* Fischer, 1814, seguida de outra espécie do gênero *Passalites* Cuvier, 1817 e outras quatro espécies do gênero *Mazama* Rafinesque, 1817 que ocorrem no território brasileiro: (A) veado-catingueiro (*S. gouazoubira*, Fischer, 1814), (B) veado-roxo (*P. nemorivagus*, Cuvier, 1817); (C) veado-mateiro (complexo *M. americana*, Erxleben, 1777), (D) veado-da-mão-curta (*M. nana* (Hensel, 1872)), (E) veado-mateiro- bororó (*M. jucunda*, Thomas, 1913) e (F) Veado-mateiro (*M. rufa*, Illiger, 1915). Imagens: José Maurício Barbanti Duarte. .... 15
- Figura 3.** Distribuição geográfica do Veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) na América do Sul. Fonte: Silva-Caballero; Ortega, 2022. .... 18
- Figura 4.** Características morfológicas de *Subulo gouazoubira*. Fonte: adaptado de Azevedo et al. (2021). .... 20
- Figura 5.** Cariótipo padrão de um macho da espécie *S. gouazoubira* ( $2n=70$ ;  $NF=70$ ), sob coloração convencional (Giemsa). Fonte: Abril et al, 2010. .... 21
- Figura 6.** Delimitação da Região Intertropical Brasileira. Adaptado de Oliveira et al, 2017. .... 27
- Figura 7.** Províncias biogeográficas da Região Neotropical. Fonte: Morrone et al. (2022) com adaptação de Oliveira et al. (2017). .... 29
- Figura 8.** Ecorregiões da Caatinga (Velloso et al. 2002). .... 31
- Figura 9.** Demonstração dos mapas de distribuição do bioma Caatinga, em que (a) estão inseridas as oito ecorregiões propostas por Velloso et al (2002) e (b) nos que está com delimitação atualizada proposta por Silva et al. (2017a). Fonte: Tabarelli et al, 2018. .... 33
- Figura 10.** Pontos de coleta da amostragem fecal especializados nos 7 estados coletados. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara. .... 40
- Figura 11.** (A) Nicks, a cadela farejadora, auxiliar no encontro de fezes de cervídeos, equipada com coleira rastreadora e com seu brinquedo de recompensa. (B) Registro da postura de encontro da amostra na detecção de faro, na Caatinga. .... 44
- Figura 12.** Processamento prévio dos cíbalos fecais para os posteriores

procedimentos laboratoriais. A – Mesa de preparo das amostras a serem extraídas, incluindo etapa de assepsia do instrumental utilizado (água, cloro 2%, álcool 70% e chama de lamparina); B – Cíbaló selecionado; C – Cíbaló processado para extração de DNA. .... 45

**Figura 13.** Variações das amostras fecais coletadas. 1- Esec de Aiuaba (CE); 2 e 3– Flona de Negreiros (PE); 4 - Variação de formas encontradas na Microregião do Seridó Oriental Meridional (PB). .... 54

## APÊNDICE A

**Figura 1A.** Gráfico de saturação por substituição. Transições (S, em azul) e transversões (V, em verde) em função da distância genética, calculada par-a-par através do modelo TN93. A análise foi realizada para 18 sequências de cervídeos das matrizes de referência completa (4001 pb), ND2 (1140 pb), ND5 (1820 pb) e Cit-b (1141 pb). E também, na 3ª posição do códon dos genes Cit-b (488 pb) e ND5 (393 pb) e ND2 (238pb). .... 105

**Figura 2A.** Gráfico de saturação por substituição. Transições (S, em azul) e transversões (V, em verde) em função da distância genética, calculada par-a-par através do modelo TN93, para 53 sequências de cervídeos da matriz de DNA fecal completa (1179 pb). .... 106

## APÊNDICE C

**Figura 1C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial Citocromo b das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os números nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. .... 110

**Figura 2C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial ND2 das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os números nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. .... 111

**Figura 3C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial ND5 das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os números nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. .... 112

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo das informações sobre as ecorregiões da Caatinga. ....	32
<b>Tabela 2.</b> Espécies da família Cervidae registradas do final do Pleistoceno e início do Holoceno no Nordeste brasileiro. Abreviações: BA, Bahia; PE, Pernambuco; PB, Paraíba; RN, Rio Grande do Norte; PI, Piauí. ....	34
<b>Tabela 4.</b> Locais de estudo selecionadas para amostragem fecal. Siglas: Id= identificação da área de estudo, PN=Parque Nacional, EE=Estação Ecológica, PE= Parque Estadual, FN= Floresta Nacional, PI= Unidade de Conservação de Proteção Integral, UF=Unidade da Federação, US = Uso Sustentável, PP = Propriedade Particular.....	41
<b>Tabela 3.</b> Lista de indivíduos e identificação das sequências de referência utilizadas na matriz de referência para análises filogenética e filogeográficas (Odocoileini:Capreolinae:Cervidae).....	42
<b>Tabela 5.</b> Características dos iniciadores para amplificação do DNA fecal. ....	46
<b>Tabela 6.</b> Sumário das localidades das amostras coletadas. ....	52
<b>Tabela 7.</b> Informações da matriz nucleotídicas das amostras de referência e das matrizes derivadas dela, e da matriz de DNA fecal completa. PICs= “parsimony informative characters”; pb= pares de base. ....	55
<b>Tabela 8.</b> Representação dos grupamentos das populações de acordo das barreiras analisadas, e suas respectivas amostras representativas. ....	56
<b>Tabela 9.</b> Valores de distância genética entre os grupos separados pelas barreiras geográfica. ....	57
<b>Tabela 10.</b> Valores de diversidade genética. h: número de haplótipos; Hd: diversidade haplotípica; S: número de sítios polimórficos (incluindo gaps); k: número médio de diferenças nucleotídicas; $\pi$ : diversidade nucleotídica .....	57
<b>Tabela 11.</b> Valores dos testes de neutralidade para toda a amostragem. ....	58
<b>Tabela 12.</b> Diversidade genética dos 4 grupamentos de populações representativas da Caatinga. Abreviações: n, número de sequências; Hd, diversidade haplotípica; H, número de haplótipos identificados; $\pi$ , diversidade de nucleotídeos; S, número de sítios polimórficos. ....	58
<b>Tabela 14.</b> Valor de Fst definidas pela AMOVA par a par .....	61
<b>Tabela 15.</b> Relação de valores de Fst nas comparações par a par entre os grupamentos. A – Valores de Fst; B – Valores de significância p. ....	62

**APÊNDICE B**

<b>Tabela 1B.</b> Lista das localidades amostradas com pontos de georeferenciamento. ....	107
---	-----

**APÊNDICE C**

<b>Tabela 1C.</b> Relação entre os haplótipos compartilhados nas análises de cada fragmento de gene e suas ecoregiões provenientes. ....	109
--	-----

## Filogeografia da espécie *Subulo gouazoubira* (Mammalia; Cervidae) na Caatinga

**RESUMO** - A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro e apresenta a biodiversidade expressiva, contendo várias espécies endêmicas, e que sofrem com as variações climáticas e ações antrópicas que reduziram pela metade sua cobertura natural. A mastofauna nesta região não é bem conhecida devido à escassez de conhecimento científico fundamental, relacionado à sua taxonomia, história natural e distribuição. O bioma se distribui em sete ecoregiões e possui populações silvestres que sofrem com os impactos ambientais gerados pela fragmentação de habitat, caça e agravo dos processos de desertificação. Nesse contexto, o veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*), é o principal representante dos cervídeos neotropicais na Caatinga. A espécie que apresenta divergência recente em relação ao gênero *Mazama*, possui ancestrais com rápida diversificação ( $\cong 1,6$  Ma) pela América do Sul. Dessa forma, o presente trabalho prospectou populações de veado-catingueiro nesta região do Nordeste, através de amostragem não invasiva, a fim de caracterizar a organização da sua genética populacional na diversidade ambiental do bioma. E desta forma, auxiliar na compreensão das distribuições das linhagens genéticas que ocorrem na Caatinga, entendendo seus perfis filogeográficos. Através de três marcadores mitocondriais (CIT B + ND2 + ND5) foram realizadas análises de genética populacional, demográficas, filogenética e filogeográficas. Os resultados demonstram que as subpopulações amostradas apresentam baixa diferenciação e que não há evidência de isolamento por distância na distribuição das linhagens, o que denota a manutenção de fluxo gênico entre elas. Uma baixa estruturação dentro de cada subpopulação e não entre elas, denota a diversidade haplotípica de cada subpopulação na demarcação filopátrica das fêmeas. Ademais, essas subpopulações detêm valores de diversidade haplotípica e nucleotídica baixas a moderadas. Análises demográficas apontam para um cenário de população em expansão, com oscilações demográficas causadas por gargalos populacionais seguidos de processos expansivos súbitos. A alta diversidade haplotípica da amostragem total é refletida numa rede de haplótipos únicos que demonstram relações genealógicas, convergindo com a hipótese dos grupamentos populacionais separados por barreiras ao fluxo gênico. Esta diversidade também está refletida na filogenia apresentada com presença de politomia entre alguns indivíduos amostrados, e são agrupados em um clado exclusivo dos demais espécimes de veado-catingueiro. Estes resultados abrem indícios para aprofundamento de estudos da possibilidade de uma Unidade Genética para a população. Além disso, apontam a necessidade de planejamento de conservação, preservando seu potencial adaptativo aliado a redução dos impactos ambientais.

**Palavras-chave:** DNA fecal não-invasivo, Floresta Estacional Seca, Genética populacional, Veado-catingueiro.

## Phylogeography of the species *Subulo gouazoubira* (Mammalia; Cervidae) in the Caatinga

**ABSTRACT** - The Caatinga is an exclusively Brazilian biome and has an expressive biodiversity, containing several endemic species, which suffer from climate variations and anthropic actions that have reduced its natural cover by half. The mammalian fauna in this region is not well known due to the scarcity of fundamental scientific knowledge related to its taxonomy, natural history and distribution. The biome is distributed in seven ecoregions and has wild populations that suffer from the environmental impacts generated by habitat fragmentation, hunting and worsening desertification processes. In this context, the brocket deer (*Subulo gouazoubira*) is the main representative of the Neotropical deer in the Caatinga. The species that presents recent divergence in relation to the genus *Mazama*, has ancestors with rapid diversification ( $\cong 1.6$  Ma) across South America. Thus, the present work prospected populations of brown deer in this region of the Northeast, through non-invasive sampling, in order to characterize the organization of its population genetics in the environmental diversity of the biome. And in this way, help in understanding the distributions of genetic lineages that occur in the Caatinga, understanding their phylogeographic profiles. Using three mitochondrial markers (CIT B + ND2 + ND5) population genetic, demographic, phylogenetic and phylogeographic analyzes were performed. The results demonstrate that the sampled subpopulations present low differentiation and that there is no evidence of isolation by distance in the distribution of lineages, which denotes the maintenance of gene flow between them. A low structure within each subpopulation and not between them denotes the haplotypic diversity of each subpopulation in the philopatric demarcation of females. Furthermore, these subpopulations have low to moderate values of haplotypic and nucleotide diversity. Demographic analyzes point to a scenario of an expanding population, with demographic oscillations caused by population bottlenecks followed by sudden expansion processes. The high haplotypic diversity of the total sample is reflected in a network of unique haplotypes that demonstrate genealogical relationships, converging with the hypothesis of population groups separated by barriers to gene flow. This diversity is also reflected in the phylogeny presented with the presence of polytomy among some individuals sampled, and they are grouped in an exclusive clade of the other specimens of brown deer. These results open up evidence for deepening studies of the possibility of a Genetic Unit for the population. In addition, they point to the need for conservation planning, preserving its adaptive potential combined with the reduction of environmental impacts.

**Keywords:** fecal DNA, Gray Brocket, Non-invasive sampling, Population genetics, Seasonal Dry Forest.



## Capítulo 1

### 1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é o único bioma do Brasil que contém seus limites inteiramente restritos ao território nacional, abrangendo pouco mais de 912 mil km<sup>2</sup> da região Nordeste. Ela é caracterizada pelo clima quente e semiárido, com baixa umidade relativa que contribui para evapotranspiração e temperaturas altas, e por apresentar um mosaico de fitofisionomias diferentes (Nimer, 1972; Velloso et al., 2002; De Albuquerque et al., 2012a). Possui um regime de chuvas irregular devido uma variabilidade espacial e temporal que reflete em microclimas distintos pela distribuição do bioma (Silva et al., 2017a). E mesmo com grande extensão sobre oito Estados brasileiros, a região possui menos 2% de Unidades de Conservação de Proteção Integral, como também menos 7% de sua área está sob proteção de alguma Unidade de Conservação de Uso Sustentável (Leal et al., 2005; Fonseca et al., 2018)

É considerada uma unidade biogeográfica, sendo a maior, mais isolada e biodiversa entre as Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (FTSSs), apresentando espécies endêmicas de ampla distribuição (Queiroz, 2006), e sendo a FTSS mais populosa entre as outras existentes no mundo (Silva et al., 2017a). Alguns fatores bióticos e abióticos delimitam nove ecoregiões dentro da Caatinga, que estariam relacionadas à diversificação e distribuição das espécies no bioma (Velloso et al., 2002; Werneck et al. 2011; Silva et al., 2017a). Mesmo podendo apresentar histórias evolutivas únicas, estas unidades regionais são interdependentes e compartilhadas evolutivamente (Graham e Fine, 2008). As características relacionadas ao solo, sistema de chuvas ou variações de altitude, entre outras, podem estar envolvidas na distribuição heterogênea de espécies de um bioma e na composição das comunidades biológica como um todo (Peres-Neto e Kembel, 2015).

Ganem (2017) supõe valores da biodiversidade altos, tendo em vista que 41% da região nunca foi investigada e 80% permanece subamostrada. Ademais, atividades agrícolas têm influenciado a diminuição da biodiversidade, enfraquecimento de processos e serviços ecossistêmicos, taxas negativas de crescimento das populações e alteração do comportamento animal (Costa et al.,

2009; De Albuquerque et al., 2012a; Da Silva et al., 2017).

Mesmo com uma proporção significativa de espécies compartilhadas com biomas vizinhos, como a Amazônia e o Cerrado (Carmignotto et al., 2012), a Caatinga possui uma alta percentagem de espécies endêmicas e mamíferos próprios de áreas abertas. Dentre essas espécies, temos os representantes da família Cervidae, mais especificamente do gênero *Mazama* Rafinesque 1817, e que estão presentes em toda região Neotropical (Duarte et al., 2008).

É o gênero mais diverso dentre os cervídeos neotropicais e suas espécies são caracterizadas pela rápida diversificação, convergência morfológica e lacunas na sua sistemática, dificultando a classificação do grupo e deixando dúvidas acerca das relações evolutivas destas espécies, dado à polifilia nas propostas filogenéticas apresentadas por vários autores (Gilbert et al., 2006; Duarte et al., 2008; Gutiérrez et al 2017; Heckberg, 2020).

Os representantes deste gênero possuem hábito solitário e comportamento evasivo (Merino e Rossi, 2010). Apresentam médio porte (10-65 kg), com movimentação por ambientes de florestas densas e vegetações fechadas (Eisenberg, 2000; Merino et al., 2005), e os machos portam chifres simples e pontiagudos (Duarte, 1996b, 2008).

As espécies atribuídas ao gênero *Mazama* foram recuperadas em dois agrupamentos, atualmente classificados como duas subtribos, a Blastocerina e Odocoileina (Heckberg, 2020). O déficit nas informações taxonômicas demonstram a necessidade de uma revisão do gênero, em que já é apontada a demanda da descrição de novas espécies (Heckberg 2020; Cifuentes-Rincón et al., 2020). De acordo com o que é considerado pelo *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), a espécie *Mazama americana*, subtribo Odocoileina, é a espécie tipo do gênero. Desta forma, o nome *Mazama* fica restrito à composição do clado desta espécie, em menor ou maior abrangência (Gutiérrez et al. 2017).

Seguindo esta tendência, as espécies que estão fora deste clado e foram recuperadas na subtribo Blastocerina apresentam-se polifiléticas e, portanto, é proposta a elevação de alguns táxons nominais à categoria de gênero, nomeando uma organização monofilética dentro da subtribo. Uma destas espécies passou por recente reavaliação taxonômica e foi reclassificada do gênero *Mazama* para o gênero *Subulo*, dado o grupamento polifilético a que

pertencia com o Veado-roxo (antigo *Mazama nemorivaga*, atual *Passalites nemorivagus*) (Gutiérrez et al. 2017; Heckeberg 2020; Morales-Donoso et al., 2023).

Por sua vez, o Veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) é o cervídeo brasileiro mais abundante e a espécie de maior predominância na Caatinga (Black-Décima et al., 2010; Alves et al., 2016; Bernegossi et al., 2022). Figueiredo (2014) demonstra que *S. gouazoubira* pode ser dividido em cinco cladogramas distintos, com distribuição simpátrica em maioria. Esse dado entra em acordo com a alta diversidade haplotípica já apresentada por Duarte et al. (2008). Esta condição é originada por uma rápida radiação adaptativa recente ( $\pm 1,65$  Ma), e esta alta diversidade haplotípica alerta para a necessidade da confirmação da existência do complexo de espécies crípticas para os cervídeos da subtribo Blastocerina (Figueiredo, 2014; Borges, 2017).

Além disso, há diferenças na morfologia espermática e dos conjuntos cromossômicos destas espécies para as demais outras (Cursino e Duarte, 2016; Galindo et al., 2021). Este último ponto está associado ao fato de que a evolução das espécies do gênero *Subulo* ou ainda atribuídas ao gênero *Mazama*, possuem composição cromossômica diferentes por rearranjos cromossômicos através de fusões cêntricas ou em tandem com decréscimo no número diploide (Duarte e Merino, 1997), devido a uma fragilidade cromossômica. Desta forma, os níveis de diferenciação cariotípicas são elevados para algumas das espécies (Duarte e Jorge, 2003), e o acúmulo dessas alterações está relacionado à redução do fluxo gênico entre populações divergentes, resultando num possível acréscimo do número de espécies em descoberta (González e Duarte, 2020).

Na filogeografia, os efeitos de processos macro e microevolutivos e demográficos são observados, entre e dentro das populações, assim como a biogeografia histórica das linhagens genéticas (Wenink et al., 1996). Assim, variações geográficas podem revelar quais os padrões fenotípicos, e quais mecanismos históricos e ecológicos são essenciais para inferir os processos evolutivos das populações naturais (Zink e Remsen, 1986). Isto permite reconhecer a diversidade genética das espécies, que podem levar a várias possibilidades em vieses regionais e taxonômicos das estimativas de diversidade (Bickford et al., 2007).

Na região Neotropical, os biomas inseridos nas Diagonal de Formações

Abertas são os menos representados em estudos filogeográficos, mesmo com expressivo aumento recente de trabalhos publicados (Werneck, 2011; 2016). Dentre as hipóteses biogeográficas testadas até então, é evidenciada a determinante contribuição das alterações climáticas e geológicas nos processos de diversificação de espécies, tais como as incursões marinhas a formação do Rio São Francisco, o soerguimento da Chapada do Araripe e os gradientes ambientais associados (Oliveira et al, 2015; Werneck, 2015). A particularidade destes processos nas regiões mais semiráridas do Brasil é revelada em estudos que demonstram uma alta diversidade de formas crípticas relacionadas ao período Terciário (Turchetto-Zolet et al, 2013; Mesquita et al, 2017; Thome et al, 2021).

Mesmo sendo uma área de pesquisa relevante para a identificação de estrutura genética consequente das dinâmicas ambientais da região semiárida nordestina, estudos envolvendo filogeografia molecular na Caatinga são limitados (Werneck, 2011; 2016). Entre os existentes o maior foco está em áreas de Brejos de altitude (remanescente de Mata Atlântica em áreas de Caatinga) (Cabanne et al., 2008; Carnaval e Bates, 2007) e/ou direcionados a espécies vegetais (Barral, 2018; Balbino, 2018). Para a Caatinga ganham destaque os estudos com aves, com a herpetofauna, com artrópodes ou com foco entomológico (Rodrigues, 2003; Nodari, 2008; Oliveira, 2014; Ledo et al, 2020; Foerster, 2022). Na Caatinga a maioria dos trabalhos envolvendo a mastofauna está focada em pequenos roedores (Machado et al, 2023) e grupos de morcegos (Pavan e Tavares, 2020), mas trabalhos com as espécies de médio e grande porte são escassos.

Para entender como as populações estão organizadas e como a variação genética está associada à sua distribuição geográfica, a investigação através de genes mitocondriais é uma abordagem estabelecida. O DNA mitocondrial (mtDNA) acumula alta variação na sequência nucleotídica, o que o torna uma importante fonte de informação para o desenvolvimento da filogeografia (Avice, 2009). Haplótipos mitocondriais coexistem nas populações de uma espécie, e suas sequências podem ser utilizadas para estimar histórias matrilineas, devido exclusivamente à herança materna (Avice, 2009). Portanto, além de terem boa aplicabilidade para inferências filogenéticas em estudos populacionais com cervídeos neotropicais (González et al., 1998; Gilbert et al., 2006; Duarte et al.,

2008; Carnellosi, 2008; Abril et al., 2010; Maran, 2016), estudos com marcadores mitocondriais podem demonstrar marcos de dispersão, visto que as fêmeas são pouco dispersas e estão espacialmente associadas à sua prole, denotando a estruturação demográfica através de informações da linhagem materna (González et al., 2009).

Além disso fluxo gênico proporciona a homogeneização da variabilidade genética entre as populações proporcionada pelo fluxo gênico, permite a movimentação de genes entre as populações e dentro delas (Slatkin, 1995). A manutenção desta variabilidade confere alto potencial adaptativo e evolutivo às populações, contrapondo os efeitos gerados pelas estocasticidades ambientais (Geburek e Konrad, 2008). Por isso, o conhecimento do patrimônio genético abarcado nas populações de uma espécie e como elas estão estruturadas é uma informação basal para ações de conservação (Vencovsky et al., 2007). Portanto é essencial a detecção de grupamentos demográficos e seus possíveis corredores de conexão para poder inferir sobre seus padrões de fluxo gênico, o que revelaria uma distribuição hierárquica da diversidade genética entre as subpopulações existentes ao longo da ampla distribuição geográfica (Crandall et al., 2000), como do veado-catingueiro.

Pela dificuldade de captura de cervídeos, o uso do DNA fecal tem se mostrado uma metodologia de amostragem não-invasiva eficiente para detecção de Unidades Evolutivas, tamanho e distribuição populacional, área de vida, entre outros (Trinca et al., 2013; Oliveira, 2015; Mantellatto, 2016; De Oliveira et al., 2019). Com a finalidade da correta viabilização da coleta das amostras fecais, a alternativa está na utilização de cães farejadores (Oliveira, 2015; De Farias Peres et al., 2021). Esta abordagem metodológica é estabelecida para espécies elusivas e/ou de difícil captura, como onça-pintada, cachorro-vinagre, alguns primatas e veados florestais (Tsubouchi et al, 2012; Torres-Romero et al, 2019; Rowe et al, 2021; Peres et al, 2021). A importância da aplicabilidade do método de coleta está em aumentar o espectro de busca em área e número amostral, contanto com a eficiência de faro de um cão farejador.

Alguns trabalhos com populações de cervídeos do Nordeste brasileiro demonstram baixa amostragem da região (Rossi, 2000; Elizondo, 2010; Figueiredo, 2014), o que causa déficit de informação, sendo necessário um maior número amostral, como também a necessidade de maior aprofundamento em

pesquisas filogeográficas, de forma a ter uma melhor compreensão da origem desses grupos e de que maneira se deu seu processo de diversificação (De Albuquerque et al., 2012; Carmignotto et al., 2012; Feijó e Langguth, 2013; Alves et al., 2016). Portanto, a atualização de informações sobre os cervídeos na Caatinga é urgente, o que permitirá descobertas acerca do patrimônio genético das populações encontradas, visto que é o mamífero de maior porte encontrado no bioma, com ampla área de vida (64Ha), e adaptações regionais como um menor tamanho corporal e adequação alimentar (Duarte, 1998; Vogliotti, 2003)

Assim, este trabalho prospectou populações de cervídeos na Caatinga através de amostragens genéticas não invasivas, de populações até então desconhecidas, analisado um conjunto de regiões do DNA mitocondrial. Com base nisso nos propomos a caracterizar o perfil filogeográfico das populações de cervídeos no bioma, e inferir sobre quais os fatores seriam responsáveis pela distribuição espacial das linhagens de haplótipos mitocondriais do veado-catingueiro na região Nordeste. A partir da análise destes dados são verificados os processos evolutivos e demográficos da espécie ao sinal de expansão ou retração populacional aliados aos eventos de dispersão e vicariância históricas. Todos estes fatores podem indicar qual o nível de organização e possível estruturação das subpopulações analisadas, de acordo com os processos macro e microevolutivos vividos pelas linhagens no espaço, e se existe evidência de grupamentos para a determinação de *Unidades Evolutivas Significativas* (ESU).

Os esclarecimentos em relação à genética populacional e análises demográficas contribuirão como subsídios de informação para a conservação desta espécie para a diversidade funcional do Bioma. Além disso, este entendimento irá potencializar as necessárias avaliações do estado de conservação regionais, que são tão escassas quanto o conhecimento sobre as populações da espécie na Caatinga.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. A Família Cervidae**

Pertencente a ordem Artiodactyla, a família Cervidae contém 55 espécies e 18 gêneros, compondo a segunda família com maior riqueza de espécies entre os ruminantes, ficando depois da Bovidae (Zurano et al., 2019; González e

Duarte, 2020; Bernegossi et al., 2022). A dispersão dessas espécies a partir da Eurásia foi permitida através da formação de corredores biogeográficos pela expansão em áreas abertas, permitindo o deslocamento dos cervídeos e outros táxons com habilidades cursoriais (Hassanin et al., 2012).

A diversificação das pastagens no limite do Eoceno-Oligoceno ( $\pm 36$  Ma) coincidiu com as mudanças climáticas de quente e úmido para condições mais frias e secas (Meng e Mckenna, 1998; Hassanin e Douzery, 2003). Este fenômeno influenciou na divergência refletida nas principais linhagens de ruminantes demonstrando que as taxas de evolução deles não foram constantes ao longo do tempo (Demiguel et al 2014). Desde o Oligoceno até o Plioceno médio (36 a 2,5 Ma), as condições climáticas e vegetacionais globais levaram a várias radiações rápidas e sucessivas, gerando eventos adicionais de diversificação de curto prazo dentro da família Cervidae (Hernández Fernández e Vrba, 2005).

Tais condições propiciaram a diversificação dos Cervidae, assim como de outros ruminantes, em que a competição resultante dos habitats sobrepostos entre herbívoros desenvolveu um papel crucial na evolução do grupo (Gilbert et al, 2006). Uma rápida ramificação de linhagens e a evolução paralela, gerada pela pressão seletiva de fatores ambientais similares em diferentes regiões geográficas, parecem explicar a falta de resolução nas topologias destes ruminantes e a abundância de desenvolvimentos morfológicos convergentes (Hernández Fernández e Vrba, 2005; Janise e Theodor, 2014).

A origem de Cervidae é datada no Mioceno médio (13,5 Ma), e tem desde esta Era até o início do Plioceno ( $\pm 5$  Ma) o intervalo de tempo de maior diversificação do grupo (Zurano et al., 2019). A progressiva fragmentação das florestas e difusão das pradarias configuraram alterações nas paisagens da Eurásia que contribuíram para o estabelecimento de espécies de grande porte. Existem evidências do registro fóssil que indicam que os cervídeos se originaram na Europa, expandindo-se pela Ásia e pela África (Heckeberg, 2017b).

Posteriormente, conquistaram uma expansão natural quase que global, exceto na Austrália e Antártida (Heckeberg e Wörheide, 2019). A rota dispersiva de cervídeos ancestrais teria seguido da Ásia para a América do Norte, através do Estreito de Bering (Zurano et al., 2019). E, justamente, há  $\pm 5$  Ma já havia a presença de morfotipos verdadeiros de cervídeos norte-americanos (Gilbert et

al., 2006; González e Duarte, 2020).

As espécies desta família possuem relevante papel biológico, sendo considerados engenheiros ecossistêmicos, pelos serviços ambientais que prestam à manutenção da composição vegetal de seus habitats, além de fazer parte da cadeia trófica de grandes predadores. Suas populações selvagens ou cativas também geram rendimento econômico, seja para promoção de conservação ou na indústria alimentícia (Randi et al., 2001; Price et al, 2005).

Vários estudos para a resolução das incertezas taxonômicas foram conduzidas, e é observado que o uso de caracteres morfológicos não demonstra uma identificação robusta nem mesmo uma filogenia conclusiva, devido os altos níveis de homoplasia decorrente de convergência adaptativa por fatores ecológicos (Duarte et al 2008; Merino e Rossi, 2010; Heckberg, 2020). Os padrões evolutivos dos cervídeos tiveram sua alta diversificação regida pela interação de uma série de processos adaptativos levando em conta a morfologia, a fisiologia, a adaptação do sistema digestivo, a distribuição temporal e espacial da vegetação e das propriedades físico-químicas das plantas (Merino e Rossi, 2010).

Desta forma, a diversidade de ecossistemas habitados por essas espécies denota a variabilidade morfológica promovida pela radiação adaptativa, e apresentando portes de pequeno a grande, com indivíduos portando de  $\pm 6$  kg a 600 kg (Geist, 1998; Duarte e Merino, 1997; Duarte e González, 2010). Esta adaptação também é congruente com algumas variações fenotípicas observadas nos tipos de chifres apresentados na família.

O desenvolvimento de estudos que tenham abordagem integrativa de metodologias se faz relevante para a geração de resultados congruentes entre evidências morfológicas, comportamentais e genéticas. E assim, com um conjunto de dados mais robusto foi possível conferir um maior suporte na classificação sistemática das duas subfamílias de Cervidae: a Cervinae e a Capreolinae (Groves, 2007; Heckberg, 2020). Enquanto a primeira subfamília se apresenta num agrupamento monofilético estabelecido, a Capreolinae tem suas espécies e gêneros questionados quanto ao seu reconhecimento pelas lacunas apresentadas nas reconstruções filogenéticas (Gutiérrez et al., 2017; Zurano et al., 2019).

A subfamília Cervinae é composta pela tribo Cervini (com os gêneros *Axis*,



*Cervus*, *Dama*, *Elaphus*, *Rucervus* e *Rusa*) e pela tribo Muntiacini (com os gêneros *Muntiacus* e *Elaphodus*) (Gustafson, 2015). A subfamília Capreolinae é subdividida nas tribos Alceini (gênero *Alces*), Capreolini (com os gêneros *Capreolus* e *Hydropotes*), Rangiferini (gênero *Rangifer*) e Odocoileini (*Odocoileus*, *Blastocerus*, *Ozotoceros*, *Mazama*, *Subulo*, *Hippocamelus*, *Pudu*) (Heckberg et al., 2016; Bernegossi et al., 2022). Todos os cervídeos da região Neotropical são da tribo Odocoileini, e ela forma o grupo mais heterogêneo e com mais incertezas taxonômicas entre os cervídeos (Gilbert et al., 2006), das quais a polifia é constatada para os gêneros *Pudu*, *Mazama*, *Hippocamelus* e *Odocoileus* (Duarte et al., 2008; Hassanin et al., 2012).

Uma das características marcantes nos Artiodactyla, do ponto de vista citogenético, é de apresentarem rearranjos cromossômicos que promovem pequenas variações estruturais. Indivíduos da família Cervidae possuem uma das maiores taxas de evolução cariotípica em mamíferos consequente de uma fragilidade cromossômica, a qual caracteriza os cervídeos (Duarte et al., 2008). São comumente observadas variações intra e interespecífica do número de cromossomos (Tomazella et al., 2016; De Farias Peres et al., 2021).

O padrão estabelecido para os cervídeos quanto à sua evolução cariotípica consiste na redução do número cromossômico, e ela ocorre devido a fusões em tandem e Robertsonianas (Fontana e Rubini, 1990; Tomazella et al., 2016). Isto é evidenciado pela diminuição do número diplóide das espécies a partir do cariótipo ancestral ( $2N=70$ ) (Neitzel, 1987; Abril et al., 2010). A amplitude no número cromossômico está associado a uma fragilidade estrutural dos cromossomos, e uma redução extrema pode ser observada para o gênero *Muntiacus* com cariótipos de  $2N=6$  para fêmeas e  $2N=7$  para machos (Yang et al., 1995; Tomazella et al., 2017). Os cariótipos das espécies da subfamília Capreolinae passaram por recorrentes e complexos rearranjos cromossômicos, e no gênero *Mazama* as ocorrências são as mais complexas.

## 2.2. Cervídeos Neotropicais

Após a passagem das formas ancestrais de cervos vindos da Eurásia, datadas do Plioceno ( $\pm 5$  Ma), através do acesso proporcionado pelo Estreito de Bering, há a suposição que os primeiros táxons norte-americanos pertencentes a Odocoileini foram representados pelos gêneros extintos *Eocoileus* e *Bretzia*

(Fry e Gustafson, 1974; Webb, 2000; Gilbert et al., 2006). Dados de registros fósseis sul-americanos indicam que a divisão de *Odocoileini* e *Rangifer* ocorreu no Mioceno médio (15,4 a 13,6 Ma) (Groves e Grubb, 1987). Outros estudos de mesma fonte amostral relatam que uma diversificação foi iniciada dentro de *Odocoileini* há 5 Ma, e a subdivisão nas suas duas subtribos *Blastocerina* e *Odocoileina* ocorreu há cerca de 3,4 Ma (Hassanin et al., 2012; Heckeberg et al., 2020).

Atualmente, os indivíduos pertencentes a esta tribo possuem ampla distribuição ecogeográfica por toda a América, e desde o Alasca até a Patagônia (Gutiérrez et al. 2017). São de grande interesse biogeográfico pela grande variedade de habitats que ocupam como arbustos desérticos, savanas, pântanos, florestas tropicais de terras baixas, florestas úmidas montanhosas, páramo e tundra alpina em elevações do nível do mar até cerca de 4800 metros (Piovezan et al. 2010; Barrio, 2013; Gutiérrez et al., 2015). Também têm alto valor cinegético e interesse da saúde pública no Ocidente (Bennett e Robinson, 2000; Martinsen et al., 2016; Uehlinger et al., 2016)

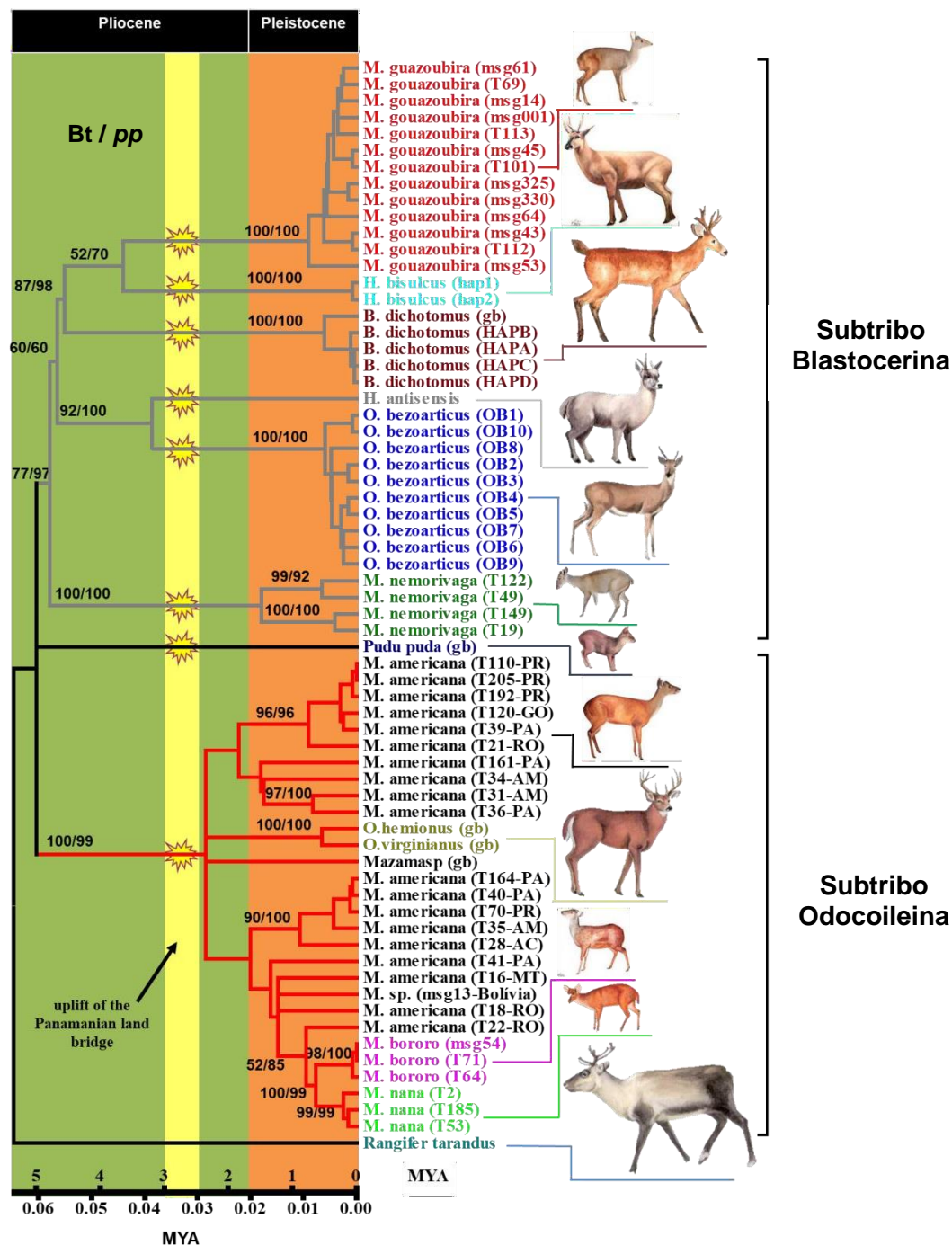
A tribo *Odocoileini* tem suas 17 espécies organizadas nas duas subtribos *Odocoileina* (“grupo vermelho”) e *Blastocerina* (“grupo cinza”), em sete gêneros estabelecidos: *Blastocerus*, *Hippocamelus*, *Mazama*, *Subulo*, *Odocoileus*, *Pudu* e *Ozotoceros* (Figura 1 - Duarte et al. 2008; Heckberg et al. 2016; Gutiérrez et al., 2017; Bernegossi et al.2022). Já *Odocoileus* é citado com distribuição desde o sul do Canadá ao norte do Brasil (Grubb, 2005).

Sendo assim, falando particularmente do evento geológico ocorrido no final do Plioceno e início do Pleistoceno ( $\pm 2,5$  Ma), o advento do *Grande Intercâmbio Biótico das Américas*, foi possibilitada a dispersão entre os continentes e a troca faunística. A culminância da formação desta ponte intercontinental, que foi formada pelo soerguimento gradual do Istmo do Panamá desde o final do Mioceno até o final do Pleistoceno, permitiu a dispersão ou a ampliação da distribuição geográficas dos diversos táxons envolvidos, teve grande influência na evolução e composição da mastofauna neotropical (Webb, 1985; Woodburne, 2010).

Considerada uma das regiões biogeográficas mais ricas na diversidade de cervídeos, a região Neotropical é formada pela riqueza ecossistêmica representada na diversidade dos biomas contidos. Sua biodiversidade é

abrigada por florestas tropicais secas e úmidas, savanas, manguezais e montanhas, além das áreas de hotspots descobertas em sua distribuição desde o México e recobrando todo o continente sul-americano (Myers et al., 2000).

Durante o processo de colonização por toda essa área foram evidenciadas hipóteses filogenéticas para o qual se revela que pelo menos oito formas ancestrais de cervídeos entraram na América do Sul pelo Istmo do Panamá (Duarte et al., 2008; Merino e Rossi, 2010). Sendo todos os cervídeos neotropicais da família Cervidae, pertencentes à tribo Odocoileini, é indicado que o sucesso adaptativo deste grupo se deva à ausência de outros ruminantes nas áreas de ocupação (Webb, 2000; Hassanin et al., 2012; González e Duarte, 2020).



**Figura 1.** Relações filogenéticas de cervídeos neotropicais (Odocoileini: Capreolinae: Cervidae) inferidas a partir do gene mitocondrial Citocromo b. Fonte: Duarte et al. (2008).

As incursões de colonização feitas pelos cervídeos em ambiente neotropical podem ter ocorrido em duas etapas, visto o tempo de divergência entre as linhagens ancestrais das subtribos que se dispersaram pela América do Sul (Duarte et al., 2008). Neste processo de colonização, as espécies apresentaram adaptação a ambientes distintos, desde áreas de vegetação mais abertas à formações florestais mais densas. Primeiramente, é apontado que a

forma ancestral de *Blastocerina*, já diferenciada antes da formação do Isthmo do Panamá, teria acessado a América do Sul no início do Plioceno (4,9–3,4 Ma), através de um fechamento primórdio da passagem panamenha (Montes et al., 2015). No segundo momento, e sabidamente pela mesma via, a colonização já seria das formas ancestrais das espécies *Mazama americana* e do *Odocoileus virginianus*, entre o fim do Plioceno e começo do Pleistoceno (Gilbert et al., 2006).

Duarte et al. (2008) detalham 6 formas ancestrais distintas para o processo de colonização efetuado pelas espécies de cervídeos neotropicais, em que se apresenta nesta sequência: a) o ancestral de *S. gouazoubira* e *H. bisulcus*; b) o ancestral de *B. dichotomus*; c) o ancestral de *O. bezoarticus*, *H. antisensis* e *P. nemorivagus*; e) o ancestral de *P. puda*; f) um ancestral que deu origem a *M. americana*, *M. nana*, *M. jucunda*, e g) o próprio *O. virginianus*. A polifilia apresentada por um dos gêneros da tribo Odocoileini, o *Mazama*, que apresenta espécies em ambas as subtribos *Blastocerina* e *Odocoileina* (Heckberg et al. 2020).

Com a maioria dos gêneros já diferenciados, a grande diversidade de cervídeos da região Neotropical é consequente de uma recente e intensa irradiação adaptativa, e que conferiu a convergência morfológica dentre algumas espécies, por volta de  $\pm 1,6$  Ma (Duarte et al 2008; González et al., 2010). Entre as hipóteses sobre o biotipo dos ancestrais odocoleines, Hershkovitz (1982) indica um espécime de pequeno porte vivente em todas as Américas durante o Mioceno-Plioceno, do qual os gêneros *Mazama* e *Pudu* teriam divergido, e que futuramente as adaptações morfológicas evidenciarão o aumento do tamanho corporal. Entretanto, Merino e Rossi (2010) defendem o oposto: indivíduos de portes médios com chifres ramificados e que evoluiria independentemente nas formas dos gêneros *Mazama* e *Pudu*, com chifres simples.

Estes dois últimos gêneros citados lideram o interesse de estudos envolvendo revisões taxonômicas pela polifilia apresentada, assim como em *Hippocamelus* (Hassanin et al., 2012; Heckberg et al., 2016; Gutiérrez et al., 2017; Heckberg et al 2020). Outros gêneros de Odocoileini precisam ser investigados (Gutiérrez et al., 2017). Através de análises morfométricas e de características esqueléticas qualitativas são apontadas diferenças entre os espécimes de *Odocoileus virginianus* da América do Norte e do Sul (Molina e

Molinari., 1999). Os mesmos autores evidenciam a variabilidade morfológica entre as populações de *O. virginianus* da Venezuela.

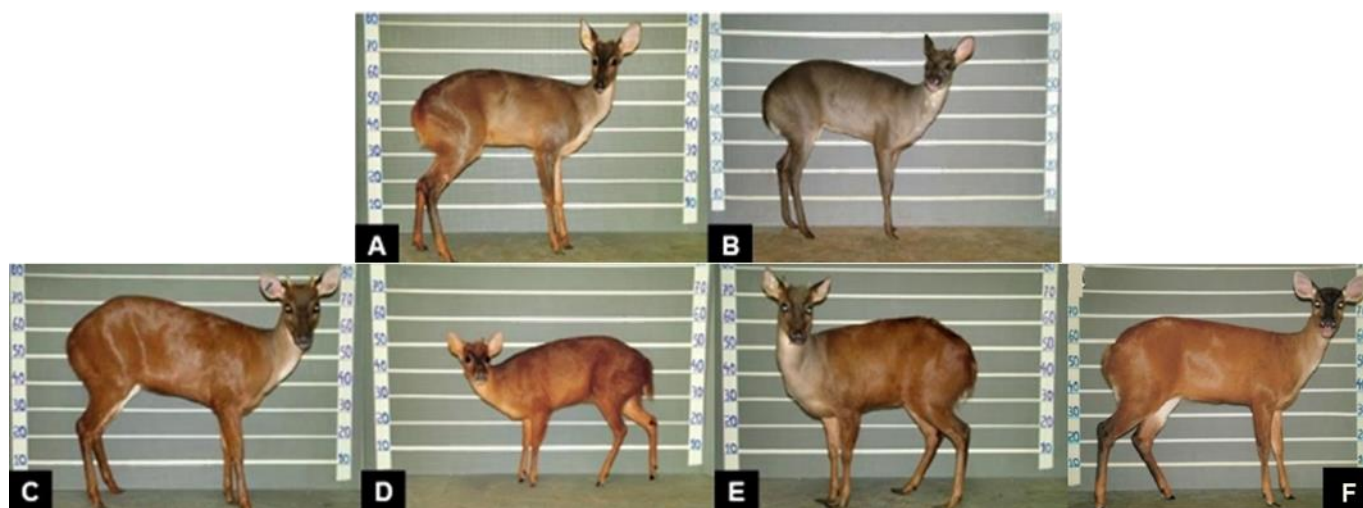
Entretanto, González e Duarte (2020) demonstram que com o incremento de dados moleculares, não é vista esta diferenciação entre as populações da América do Norte e América latina, o que evidencia uma história evolutiva recente com a região Neotropical, com limite de distribuição ao norte na Floresta Amazônica.

Por conta disso, alguns estudos mais recentes indicam a necessidade de esforços no aumento de marcadores morfológicos e moleculares, particularmente nucleares, e dados citogenéticos para ajudar na reconstrução da complexa história evolutiva dos cervídeos da tribo Odocoileini e progredir com sua resolução taxonômica (Duarte et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Heckberg et al. 2020).

Nos clados recuperados na filogenia molecular inferida através do marcador mitocondrial Citocromo b, Duarte et al. (2008) (Figura 1) demonstra o grupamento de espécies divididos nas subtribos de Odocoileini. Com registro do ancestral comum a 5 Ma, as espécies da subtribo Blastocerina são: o veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira* – ainda tratado no gênero *Mazama*), veado-roxo (*Passalites nemorivagus* – ainda tratado no gênero *Mazama*), cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), huemul (*Hippocamelus bisulcus*) e veado-campeiros (*Ozotocerus bezoarticus*). Já as espécies pertencentes à subtribo Odocoileina, cujo ancestral comum viveu há aproximadamente 2 Ma atrás, são o veado-mateiro-pequeno (*Mazama bororo*), veado-da-mão-curta (*Mazama nana*), veado-mateiro (Complexo *Mazama americana*), veado-mateiro-centro-americano (*Mazama temama*), veado de cauda branca (*Odocoileu virginianus*) e veado-mula (*Odocoileu hemionus*).

Dentre estas espécies, o gênero *Mazama* Rafinesque, 1817 (Mammalia: Artiodactyla: Cervidae), do qual o veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) fazia parte, tem destaque por apresentar a história evolutiva mais controversa, demandando alguns desafios para a sua compreensão. Os pesquisadores apresentam resultados congruentes em relação a altas taxas de divergência molecular, além dos apresentados pelas evidências citogenéticas, que possuem indicações em formarem complexos de formas crípticas das espécies (Duarte et al., 2008; Figueredo, 2014; Gutiérrez et al., 2017; Cifuentes-Rincón et al., 2020).

Devido aos altos níveis de homoplasia existente nestes cervídeos, identificações baseadas em caracteres morfológicos, seja por investigação morfométrica ou filogenética, sempre foram questionadas (Duarte et al. 2008; Merino e Rossi, 2010). O viés dessa fonte amostral inferiu erroneamente sinonímias entre espécies diferentes, posteriormente validadas após revisão mais adequada com o incremento de dados moleculares e citogenéticos (Gilbert et al., 2006; Duarte et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Cifuentes-Rincón et al., 2020; Heckberg et al., 2020). A convergência morfológica, provavelmente associada a adaptações a ambientes semelhantes (Figura 2) vista nestes indivíduos de veados neotropicais dificultou bastante a classificação sistemática, tendo em vista as incertezas taxonômicas e filogenéticas apresentadas.



**Figura 2.** Espécimes adultos de uma espécie do gênero *Subulo* Fischer, 1814, seguida de outra espécie do gênero *Passalites* Cuvier, 1817 e outras quatro espécies do gênero *Mazama* Rafinesque, 1817 que ocorrem no território brasileiro: (A) veado-catingueiro (*S. gouazoubira*, Fischer, 1814), (B) veado-roxo (*P. nemorivagus*, Cuvier, 1817); (C) veado-mateiro (complexo *M. americana*, Erxleben, 1777), (D) veado-da-mão-curta (*M. nana* (Hensel, 1872)), (E) veado-mateiro- bororó (*M. jucunda*, Thomas, 1913) e (F) Veado-mateiro (*M. rufa*, Illiger, 1915). Imagens: José Maurício Barbanti Duarte.

A diversidade cariotípica dos cervídeos é caracterizada pela diversidade do número dos conjuntos cromossômicos em grupamentos morfológicos de espécies aparentemente semelhantes, revelando complexos de formas crípticas, falhas na identificação e incertezas taxonômicas (Duarte e Jorge, 2003). São comumente observados alguns rearranjos cromossômicos por translocações robertsonianas e fusões em tandem, e polimorfismos intra e interespecífico.

As sucessões destes rearranjos podem levar a um isolamento pós-

zigótico, conferindo uma especiação simpátrica nas subpopulações envolvidas (Duarte e Jorge, 2003; Tomazella et al., 2017). Herzog e Harrington (1991) supõem que a manutenção desse polimorfismo está relacionada a regiões de mutação neutra e que só se fixam com o aumento da endogamia numa população geograficamente isolada. Sendo assim, a condição é demonstrada na redução do número cromossômico, a partir de um cariótipo ancestral de  $2N=70$ . Em perfil detalhado este cariótipo possui 68 cromossomos autossômicos acrocêntricos, um cromossomo X acrocêntrico grande e um cromossomo Y metacêntrico pequeno (Neitzel, 1979; Fontana e Rubini, 1990).

Este cariótipo ancestral é reconhecido para *S. gouazoubira*, que em estudo recente de populações do Pantanal apresentou 3 variações intraespecíficas dos rearranjos cromossômicos (VALERI et al., 2018). Já no gênero *Mazama* estão presentes os cromossomos b, associados à uma alta taxa de polimorfismo e variação cromossômica de  $2N=32$  a  $2N=70$  (Duarte e Jorge, 2003; Abril et al., 2010b). O Complexo *Mazama americana* ainda apresenta variação dos números diplóides de seus citótipos congruente à uma coerência geográfica (Abril et al., 2010b). Essa amplitude no número cromossômico está associado a uma fragilidade estrutural dos cromossomos (Tomazella et al., 2017).

Estas variações citogenéticas e moleculares evidenciam os desafios para as resoluções das incertezas taxonômicas dos cervídeos neotropicais. Ainda mais quando unida ao fato destas espécies reunirem caracteres morfológicos altamente conservados, filogeneticamente não informativos e/ou propensos a convergência devido à alta adaptação ecológica (Heckberg, 2020). Portanto, através de uma análise integrada de todo esse conjunto de dados, alguns trabalhos já caracterizam e designam uma atualização no status taxonômico de algumas espécies de cervídeos neotropicais, de modo a descrever ou revalidar novas espécies (Duarte et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Cifuentes-Rincón et al., 2020; De Farias Peres et al., 2021; Bernegossi et al., 2022).

Cifuentes-Rincón et al. (2020) propõe a retirada dos táxons referentes à Subtribo Blastocerina, restando ao gênero *Mazama* apenas as espécies da subtribo Odocoileina, ligadas a espécie tipo *Mazama americana* (Erxleben, 1777), de neótipo localizado na Guiana Francesa. A partir desta definição, a primeira espécie do Complexo *Mazama americana* é revalidada por *M. rufa*



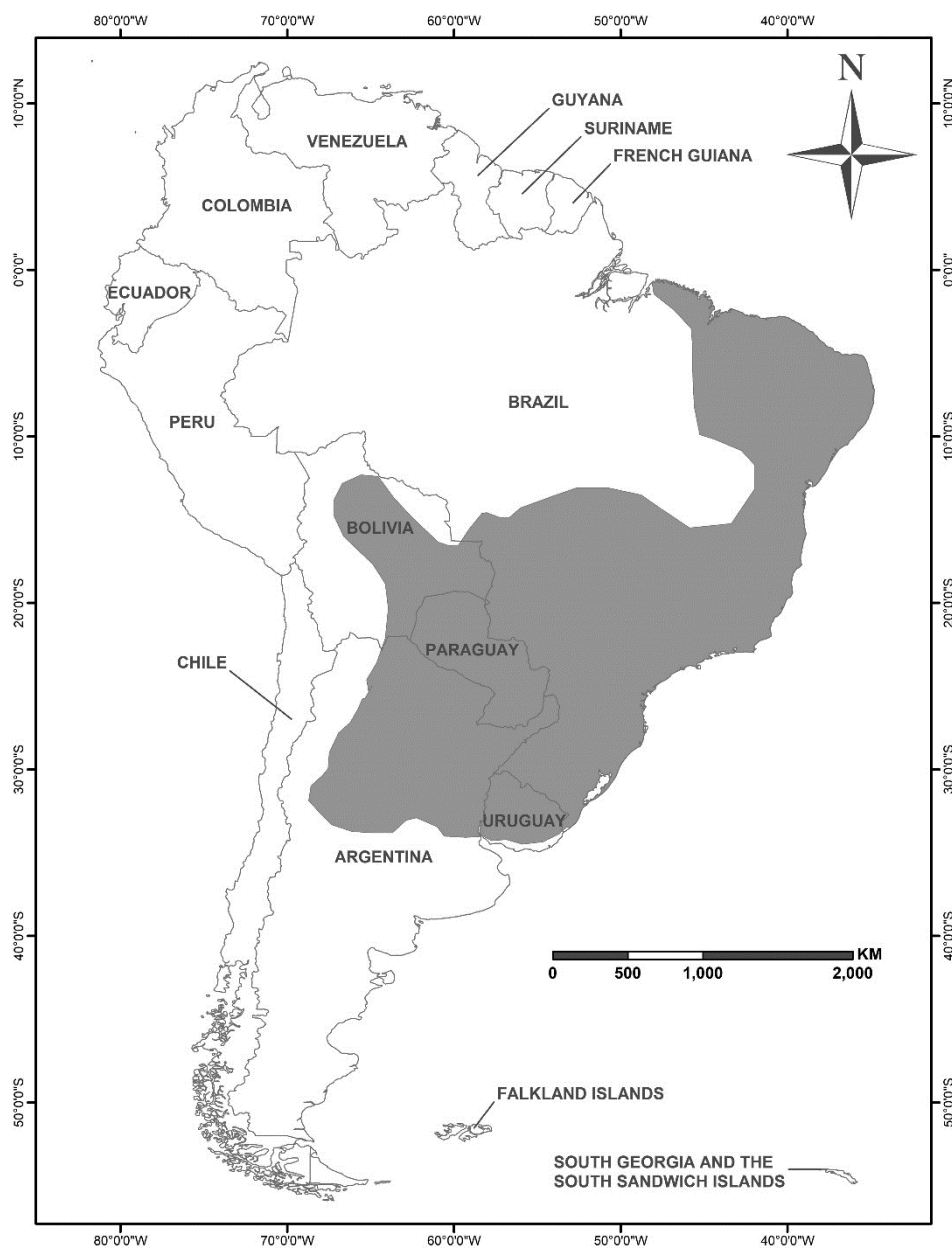
(Illiger, 1811) (De Farias Peres et al., 2021). E na subtribo Blastocerina, o gênero *Subulo* para o veado-catingueiro (Bernegossi et al., 2022), dá seguimento nos ajustes taxonômicos solicitados a partir da evidência de polifilia para o grupo a partir de dados moleculares (Duarte et al., 2008; Heckeberg 2020). No mesmo contexto, outros gêneros devem ser designados para *M. chunyi*, podendo ser atribuído ao gênero *Subulo* por ser grupo irmão, e outro para *M. nemorivaga* (Gutiérrez et al. 2017). Esta última espécie teve sua atualização taxonômica recentemente com a revalidação do gênero *Passalites* sendo designada como *Passalites nemorivagus* Cuvier, 1817 (Morales-Donoso et al., 2023).

### **2.3. *Subulo gouazoubira* e suas características na Caatinga**

O veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) Fischer, 1814 é a espécie mais abundante e amplamente distribuída entre os cervídeos neotropicais (Black-Décima; Vogliotti, 2016). Recentemente, a espécie passou por reavaliação taxonômica devido a polifilia demonstrada nos clados recuperados com outras espécies do gênero *Mazama*, o qual *S. gouazoubira* fazia parte (Duarte et al. 2008; Gutiérrez et al. 2017; Heckeberg, 2020).

Baseado em parâmetros morfológicos associados à convergências adaptativas do grupo de cervídeos neotropicais de médio porte e chifres simples, o veado-catingueiro foi designado ao gênero *Mazama* (Fischer, 1814). Entretanto, Bernegossi et al. (2022) reuniram evidências de análises morfológicas, citogenéticas e filogenéticas para transferir a espécie ao gênero *Subulo* Smith, 1827. Posto que, pelo princípio de prioridade do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN) (RIDE, 1999), *Subulo* é o nome genérico mais antigo disponível para suceder a classificação do morfotipo relacionado ao táxon nominal de *Cervus gouazoubira* Fischer, 1814 (Bernegossi et al. 2022). Esta classificação dada por Fischer foi baseada na descrição de Gouazoubira de Azara (1801) que por não ser binomial não é válida pela ICZN e não pode ser utilizada. Pela falta do material do holótipo descrito por Azara (1801), este estudo também nos traz a designação de um neótipo através de um topótipo (espécimes coletados na mesma localidade tipo da espécie descrita), de Puerto Galileo, do distrito de José Falcón, também em Assunção, no Paraguai (Bernegossi et al. 2022).

Na América do Sul a espécie se distribui a partir do Cerrado, ao sul do Rio Amazonas, se estendendo por todo o Brasil, chegando a alcançar regiões da Bolívia e por todo o Uruguai, chegando até a província de Entre Ríos, na Argentina (Avila-Pires, 1959; Duarte, 1996; Silva-Caballero; Ortega, 2022) (Figura 3). Alguns autores estendem sua distribuição à região do Norte brasileiro (Grubb, 2005; Canevari e Vaccaro, 2007), mas é estabelecido que na região amazônica está ecologicamente substituída pelo Veado-roxo (*Passalites nemorivagus*) (Rossi, 2000; Duarte et al. 2008).



**Figura 3.** Distribuição geográfica do Veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) na América do Sul. Fonte: Silva-Caballero; Ortega, 2022.

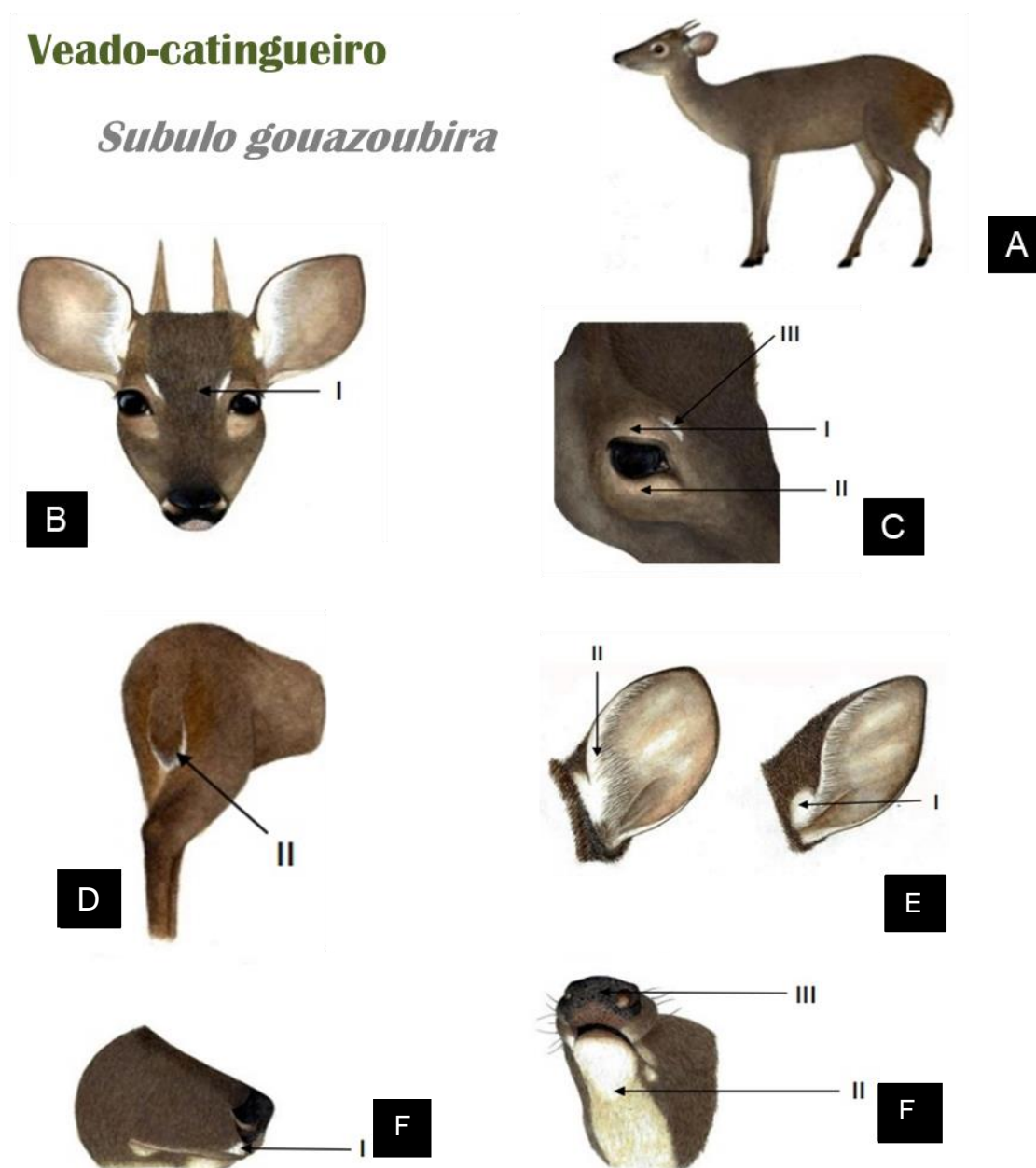
Ao longo da distribuição da espécie são observadas variações ecológicas, regionais individuais de coloração (do cinza escuro até o marrom avermelhado) e de tamanho (peso entre 11-2 e 5 kg) (Black-Décima et al., 2010), e os indivíduos machos da espécie apresentam chifre simples, em forma de espeto. De hábito diurno, a espécie apresenta uma alta plasticidade ecológica, o que lhe confere uma ótima adaptação à diversos ambientes naturais, se estendendo a ambientes antropizados e áreas agrícolas (Duarte, 2012; Black-Décima e Vogliotti, 2016), desde grandes plantações de cana-de-açúcar e eucalipto, e cultivos familiares onde muitas vezes se refugiam em busca de alimento.

Dentre as características morfológicas gerais desta espécie, o padrão apresentado por Azevedo et al. (2021) (Figura 4) detalha: a presença de chifres simples e sem ramificações, e a coloração da pelagem corporal podendo variar do tom castanho acinzentado ao castanho-amarelado (A); faixa rostral de coloração castanho clara (B); faixas orbitais destacadas com uma mancha branca evidente sobre os olhos (C); a cauda com abundantes e longos pelos de coloração castanha acinzentada amarelada (D); tendo em vista os cervídeos neotropicais de pequeno a médio porte, apresentam uma maior proporção das orelhas em relação ao tamanho da cabeça como um todo, e com grande quantidade de pelos (E), e possui uma mancha na extremidade maxilar menor, e a região mais clara da região gular é contínua (F).

O *S. gouazoubira* retém o cariótipo ancestral da família Cervidae de  $2N = 70$  e  $FN = 70$ , formado por 68 cromossomos acrocêntricos, tendo o cromossomo X acrocêntrico como o maior do lote e o cromossomo Y metacêntrico, como o menor (Neitzel, 1987; Tomazella et al., 2017; Bernegossi et al. 2022) (Figura 5). Em alguns casos, quando observada a presença de uma fusão cêntrica em um estado heterozigoto, o cariótipo apresentado é de  $2n = 69$  e  $FN = 70$  (Duarte, 2012; Tomazella et al., 2017).

Na população restrita ao Pantanal em que já foram relatadas variações intraespecíficas (Valeri et al. 2018), elas se apresentaram em 3 padrões de rearranjos cromossômicos, onde se observa: uma fusão cêntrica no estado heterozigoto, uma fusão em homozigose (Tomazella, 2016) e uma fusão entre os cromossomos autossômicos 7 e 15. Esta última variação é visível no cromossomo translocado com morfologia diferenciada associada a um aumento em seu comprimento (Bernegossi et al. 2022).

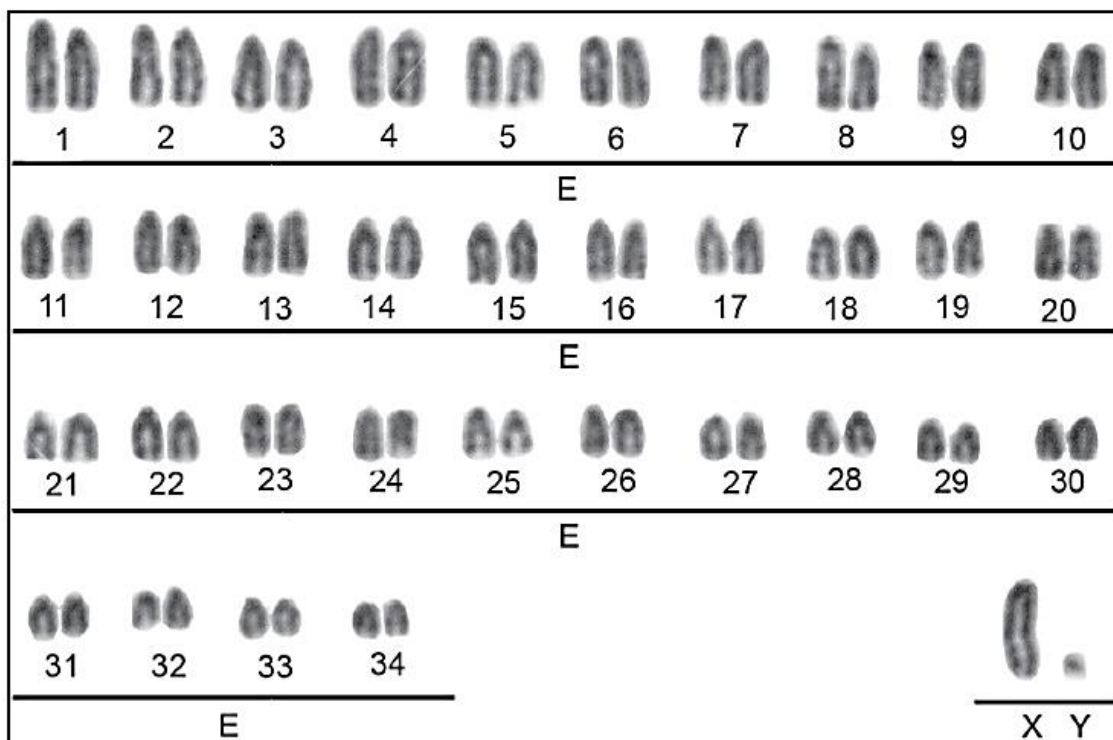
A fragilidade cariotípica característica dos cervídeos é ocasionada por variações estruturais de comum ocorrência como as translocações Robertsonianas, mas também por inversões pericêntricas e fusões em tandem, além da presença de cromossomos. Estes rearranjos, a partir do cariótipo basal de *S. gouazoubira*, sugerem como ocorre a evolução cariotípica dos *Mazama*, e conseqüentemente apresentam um alto nível de polimorfismo (Duarte, 1998).



**Figura 4.** Características morfológicas de *Subulo gouazoubira*. Fonte: adaptado de Azevedo et al. (2021).

A heterogeneidade gradativa causada por essas variações cromossômicas podem agir como barreira reprodutiva citogenética, pela

incompatibilidade causada pelos rearranjos (Wurster e Benirschke, 1968). Estes fatores podem influenciar os processos de especiação em conjunto com a evolução cariotípica da espécie envolvida (Capanna et al, 1977; Tomazella et al., 2017). A taxa de transmissão destes rearranjos é diretamente relacionada com a estrutura das subpopulações envolvidas.

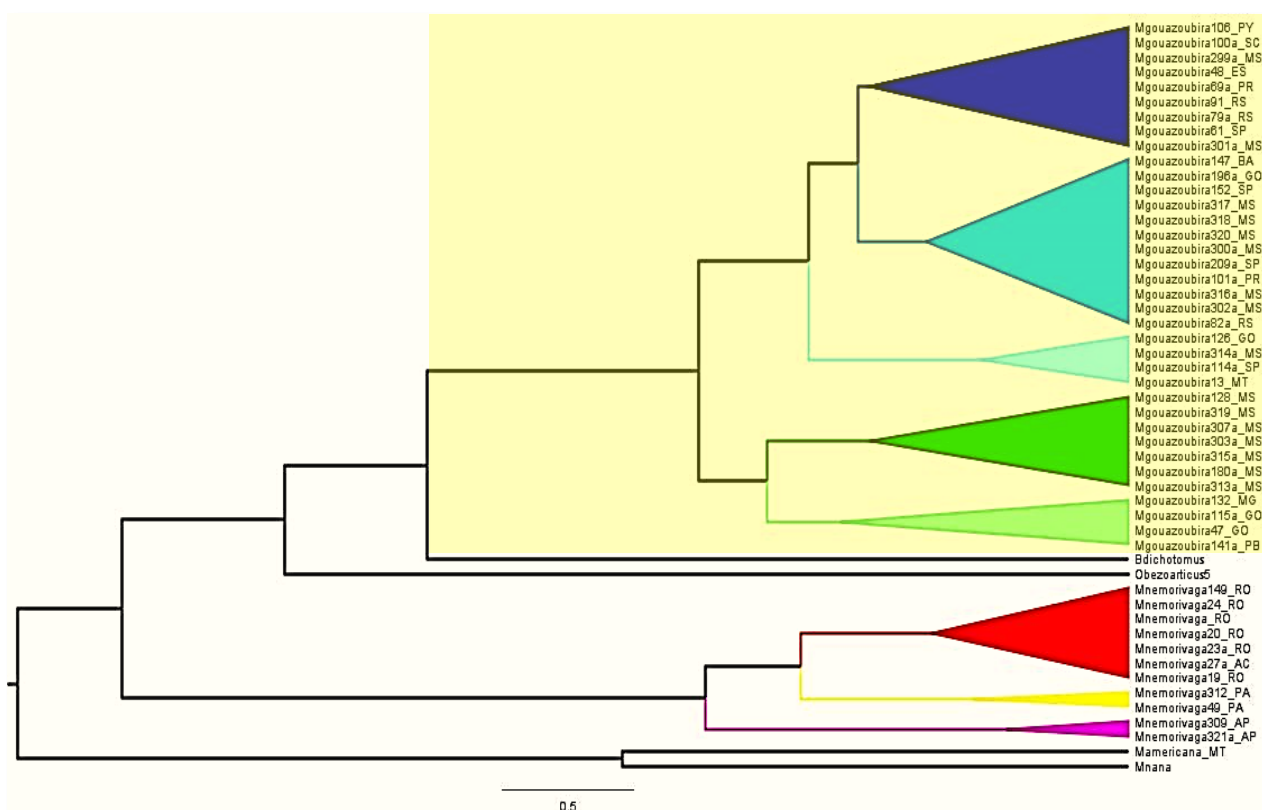


**Figura 5.** Cariótipo padrão de um macho da espécie *S. gouazoubira* ( $2n=70$ ;  $NF=70$ ), sob coloração convencional (Giemsa). Fonte: Abril et al, 2010.

Estudos de genética populacional estabelecem que as subpopulações de veado-catingueiro apresentam altos níveis de fluxo gênico em sua ampla distribuição, o que revela um cenário de manutenção do intercâmbio de indivíduos entre as áreas, como se não houvesse barreira geográfica para a dispersão (Bidegaray et al., 2003). Bidegaray (2003) encontrou alta variabilidade genética para uma amostragem de 19 indivíduos da Argentina, Brasil e Bolívia, a partir de um fragmento do gene Citocromo b.

A partir de marcadores moleculares dos DNA nuclear e mitocondrial, Figueiredo (2014) reforça essa não estruturação geográfica, visto agrupamento de indivíduos simpátricos estarem distribuídos em clados diferentes da inferência bayesiana aplicada. Além disso, o estudo revela que essas populações advêm de uma diversificação rápida e recente ( $\pm 1,65$  Ma). Todavia, 36 espécimes são recuperados em 5 clados filogenéticos e demonstram uma subdivisão

haplotípica de uma amostragem de várias regiões do país, em que apenas dois indivíduos eram do Nordeste (Paraíba e Bahia). (Figura 6)



**Figura 6** – Hipótese filogenética recuperada para as populações de *S. gouazoubira* e *P. nemorivagus* (ainda tratados como *Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga*), a partir dos Marcadores mitocondriais Cit b e COI, e os nucleares MGF e IL16., que denotam a alta diversidade haplotípica. Fonte: Figueiredo, 2014.

A diversidade adaptativa para diferentes ecossistemas pode influir em vários aspectos ecológicos da espécie como área de vida, comportamento, dieta, reprodução e seleção de habitat, e que pode causar algumas variações inter e intrapopulacionais (Vogliotti, 2003). Duarte (1998) e Rossi (2000) relatam que os indivíduos do Nordeste brasileiro são os menores, em comparação aos indivíduos de outras regiões do país. Alguns estudos indicam a influência da produtividade ambiental no tamanho corporal e densidade de cervídeos, principalmente em regiões secas (Marshall et al., 2006; Wolverton et al., 2009).

O veado-catingueiro é um herbívoro ruminante com estômago dividido em quatro compartimentos: o rúmen e o retículo que exercem função fermentativa graças aos microrganismos presentes, viabilizando a digestão da celulose, o que

representa uma vantagem adaptativa na obtenção de energia e nutrientes (Putman, 1988). No omaso ocorre a absorção de água e minerais encontrados no alimento, e no abomaso (estômago verdadeiro) a digestão de carboidratos e proteínas. Estes veados têm escolha alimentar generalista por folhas de arbustos, frutas, flores (Vogliotti, 2003).

O tipo de dieta que o animal necessita condiciona a utilização do habitat. Autores relatam que existe uma maior movimentação do veado-catingueiro em períodos de menor disponibilidade alimentar (Bonifácio et al., 2015; Black-Décima, 2000). Nas populações da Caatinga é percebido comportamento oportunista ao se agregarem temporariamente com grupos de bovinos para conseguir recurso alimentar e hídrico, como é relatado para outras espécies de cervídeos (Cosse et al, 2009; Bonifácio et al, 2015).

A congruência entre os padrões fenológicos reprodutivos das espécies vegetais que fazem parte da dieta dos cervídeos e maior avistamento de filhotes têm ponto em comum com o sucesso do desenvolvimento ecossistêmico gerado da estação chuvosa que, em teoria, ocorre do mês de dezembro a maio. Essa condição parece indicar um padrão reprodutivo devido à sazonalidade das chuvas, como ocorre para outras espécies do bioma no Nordeste (Bonifácio et al., 2015). A gestação dura 7 meses e o cuidado materno é por volta de 6 meses ou até a próxima cria (Duarte et al., 2012).

O status atual de conservação em escala global é classificado como “Least Concern” (Menos Preocupante), pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) - Red List, devido a sua ampla área de distribuição (Black-Decima e Vogliotti, 2016). O contrário do que a classificação pode indicar, a espécie não é suficientemente estudada nos seus aspectos biológicos e ecológicos, o que gera a escassez de informações na literatura sobre as condições de vida das populações selvagens e cativas (Black-Décima et al., 2010). A espécie que ainda é referida na Red List por *Mazama gouazoubira*, não figura na Lista Nacional de Espécies ameaçadas (MMA, 2022).

Esse déficit de conhecimento e atualização de informações sobre o veado-catingueiro está atrelado a algumas questões que constituem nos principais motivos para a escassez de trabalhos em vida-livre: 1- O comportamento evasivo da espécie; 2 - A dificuldades de captura dos cervídeos; 3 – interesse / expertise científico na área de estudo (Carmignotto e Astúa, 2017;

De Farias Peres et al., 2021).

Em escalas regionais, está considerada como “dados insuficientes” no Paraná, “vulnerável” no Rio Grande do Sul e “em perigo” no Rio de Janeiro (Bergallo et al., 2000; Fontana et al., 2003; Mikich e Bérnils, 2004). Recentemente, a espécie foi incluída como “vulnerável” no estado do Ceará (SEMA, 2022), sendo esta a única classificação para o Nordeste, região em que autores apontam o seu alto valor cinegético (Oliveira et al., 2003b; Da Cruz, 2005; De Albuquerque et al. 2012a; Alves et al., 2012a, 2016; Bonifácio et al., 2015; Barboza et al. 2016; Carmignotto e Astúa, 2017).

De modo geral, os cervídeos têm como predadores os cachorros-do-mato e felinos, como onça-pintada (*Panthera onca*) e puma (*Puma concolor*) e estão presentes na Caatinga. Além disso, contribuem na engenharia ecossistêmica pela influência na composição e densidade da vegetação, através do consumo vegetal e também dispersão de sementes (Cavalcanti et al., 2009b; Feldhamer e Macshea, 2012; Mertens et al., 2017). Atreladas a esta importante contribuição estão alguns serviços ecossistêmicos como a modulação do ciclo de nutrientes pelo consumo de biomassa vegetal, e o controle populacional das espécies consumidas (Chiarello, 1999; Cardillo et al., 2005). Cavalcanti et al. (2009b) e Mertens et al. (2017), relacionam a redução do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) na Caatinga com a diminuição das populações de *S. gouazoubira*, por ser um dos principais dispersores naturais do vegetal, importante para nutrição animal e humana.

Por serem espécies generalistas são mais tolerantes às perturbações no habitat, e têm uma capacidade maior de transição entre fragmentos florestais já reduzidos (Harrisson et al. 2014). Esta habilidade indica a persistência das subpopulações viáveis em resposta a complexidade da estrutura do ambiente em que habitam (Graae et al. 2018). Mas, mesmo com esta relativa tolerância a ambientes antropizados (Duarte et al. 2012), as populações de veado-catingueiro sofrem com a consequência da perda e fragmentação de habitats, a medida que o expõem a uma grande pressão de caça e a patógenos transmitidos por espécies exóticas, introduzidas e/ou invasoras (González e Duarte, 2020). Esta espécie tem alto valor cinegético nas comunidades locais do semiárido brasileiro (Melo et al., 2014), principalmente pelo alto valor como recurso alimentar, pela biomassa extraída (Rocha-Mendes et al., 2005; Altrichter, 2006),



mesmo com a caça de animais silvestres sendo proibida no país (Brasil, 1998).

Alguns trabalhos da etnozootologia alertam sobre a pressão da caça para além da captura esportiva ou de subsistência já bem relatada culturalmente para *S. gouazoubira* no Nordeste (Bonifácio et al., 2015; Carmignotto e Astúa, 2017). E consiste na utilização da espécie no uso de partes corporais para fins medicinais, assim como a variedade de enfermidades tratadas (Oliveira et al., 2010; Melo et al., 2014). Bezerra et al (2014) relata o declínio populacional, ou até mesmo a extinção local em áreas que esta perturbação ocorre de maneira intensa na Caatinga. Ademais, predação por cães ferais e maior contato com a disseminação de patógenos, além da interferência negativa em seu requerimento trófico e uso de área de vida, são outras questões que compõem o complexo de deterioração de uma população silvestre na natureza (Cardillo et al. 2005).

A maioria dos estudos *in situ* que envolvem o veado-catingueiro no semiárido nordestino têm o contexto do conhecimento dos padrões de ocorrência e distribuição de mamíferos de médio e grande porte (Feijó e Langguth, 2013; Carmignotto e Astúa, 2017; Marinho et al., 2018) e alguns outros ligados ao comportamento alimentar, uso de habitat, reprodução, taxonomia e citogenética (Periago e Leynaud, 2011; Romero e Chatellenaz, 2013; Zanetti et al., 2014; Angeli et al, 2014; González et al., 2018; Valeri et al., 2018). Diante a demanda de conhecimento sobre a composição ecológica, funcional e histórica das linhagens dessa espécie no domínio da Caatinga, pesquisas com maior abrangência amostral, e que relacionem os processos evolutivos com as particularidades dos filtros ambientais, podem nos indicar como as populações de *S. gouazoubira* estão estruturadas entendendo as particularidades ambientais do bioma.

#### **2.4. Caatinga: Biogeografia, Ecorregiões e Histórico de Cervídeos**

Apresentando uma heterogeneidade de habitats e história geológica complexa, a Região Biogeográfica Neotropical é notável pela sua diversidade biológica, sendo considerada a mais diversa do Planeta. Com uma área geográfica ampla, se estendendo desde o centro-sul do México até o centro-sul da Argentina, apresenta uma grande diversidade de áreas, objetos de estudo que visam entender a regionalização em diferentes aspectos ecológicos (Pérez-

Hernández e Lew, 2001; Morrone, 2002; 2010; 2022). Atrelado a este contexto, os processos históricos de dispersão, vicariância ou extinção moldaram os padrões de distribuição geográfica das espécies contidas (Da Silva e Garda, 2010).

A modulação da biodiversidade dessa região tem hipótese de origem no período Terciário (65 a 5 Ma). Incurções marinhas, formações montanhosas como soerguimento da Cordilheira do Andes ou o fechamento do Istmo do Panamá na América Central, e as alterações climáticas consequentes foram relevantes para o processo de diversificação da biota (Leigh et al., 2013). Assim como o período Quaternário (1,6 Ma), que nos ciclos climáticos de períodos glaciais e interglaciais, característicos da Era geológica, proporcionaram uma condição ambiental que promoveu retração e expansão de formações florestais/áreas abertas, e isolamento e dispersão de espécies (Hewit, 2004).

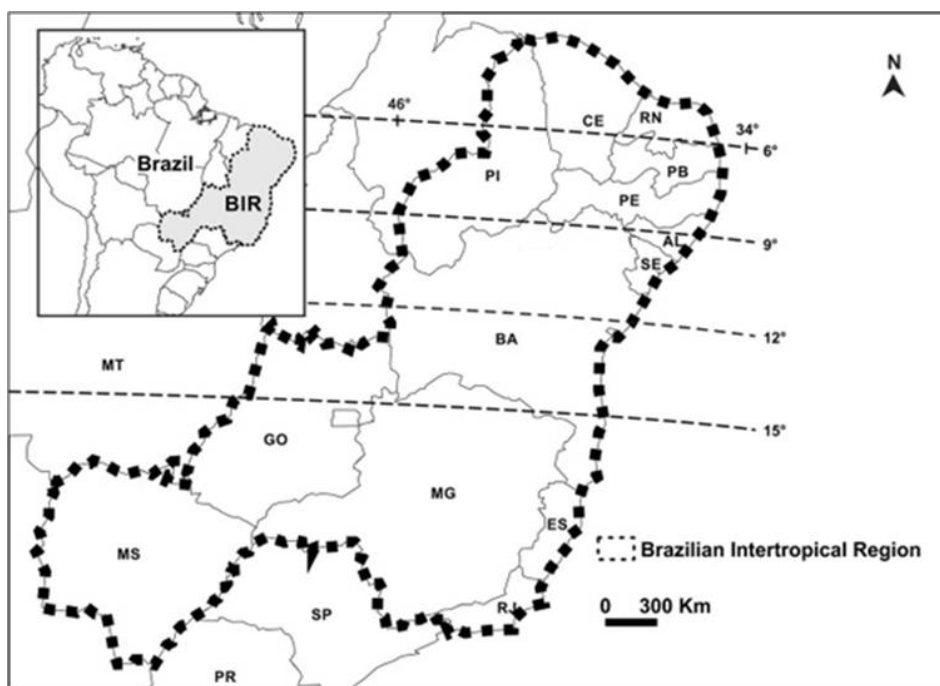
De acordo com Morrone (2014), a região Neotropical é composta por três sub-regiões: a sub-região das Antilhas, a sub-região Brasileira, e a sub-região Chacoana (Morrone, 2006; 2014; Arana et al. 2021) (Figura 7). Esta última, tem datação de formação provável para o período do Mioceno Superior (9 a 6,8 Ma) (Roig-Juñent et al., 2006), e é considerada uma unidade monofilética para a Biogeografia Cladística (Morrone, 2006; Avilla et al. 2013). Esta sub-região apresenta espécies autóctones e alóctones em simpatria, apresentando um cenário gerado pelo acréscimo das oscilações climáticas ocorridas em toda região Neotropical durante o Pleistoceno (1,6 Ma).

Delimitada numa área conhecida como *Diagonal de Áreas Abertas Secas da América do Sul* (Morrone, 2014), a sub-região chacoana apresenta uma vasta conjunção de biomas com vegetação aberta e clima semiárido, dos quais são conhecidos: o Chaco, os Pampas, o Cerrado, o Pantanal e a Caatinga. As pressões ecológicas causada pelas oscilações climáticas impulsionaram a movimentação da fauna na direção das altas latitudes para as baixas latitudes. Isto se deu devido a ocorrência de invernos na região Pampeana, com temperaturas médias muito mais baixas que as ocorridas no Pleistoceno Superior, condição biologicamente inviável para a Biodiversidade vigente (Prado et al., 1987).

E, por isso, Cartelle (1999) considera a porção boreal desta diagonal, representada atualmente pela Caatinga, como um refúgio climático que teria

abrigado e sustentado uma variedade de táxons adaptáveis a áreas secas e abertas, advindos de uma ampla distribuição geográfica. Toda a diversidade é bem representada na variedade dos biomas contidos e suas florestas. Há evidência de que um período de aumento de umidade, ocorrido após o Último Máximo Glacial (UMG), de 18.000 – 12.000 anos atrás, influenciou a fragmentação da sub-região Chacoana nas províncias biogeográficas definidas por Morrone (2006) pelos biomas atuais Chaco, Pampas, Cerrado e Caatinga.

No Brasil, ainda inserido na sub-região Chacoana, uma sub-demarcação de uma área biogeográfica na mesma área, conhecida por *Região Intertropical Brasileira* (RIB), é considerada uma área biogeográfica que se estende pelas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, com exceção dos estados do Maranhão, São Paulo e Mato Grosso, respectivamente (Cartelle, 1999; Oliveira et al., 2017) (Figura 6).



**Figura 6.** Delimitação da Região Intertropical Brasileira. Adaptado de Oliveira et al, 2017.

Nela estão inseridas maioritariamente as províncias da Caatinga e do Cerrado (41, 42 Figura 7), pertencente ao domínio Chacoano; e as províncias da Chapada Diamantina, Atlântica e do Espinhaço, do domínio Paraná (46, 47 e 50, respectivamente; Figura 7) (Morrone et al, 2022).

A Teoria do Refúgio foi proposta primeiramente para a Amazônia por Vanzolini e Williams (1981), e posteriormente para a região do Nordeste

brasileiro por Cartelle (1999), sendo a porção representada especificamente pela área do Bioma Caatinga. Essa hipótese também foi levantada por Ab'Saber (2003; 2006) na Teoria dos Redutos de Vegetação e dos Refúgios de Fauna. Ela defende que nas últimas glaciações, alterações climáticas e ambientais influenciaram a extensão da Caatinga nas áreas litorâneas da porção atlântica do Brasil, e no Cerrado a ocupação de áreas de vegetação tropical de floresta úmida se restringia às planícies amazônicas. Esse cenário favoreceu o refúgio progressivo da fauna mais ao Sul, juntamente com o aumento populacional na Florestas Sazonalmente Secas (FTSS), na região do semiárido nordestino (Haffer e Prance, 2002).

Prado e Gibbs (1993) assumem que esse deslocamento populacional se deu por um evento único de vicariância, e propõem que o padrão de distribuição atual das espécies das FTSS é disjunto e fragmentado. Essa organização seria um vestígio da expansão das florestas sazonais e contração das florestas úmidas no Último Máximo Glacial, comentada anteriormente. Algumas áreas chamadas de "Brejos de altitude" abrigam remanescentes desta floresta tropical úmida, pretérita na Caatinga, e que unia Amazônia e Mata Atlântica, antes da retração na vegetação atual característica do semiárido nordestino (Andrade-Lima, 1982; De Oliveira et al., 1999). Com base em estudos palinológicos, o estabelecimento do clima semiárido é relatado para o início do Holoceno (10.000 anos) (Behling et al., 2000).

A Caatinga configura o núcleo de maior extensão das FTSS na América do Sul (Prado, 2003; Silva et al., 2017a). Compreende  $\pm$  11% do território brasileiro, se distribuindo em uma área de 862.818 km<sup>2</sup> (IBGE, 2019). O clima semiárido tem alto potencial de evapotranspiração (1.500–2.000 mm/ano), baixa precipitação (300–1.000 mm/ano) e estação seca de 6 a 11 meses com temperaturas elevadas (Queiroz, 2006; Sampaio, 2010; Moro et al., 2016; Souza, 2020). Sua formação florestal forma um mosaico vegetacional desde formações abertas, mais arbustivas, até florestas secas densas, dependendo de degradação local ou do grau de aridez (Velloso et al., 2002; Silva e Souza, 2018). E nesta vegetação são representadas adaptações características do bioma: a presença de espinhos, como as cactáceas; com herbáceas na estação chuvosa; e com folhas decíduas da estação seca (Queiroz, 2006; Werneck et al., 2000).



**Figura 7.** Províncias biogeográficas da Região Neotropical. Fonte: Morrone et al. (2022) com adaptação de Oliveira et al. (2017).

O bioma é composto por uma biodiversidade relevante, com representações de diversos táxons, em que possui elevado número de espécies endêmicas (Silva et al. 2018). Em torno de 600 espécies da sua fauna e da sua flora estão nas listas de prioridade de conservação pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2016; CTFB, 2022; Re flora, 2020). A mastozoologia na região está entre as áreas de estudo menos exploradas. Dentre as 183 espécies de mamíferos catalogadas para a Caatinga, contabiliza-se que 45 destas é de

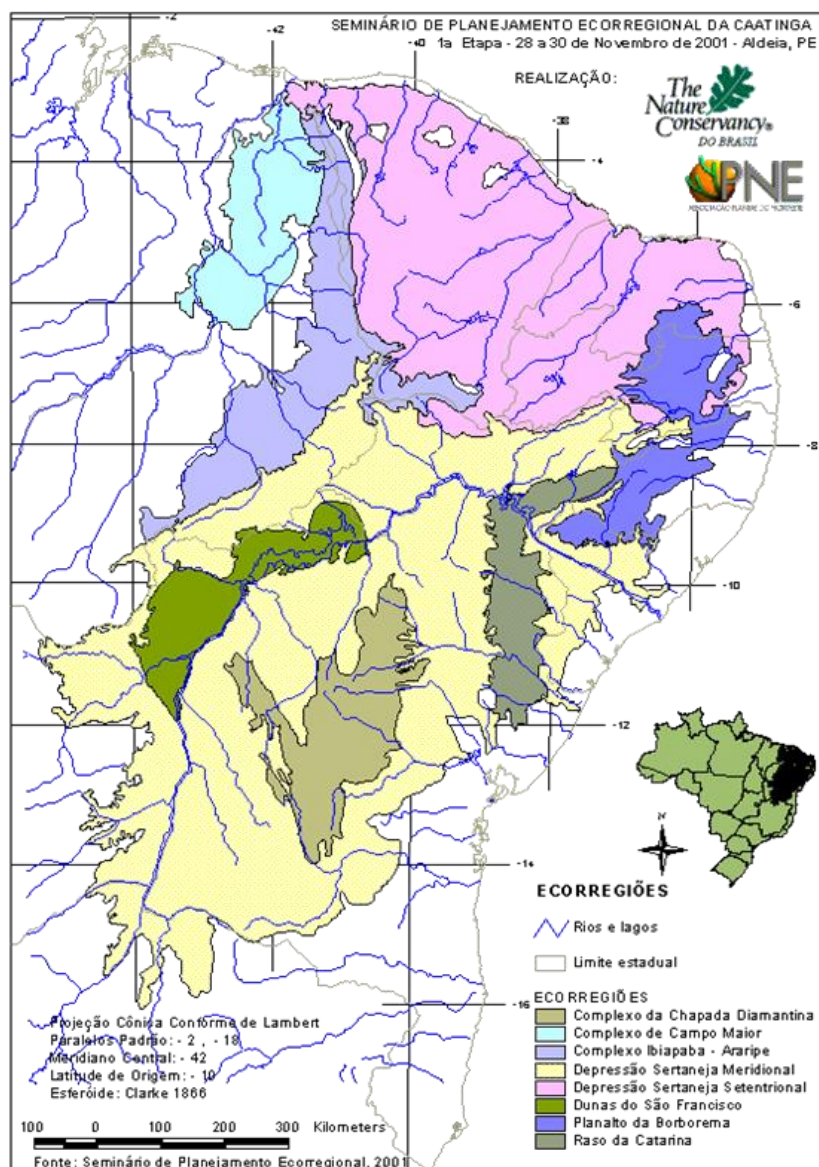
médio e grande porte, e 11 são endêmicas (Carmignotto e Astúa, 2017; Silva et al. 2018).

Albuquerque (2017) denuncia a necessidade de aumento da amostragem de espécies na Caatinga que ainda é bastante desconhecida. O desconhecimento sobre alguns fatores intrínsecos da biologia das espécies (comportamento, nichos temporais, busca por recursos) atrapalham na criação de estratégias para abordagens metodológicas, e inviabiliza o planejamento e implantação de ações de conservação e manejo eficientes (Santos et al. 2011; Bonifácio et al., 2015; Marinho et al., 2018). Além disso, a reduzida parcela de investimentos comparadas à Unidades de Conservação de outros biomas, atrapalha a eficiente implantação de estratégias proativas de conservação que já contam com informações balizadoras para a Caatinga, como: o grau de integridade do habitat, a conectividade do habitat, a representatividade biológica, a geopolítica e a pressão antrópica (Teixeira et al, 2021).

Apesar do destaque de sua importância, a Caatinga não provém um esforço de conservação à altura, sendo considerado um dos biomas mais negligenciados no interesse de estudos, e por isso mais ameaçado e menos protegido (Banda et al. 2016). Menos de 2% de sua área original está sob proteção de Unidades de Conservação de Proteção Integral, apenas 1,3% está em reservas com proteção legal total e mais de 60% de suas áreas são suscetíveis aos agravos da desertificação (Tabarelli e Silva, 2003, Fonseca et al. 2017; Silva et al 2017; Antongiovanni et al, 2018; Demartelare, 2021; Teixeira et al., 2021). Fora todos os desafios ambientais e os agravamentos das ações antrópicas, as UC's do bioma enfrentam desafios na gestão desde questões fundiárias à manutenção básica da gestão (The Nature Conservancy Do Brasil, 2000).

Acrescido a esta situação, a perda da cobertura vegetal já chega a 46%, com grande colaboração da degradação antrópica de uma população de 28,6 milhões de habitantes (IBGE, 2012), em contexto socioeconômico carente, e dependente dos recursos florestais da Caatinga (MMA, 2016a; Albuquerque et al. 2017). A forte pressão da caça e da expansão da pecuária de criação extensiva de bovinos, ovinos e caprinos, configurando as espécies de maior número no bioma chegando a 10 milhões de cabeças, agravam a depauperação ambiental (Alves et al., 2016; Albuquerque et al. 2017).

Todo esse contexto está distribuído geologicamente em dois ambientes, caracterizados por diferentes tipos de solos, em que a maioria é do tipo cristalino, além da existência dos tipos sedimentar, e terrenos de rocha calcária (Moro et al. 2016). Velloso et al (2002) cataloga a variedade de solos desde pedregosos e rasos a profundos e arenosos. E, baseado em algumas características particulares a cada perímetro, em que se consideram fatores abióticos e congruências de biodiversidade regional, nos propõe a delimitação da caatinga em oito ecorregiões (Figura 8 - Tabela 1).



**Figura 8.** Ecorregiões da Caatinga (Velloso et al. 2002).

Segundo o conceito ecológico de Bailey (2014) para delimitação de ecoregiões, Velloso et al (2002) as dividiu como: "Unidades relativamente grandes de terra e água delineadas pelos fatores bióticos e abióticos que

regulam a estrutura e função das comunidades naturais que lá se encontram". Esses grandes blocos geograficamente distintos se configuram em áreas com condições ambientais similares e compartilhamento de espécies, processos e dinâmicas ecológicas (Bailey, 2014). Entretanto, podem ser definidas em diferentes escalas devido os fatores controladores de cada ecorregião, como altitude, relevo e padrões de precipitação (Tabela 1), e que podem ser percebidas pelas alterações abruptas nestes padrões nas regiões de fronteira entre as ecorregiões (Velloso et al 2002).

Desta forma, as ecoregiões são importantes meios de planejamento para ações de conservação, pois reúnem aspectos geomorfológicos, climáticos, vegetacionais e relativos à estrutura do solo. Essas delimitações podem demonstrar congruência com a composição de espécies (Vasconcelos et al., 2014), como também regionalizar a heterogeneidade do bioma relacionado. Além disso, formações geológicas como chapadas e serras compõem nuances nos padrões apresentados, e que podem influenciar na modulação ambiental e processos de especiação (Martins et al., 2018)

**Tabela 1.** Resumo das informações sobre as ecorregiões da Caatinga.

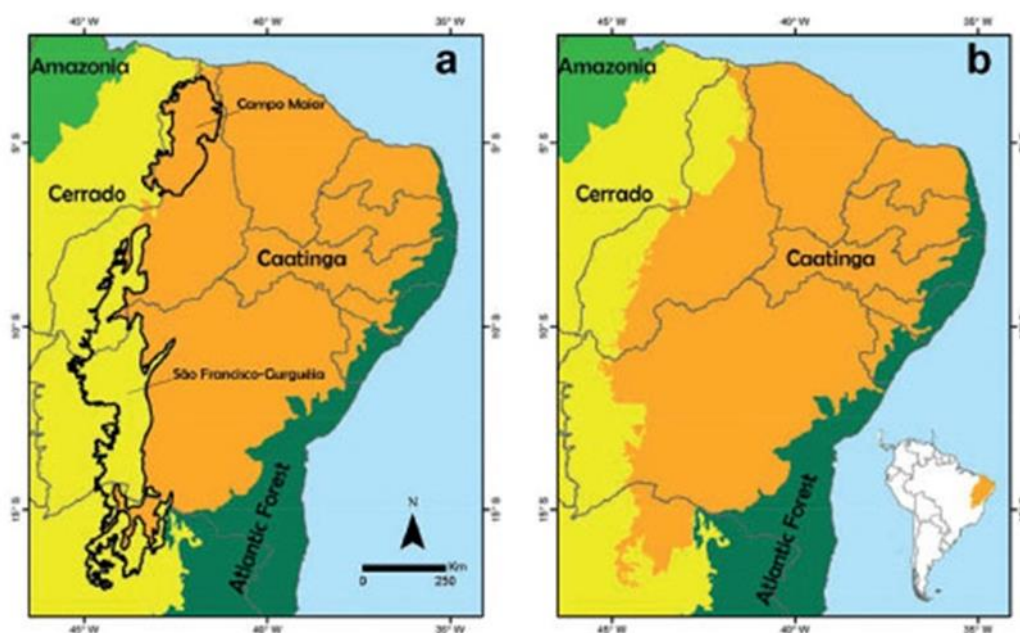
<b>Ecorregião</b>	<b>Localização</b>	<b>Característica</b>
<b>Complexo do Campo Maior</b>	Piauí e sudoeste do Maranhão.	Inundações periódicas nas planícies sedimentares
<b>Complexo Ibiapaba-Araripe</b>	Entre o Piauí e o Ceará.	Composto pelas Chapadas da Ibiapaba e do Araripe
<b>Depressão Sertaneja Setentrional</b>	Norte de Pernambuco, e partes da Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, norte do Piauí.	Área mais seca da Caatinga
<b>Planalto da Borborema</b>	Partes do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas.	Relevo movimentado e altitudes superiores
<b>Depressão Sertaneja Meridional</b>	Maior parte do domínio.	Chuvas regulares; corpos de água temporários.
<b>Dunas do São Francisco</b>	Centro-oeste do domínio.	Dunas de areias quartzosas
<b>Complexo da Chapada Diamantina</b>	Centro-sul do domínio; Parte mais alta e fria.	Campos rupestres nas partes altas; caatinga nas regiões baixas.
<b>Raso da Catarina</b>	Centro-leste do domínio.	Caatinga arbustiva; areia densa

Entretanto Silva et al. (2017a) propõe a exclusão de uma ecorregião reconhecida por Velloso et al (2002) devido ao fato da região ser dominada por campos, com poucos fragmentos com fitofisionomia da Caatinga remanescente



(Moro et al. 2014, 2016). Como também incluiu a região do médio Vale do Rio São Francisco por apresentar unidades fisionômicas do semiárido nordestino (Andrade-Lima, 1981; Prado, 2003). Estas alterações foram acolhidas pela atualização do IBGE (2019) (Figura 9).

Ao observarmos a biogeografia histórica podemos compreender a relação entre as áreas de uma região amostrada, e conseguimos especificar qual a sequência processual e os respectivos momentos de eventos vicariantes (Cracraft e Prum, 1988). No entanto, é possível que as barreiras que aparentemente afetariam grupos de organismos também contribuam para o delineamento da história biogeográfica, desde que haja congruência de resultados. Unida à abordagem da biogeografia cladística, podemos ainda verificar possíveis congruências biogeográficas entre o táxon e sua área que possam determinar como os padrões de distribuição puderam ser formados (Santos; Amorim, 2007b)



**Figura 9.** Demonstração dos mapas de distribuição do bioma Caatinga, em que (a) estão inseridas as oito ecorregiões propostas por Velloso et al (2002) e (b) nos que está com delimitação atualizada proposta por Silva et al. (2017a). Fonte: Tabarelli et al, 2018.

De Araújo et al (2022) nos traz uma revisão que salienta a Caatinga como um sistema ecológico composto por mosaicos paisagísticos, de heterogeneidade de habitats sustentada independente do período climático pretérito ou atual. Ele também defende que o bioma possui compartilhamento filogenético de espécies

com as das regiões do entorno (Harvey et al., 2020), indicando como que alguns intercâmbios bióticos sucederam na especiação *in situ* demonstrada pela endemidade da região.

Esta biodiversidade é apontada nos registros de espécies da família Cervidae, desde o período do final do Pleistoceno ao início do Holoceno no Brasil, como os extintos *Antifer* e *Morenelaphus*; e os outros gêneros ainda viventes *Blastocerus dichotomus*, *Odocoileus virginianus*, *Ozotoceros bezoarticus*, *Mazama americana* e *Subulo gouazoubira* (Oliveira et al., 2014). Para a região Nordeste do Brasil são confirmadas algumas espécies (Tabela 2 – Adaptada de Oliveira et al., 2014), de grande a médio porte, demonstrando a diversidade de ambientes que se formaram da Região Intertropical Brasileira (RIB) (Anteriormente ilustrada da Figura 6), especificamente na Caatinga.

**Tabela 2.** Espécies da família Cervidae registradas do final do Pleistoceno e início do Holoceno no Nordeste brasileiro. Abreviações: BA, Bahia; PE, Pernambuco; PB, Paraíba; RN, Rio Grande do Norte; PI, Piauí.

	BA	PE	PB	RN	CE	PI
<i>Blastocerus dichotomus</i>					x	x
<i>Mazama americana</i>	x					x
<i>Subulo gouazoubira</i>	x		x	x	x	x
<i>Morenelaphus</i>		x				
<i>Ozotoceros bezoarticus</i>					x	

No estado do Ceará foram referidas as espécies *Subulo gouazoubira* e *Ozotoceros bezoarticus* (Gomide, 1989; Magalhães et al., 1992; Bergqvist et al., 1997), e *Blastocerus dichotomus* (De Magalhães, 1987) em tanques naturais de depósitos fossilífero, no mesmo intervalo de período geológico (Oliveira et al., 2014). Enquanto que no Parque Nacional da Serra da Capivara, estado do Piauí, estudos arqueológicos apresentam ossadas de *Blastocerus dichotomus*, extinto para a região, e dos veado-mateiro (*Mazama americana*) e veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*), desde o pleistoceno superior e presentes até hoje na fauna local (Guérin e Faure, 2009).

Outra espécie, já extinta, como o *Morenelaphus brachycerus*, tem registro no Ceará e em Pernambuco. O material fossilífero é datado em  $4 \pm 2$  mil anos

atrás (Avilla et al., 2013). Essa espécie possuía uma plasticidade ecológica, com amplitude geográfica desde as áreas extra-andinas argentinas a regiões mais úmidas e mais ao norte da Diagonal de Áreas abertas. Esta porção mais boreal tinha uma condição climática proporcionada após o fim do LGM até o Ótimo Glacial Climático do Holoceno (HCO) (5 a 3.6 mil). Entretanto, a estabilização do clima no semiárido e a diminuição da umidade ao final do HCO (Tonni et al., 1999) parecem ter influenciado a extinção da espécie na região. A existência desta espécie de grande porte, com chifres enormes, sugere a presença de áreas de pastagens naturais e condições climáticas mais amenas para o final do Pleistoceno na Região Intertropical Brasileira (Rotti et al., 2021).

Os achados dos estudos de paleozoologia e paleoambiente nos apontam para a carência de dados acerca de conhecimento dos processos macroevolutivos da família Cervidae na região nordestina, para um entendimento mais amplo da evolução das populações de espécies existentes. Além disso, as pesquisas existentes têm seu limite informativo acrescidos do baixo número de dados gerados no Nordeste, e/ou não apresenta identificação específica através da morfologia dos fragmentos fósseis, muitas vezes identificados como “Cervidae Ident.”.

Diante a demanda, é necessário um maior entendimento sobre o táxon que apresenta algumas lacunas em sua sistemática, ademais sobre as populações da Caatinga (Carmignotto e Astua, 2017). Para tanto é urgente o conhecimento dos processos macroevolutivos da família na região, para um entendimento mais amplo da evolução das populações remanescentes (Alves et al., 2016; Heckberg, 2020).

## **2.5. Contribuições da Filogeografia para a Cervidologia na Caatinga**

Do mesmo modo que os trabalhos naturalistas foram ganhando complexidade com o conjunto multidisciplinar aplicados às investigações científicas, as abordagens aplicadas nas pesquisas sobre a evolução da fauna Neotropical também agregam inferências sob perspectivas integrativas como paleoclimatologia, bioinformática e genética populacional (Ribas et al. 2012). Essa tendência nos permite observar aspectos ligados às histórias demográficas de espécies e suas subpopulações a partir da Biologia Molecular, recuperando dados sobre padrões temporais de suas linhagens genéticas. A contribuição nos

esforços para conservar a diversidade biológica é adquirido nas possíveis evidências para reconhecimento de complexos de espécies, a partir do que poderia se considerar uma única espécie com ampla distribuição (Frankham et al., 2010). O desconhecimento sobre o status taxonômico do organismo de estudo pode inviabilizar ações de conservação eficientes, impedindo a proteção devida à espécies ameaçadas, o que pode causar mau direcionamento dos recursos em uma gestão assertiva (Frankham et al., 2010).

A partir da genealogia de marcadores moleculares sob seleção é possível entender os componentes históricos e filogenéticos das distribuições espaciais de linhagens de genes, e o que ocorreu na dinâmica da paisagem ao longo das eras que influenciaram a formação e a distribuição das espécies. O que possibilita uma perspectiva do contexto temporal mais ampla que enfatiza o papel das pressões ecológicas nas características do organismo. Conjuntamente, relacionam-se as distribuições espaciais dentro e entre linhagens de populações cujas relações filogenéticas são deduzidas. Esta relação permite mensurar o grau de distanciamento entre as subpopulações observadas, sendo um parâmetro essencial para a compreensão mais robusta da história biogeográfica. Como o DNA mitocondrial evolui rapidamente sem recombinação intermolecular, é uma considerável ferramenta dos estudos filogeográficos (Avise, 2007).

Pelo fato do mtDNA ser haplóide e de herança materna, estima-se que a inferência do seu tamanho efetivo populacional ( $N_{e_{mt}}$ ) seja um quarto da dos genes nucleares ( $N_{e_{nuc}}$ ). Tal característica os torna menos susceptíveis à separação incompleta de alelos ancestrais, e, portanto, à incongruência com a árvore de espécies (Moore, 1995). Do contrário de uma abordagem baseada em frequências de alelos populacionais, como é tipicamente feita a análises com marcadores nucleares, a unidade natural e básica de análise para mtDNA é o organismo individual. Dentre as características básicas que implementam o uso do mtDNA para estudos populacionais e filogeográficos estão o alto polimorfismo intraespecífico, o rápido ritmo evolutivo e a herança matrilinea. Com base nesses requisitos, as pesquisas de genética populacional podem revelar e mensurar a distribuição da variação genética, de modo a esclarecer processos ecológicos e evolutivos. A comparação de árvores de genes mitocondriais possibilita a detecção de separação incompleta de haplótipos ancestrais, que pode não ser

percebida quando somente uma árvore de gene é analisada (Avise, 2009).

Para viabilizar uma melhor fonte de dados, algumas abordagens podem ser escolhidas no desenvolvimento dos estudos de genética populacional, como o uso de amostragem não-invasiva. Sendo um método eficiente para adquirir amostragem de espécies elusivas, como é o caso dos cervídeos, uma opção bem estabelecida é através de amostragem fecal (de Faria Peres et al., 2021; de Oliveira et al., 2022). Aliada a estratégias de genética forense podem viabilizar informações relevantes sobre a população estudada. Por serem mais resistente em amostras degradadas, genes do DNA mitocondrial são investigados em fragmentos de pequenos pares de base (~300pb). O conhecimento sobre a variabilidade genética das populações, e entre elas, auxilia no planejamento de manejo no caso de perturbações ambientais que gerem estocasticidade.

O enfoque da filogeografia nos fornece informação para a suposição de áreas prioritárias para a conservação, como também indicam grupamentos intraespecíficos, denominados “*Unidades Evolutivas Significativas (ESUs)*” definidas por distribuição geográfica e padrões genéticos únicos (Moritz, 1994; Avise, 2004). Para tanto, no estudo filogeográfico são comparadas informações genéticas e espaciais de vários indivíduos de uma metapopulação, buscando inferir sobre suas genealogias e os seus perfis filogeográficos.

Nos indivíduos de *Subulo*, machos e fêmeas apresentam estaturas semelhantes (Duarte, 1996), e esse dado indica uma proporção mais equalitária na área de vida dos veados por não haver demanda de maior taxa metabólica de um dos lados (Wecherly, 1993). Existem algumas explicações para as diferentes taxas de filopatria ou dispersão, em que autores indicam um padrão derivado de estratégias de cada sexo que auxiliam no fitness reprodutivo, balizado pelo sistema de acasalamento (Dobson, 1982). O fluxo gênico das populações de cervídeos ocorre principalmente pela dispersão dos machos, e que as fêmeas apresentam comportamento filopátrico (Greenwood, 1980; Oliveira et al., 2015). Greenwood (1980) relata que o benefício para fêmeas com este comportamento está na familiaridade da área de vida e disponibilidade de recursos, assim como por apresentarem uma boa relação de tolerância com outras fêmeas. Tais condições lhes permitem investimento na geração de descendentes. Já para os machos a vantagem da dispersão está em evitar a competição com outros machos residentes dominantes, e que não seja

promovido o endocruzamento com fêmeas aparentadas e filopátricas. Mesmo que não tenha nenhuma relação direta com a prole, desempenham o papel de defesa de território e competição pela manutenção do acasalamento exclusivo com múltiplas fêmeas (Greenwood, 1980; Moore e Ali, 1984).

A aplicação do NGS ainda é limitada para o tipo de amostragem em questão, como é o caso do DNA fecal advindo de herbívoros ruminantes como os cervídeos neotropicais. Já sendo uma amostra com DNA degradado, ainda contém uma quantidade significativa de material genético de plantas, bactérias, fungos e protozoários. A abundância e estrutura do DNA contido na mitocôndria também contribui decisivamente para sua escolha como material modelo para ser trabalhado em material fecal. Outros estudos demonstram a eficiência da investigação de hipóteses a partir do concatenado de sequências de fragmentos de marcadores selecionados, ainda mais quando é levada em consideração a informação advinda de cada marcador do conjunto (Hassanin et al., 2012).

Mesmo que hajam avanços e aumento no número de estudos filogeográficos, apenas uma pequena fração da Biodiversidade é analisada sob a perspectiva da área de estudo (Avise, 2000). Especificamente, dos poucos trabalhos envolvendo cervídeos neotropicais, Marquez et al (2006), avaliando o marcador mitocondrial D-loop, evidenciou uma rápida expansão de subpopulações de Cervo-do-Pantanal (*Blastocerus dichotomus*) próximas ao Pantanal, entre 28.000 e 25.000 anos, possivelmente promovido pela precipitação de latitudes médias na América do Sul nesse intervalo de tempo. Outro, mais recente, de Serna-Lagunes et al., (2021) avalia duas populações mexicanas de *Mazama temama*. Neste estudo é destacado o isolamento geográfico e reprodutivo das populações, também através da inferência do D-loop do mtDNA.

Em se tratando dos biomas de vegetação aberta, os padrões gerais de fauna e flora não são bem reconhecidos, sendo necessária a integração de perspectivas biogeográficas e filogeográficas com embasamento molecular de estudos para a América do Sul (Werneck et al., 2011). Com todo o potencial expresso pela linha de pesquisa, é esperado que se torne uma grande área de prospecção do conhecimento das populações naturais. Em contrapartida, o número de estudos ainda não é aplicado de maneira equalitária, nem em relação a diversidade de táxons e nem para as populações da Caatinga em relação aos

outros biomas (Feijó; Langguth, 2013; Alves et al., 2016). Através desse concatenado de saberes da filogeografia é permitido ir além do entendimento dos processos colonizadores, impactando também nosso entendimento sobre especiação, taxonomia e conservação.

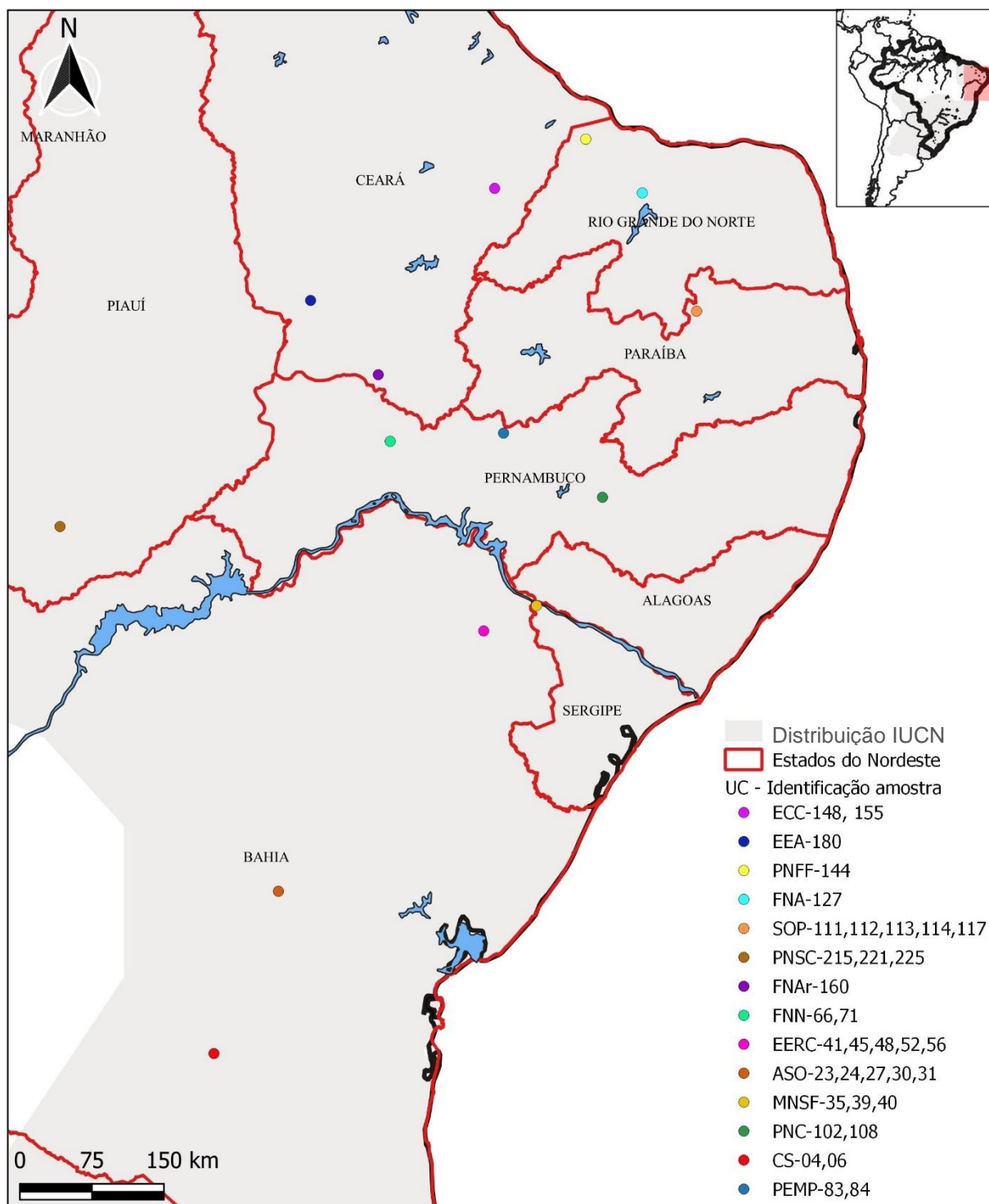
Esse incremento de informações viabiliza o embasamento científico que já é adotado formalmente para o processo de definição de prioridades para a conservação regional, e, para tanto, a estruturação de um *planejamento sistemático de conservação* (Araujo et al., 2022). Ao relacionar informações bióticas e não-bióticas é possível identificar as áreas prioritárias para a conservação a partir de dados da biodiversidade e da paisagem da região, e dos alvos e áreas de conservação já existentes (Watson et al., 2011). Na Caatinga esse processo já foi aplicado com êxito, levando a definições que protegem espécies ameaçadas, habitats únicos e ecossistemas ameaçados (Fonseca et al., 2017).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas para as análises filogenéticas o DNA fecal obtidos de amostras coletadas em campo (com ampla distribuição geográfica no Bioma Caatinga), sequencias de mtDNA de amostras do GenBank, do banco de dados do NUPECCE (sequencias referência).

#### **3.1. Amostragem Fecal**

As amostras fecais foram coletadas preferencialmente no perímetro do domínio fitogeográfico da Caatinga, em uma delimitação de estudo motivada pela escassa quantidade de informações genéticas e filogeográficas do grupo alvo. Assim, os pontos a serem coletados abrangeram as Áreas Prioritárias para Conservação da Biodiversidade da Caatinga, como exposto por Velloso et al. (2002) e Tabarelli et al. (2003). Os pontos de coleta abrangem 6 das 8 ecorregiões propostas para o bioma por Velloso et al., (2002) (Figura 10).



**Figura 10.** Pontos de coleta da amostragem fecal especializados nos 7 estados coletados. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

Foi considerada a correção proposta por Silva et al. (2017b) que retira a



área da ecorregião do Campo Maior do perímetro do domínio da Caatinga, justamente por sua composição fitogeográfica ser mais relacionada ao Cerrado. Esta consideração é corroborada pela última atualização da demarcação geográfica do IBGE (2019) (Figura 5). Além dessa exclusão, a ecorregião das Dunas do São Francisco também não participa da amostragem devido a inadequabilidade de formação florestal característica para a presença de cervídeos.

Com todas essas considerações, e no intuito de uma distribuição ampla das áreas pela região de estudo, foram selecionados 14 pontos para amostragem fecal, entre Unidades de Conservação de Uso Sustentável (US) e Proteção Integral (PI) (Tabela 4). Sendo assim, foram priorizadas áreas com suspeita de registro de cervídeos (Da Cruz, 2005; Delciellos, 2016; Feijó et al., 2016; Dias e Bocchiglieri, 2016; Carmignotto e Astúa, 2017), acrescidas de informações locais da comunidade civil.

**Tabela 3.** Locais de estudo selecionadas para amostragem fecal. Siglas: Id= identificação da área de estudo, PN=Parque Nacional, EE=Estação Ecológica, PE= Parque Estadual, FN= Floresta Nacional, PI= Unidade de Conservação de Proteção Integral, UF=Unidade da Federação, US = Uso Sustentável, PP = Propriedade Particular.

Id	Local	Classificação da UC	UF	Ecoregião
1	FN Contendas do Sincorá	US	BA	Depressão Setentrional Sertaneja
2	ARIE Serra do Orobó	US	BA	Complexo da Chapada Diamantina
3	EE Raso da Catarina	PI	BA	Raso da Catarina
4	MN Rio São Francisco	PI	AL	Depressão Setentrional Sertaneja
5	FN Negreiros	US	PE	Depressão Setentrional Sertaneja
6	PE Mata da Pimenteira	PI	PE	Depressão Setentrional Sertaneja
7	PN do Catimbau	PI	PE	Depressão Setentrional Sertaneja
8	FN de Açu	US	RN	Depressão Meridional Sertaneja
9	PN Furna Feia	US	RN	Depressão Meridional Sertaneja
10	EE do Castanhão	PI	CE	Depressão Meridional Sertaneja
11	EE de Aiuaba	PI	CE	Depressão Meridional Sertaneja
12	FN Araripe-Apodi	US	CE	Complexo Ibiapaba-Apodi
13	PN da Serra da Capivara	PI	PI	Complexo Ibiapaba-Apodi
14	Microregião do Seridó Oriental Paraibano	PP	PB	Planalto da Borborema

### 3.2. Amostras de Referência

Para conferência mais acurada das sequências nucleotídicas geradas no estudo, foram selecionadas um bloco de sequências de mitogenomas vouchers de espécimes de cervídeos neotropicais, incluindo o neótipo sugerido para *S. gouazoubira*, para as análises filogenéticas e filogeográficas subsequentes (Tabela 3). Essa amostragem faz parte do banco de animais coletados pelo Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista (FCAV, UNESP).

**Tabela 4.** Lista de indivíduos e identificação das sequências de referência utilizadas na matriz de referência para análises filogenética e filogeográficas (Odocoileini:Capreolinae:Cervidae).

<b>Espécie</b>	<b>ID</b>	<b>Origem</b>	<b>Matriz</b>
<i>Subulo gouazoubira</i>	T377	Voucher Nupecce	ingroup
<i>Subulo gouazoubira</i>	T389	Voucher Nupecce	ingroup
<i>Subulo gouazoubira</i>	T082	Voucher Nupecce	ingroup
<i>Subulo gouazoubira</i>	T386	Voucher Nupecce	ingroup
<i>Subulo gouazoubira</i>	T314	Voucher Nupecce	ingroup
<i>Subulo gouazoubira</i>	NC_020720.1	GenBank	ingroup
<i>Passalites nemorivagus</i>	T024	Voucher Nupecce	outgroup
<i>Passalites nemorivagus</i>	T346	Voucher Nupecce	outgroup
<i>Passalites nemorivagus</i>	JN632660.1	GenBank	outgroup
<i>Odocoileus virginianus</i>	KM612278	GenBank	outgroup
<i>Odocoileus virginianus</i>	JN632673	GenBank	outgroup
<i>Blastocerus dichotomus</i>	NC_020682.1	GenBank	outgroup
<i>Ozotocerus bezoarticus</i>	MZ350860.1	GenBank	outgroup
<i>Ozotocerus bezoarticus</i>	JN632681	GenBank	outgroup
<i>Mazama rufa</i>	T385	Voucher Nupecce	outgroup
<i>Mazama americana</i>	T358	Voucher Nupecce	outgroup

Estes indivíduos têm origem na natureza majoritariamente, e foram acessados através de criadouros públicos e privados, ou diretamente de

indivíduos coletados em vida livre. As matrizes biológicas para o DNA variaram entre amostras de tecido (pele, órgãos), pelo e anel leucocitário de sangue total coletado. Todos estes espécimes têm sua amostragem armazenadas em álcool absoluto (tecido morto) e nitrogênio líquido (tecido vivo), e principalmente para os espécimes tipo, se apresenta o voucher completo (crânio, pós crânio, pele e tecidos) depositado na coleção.

Além das sequências identificadas como vouchers, outras sequências de mitogenomas foram obtidas do GenBank para a formação da matriz de referência. Para contemplar a análise feita pelos 4 marcadores mitocondriais investigados neste estudo, foram escolhidas 9 sequências de mitogenomas entre espécies pertencentes à tribo Odocoileini (Tabela 3).

### **3.3. Coleta de Fezes em Campo**

A expedição de coleta teve a duração de 210 dias, em sequência, durando de 7 de novembro de 2020 a 7 de abril de 2021. A prospecção da amostragem fecal contou com o auxílio de uma cadela detectora de dispersão, a Nicks, treinada especificamente para o encontro de fezes de cervídeos (Figura 11). É envolvido neste treinamento o hábito ao convívio sem interações com outros animais, visando a proteção da fauna local de cada ponto de coleta. Para garantir o máximo de proteção contra a introdução de patologias tanto à fauna local quanto à cadela de trabalho, foi seguido um rigoroso controle sanitário prévio feito pelo Hospital Veterinário da FCAV, UNESP câmpus de Jaboticabal. A manutenção do estado saudável da Nicks consistiu no seguimento das recomendações desta equipe médica veterinária, que incluíam acompanhamento, e uso de medicação e coleira preventivas à contração de doenças e parasitas.

A condução da cadela consistia no monitoramento de seu comportamento de faro, em que poderia se distanciar do condutor a um raio máximo de 20 metros. Para melhor controle e segurança da condução, o uso de um sino indicava a distância adequada de acordo com o volume do som emitido pela movimentação dela.

Na definição dos pontos de coleta foram priorizadas Unidades de Conservação, visando um ambiente mais conservado possível, de modo a contar com áreas mais preservadas, menos fragmentadas e com relatos prévios da

presença da espécie foco. Para tal feito, foi concedida para o projeto proposto ao Instituto Chico Mendes de Biodiversidade (ICMBio), a autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) de numeração 68020-3. Como também sob autorização da Agência Estadual do Meio Ambiente (CPRH), para a coleta em Pernambuco. Em cada Unidade de conservação a coleta teve o planejamento de ser executada em 7 dias ou até completarem o número máximo de quinze amostras fecais.



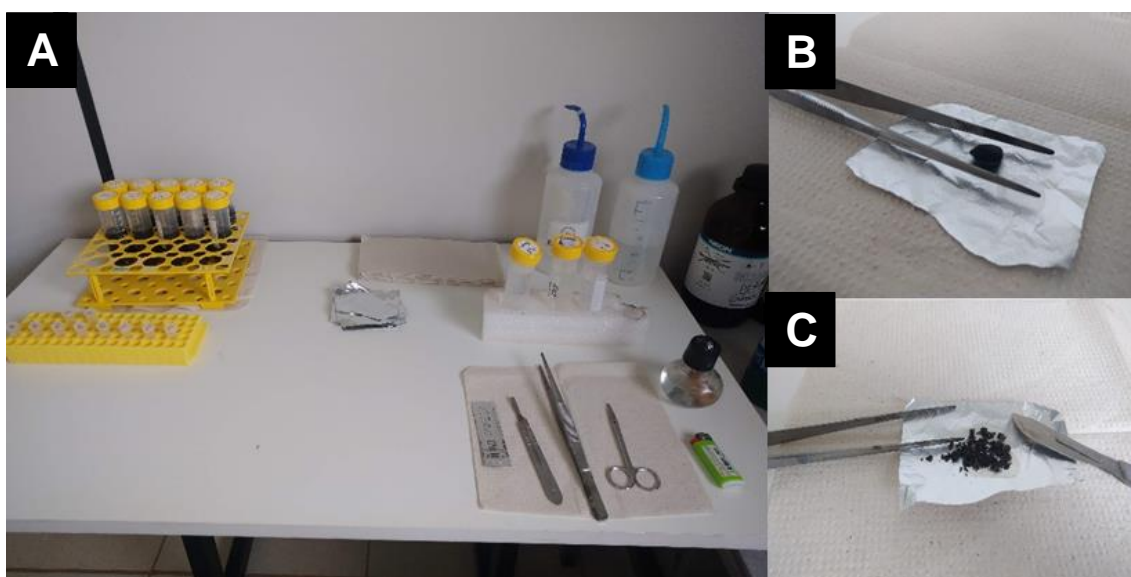
**Figura 11.** (A) Nicks, a cadela farejadora, auxiliar no encontro de fezes de cervídeos, equipada com coleira rastreadora e com seu brinquedo de recompensa. (B) Registro da postura de encontro da amostra na detecção de faro, na Caatinga.

A escolha das amostras foi criteriosa, visto que não havia possibilidade de reamostragem. Sendo assim, só foram coletadas amostras “frescas” (com muco, coloração externa esverdeada e sem fungo) ou “menos fresca” (sem muco, coloração interna esverdeada, e sem fungo). Para cada ponto de coleta de cada amostra fecal foi feita a anotação da coordenada geográfica.

As amostras não tiveram contato com as mãos do coletor, evitando a interferência de epitélio humano na amostra. Os cíbalos fecais foram armazenados em tubos plásticos de centrífuga com tampa de rosca (Falcom 50 mL). A cada um desses tubos foi adicionado etanol absoluto após a chegada à base de campo, mantendo sempre uma proporção mínima de 1 volume de fezes para 4 de álcool (aproximadamente 40 mL de etanol), e estocados em temperatura ambiente até o momento da extração de DNA.

### 3.4. Extração, Amplificação e Sequenciamento das Amostras Fecais

Todas as etapas ligadas às análises moleculares seguiram com a conferência de um controle negativo a fim de verificar possíveis contaminações no processamento. Após a triagem das amostras utilizadas e o processamento prévio dos excrementos (Figura 12), o DNA fecal foi extraído através do protocolo de adsorção à sílica (Glenn *et al.*, 2004), eficiente para amostras de cervídeos (Oliveira, 2015; Peres, 2015).



**Figura 12.** Processamento prévio dos cibalos fecais para os posteriores procedimentos laboratoriais. A – Mesa de preparo das amostras a serem extraídas, incluindo etapa de assepsia do instrumental utilizado (água, cloro 2%, álcool 70% e chama de lamparina); B – Cíbalo selecionado; C – Cíbalo processado para extração de DNA.

Primeiramente, a identificação da espécie das amostras passou por uma triagem genética, em que todas as amostras coletadas passaram por Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), verificando o fragmento de 224pb do gene *Cytb*. Este protocolo de digestão enzimática como já estabelecido por González *et al.* (2009) e Souza *et al.* (2013) auxilia na identificação de cervídeos brasileiros. A partir da hidrólise efetuada pela enzima de restrição *SspI* é possível verificar um padrão de restrição espécie-específico, demonstrada na repartição do fragmento original em subfragmentos de quantificações variadas.

Esta etapa é necessária para designação das espécies presentes na região amostrada, vide suspeita de ocorrência de outras espécies de veados florestais (Complexo *Mazama americana* (Erxleben, 1777) e *Passalites*

*memorivagus* (Cuvier, 1817) em áreas de Caatinga e/ou zonas ecotonais.

Para o seguimento das análises, as amostras identificadas passaram por uma segunda triagem, de acordo com a espacialização de coleta. No intuito de contar com uma amostragem de indivíduos interdependentes e buscar um conjunto variável, foi seguido o respeito a uma distância mínima de 1 km entre as amostras. Esse intervalo espacial é estabelecido devido a área de vida que é registrada para *S. gouazoubira*, que pode alcançar a 64 hectares (Vogliotti, 2003; Peres, 2015).

Foram investigadas mais outras quatro regiões do mtDNA, que foram consideradas por recuperarem hipóteses filogenéticas com bom sinal filogenético e suporte estatístico (Riboldi, 2021), e anteriormente amplificadas dentre as amostras de referência utilizadas neste trabalho. Estes iniciadores estão estabelecidos em estudos com cervídeos neotropicais (Tabela 4). O foco em menores tamanhos dos fragmentos a serem amplificados estão de acordo com condição mais degradada da amostra fecal, que por conter grande quantidade de compostos secundários das plantas podem conter alta prevalência de inibidores para a Reação de Polimerase em Cadeia – PCR (Taberlet et al., 1999).

**Tabela 5.** Características dos iniciadores para amplificação do DNA fecal.

Região	Tamanho	Id. Primer	Iniciador (5'-3')	Fonte
<b>Cytb</b>	224 pb	IDMAZ224-L IDMAZ-H	CATCCGACACAATAACAGCA TCCTACGAATGCTGTGGCTA	González et al2009
<b>Cytb</b>	480 pb	L14724 H15149	CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGT CCTCA	IRWIN et al. 1991
<b>ND2</b>	241 pb	ND2A_F ND2A_R	TTGCACTCAACAGCCATATT GACTGCATGGACTTGCTTAT	Riboldi, 2021
<b>ND5</b>	224 pb	ND5 F ND5 R	TCTCAAACCTGACACTGACTTAC TGCATCTGTTCCGTCATATC	Riboldi, 2021
<b>ND5</b>	252 pb	ND5_252_F ND5_252_R	CCAACCCTACCTAGCATTCTC TACGACGTATTGGCGGTTTC	Riboldi, 2021

A reação de PCR foi padronizada para um volume final de 30ul (25ul de mix e 5ul de DNA), contendo 1x de tampão e 1,5 U de Taq DNA polimerase (ambos Platinum™, Thermo Fisher Scientific); 2 mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,6 mM de dNTP; 1,3 mg/ml de BSA e 0,5 pM de cada iniciador. As reações foram realizadas num termociclador Bio-Rad C1000 Touch™ Thermal Cycler em um protocolo

touch down que totalizou 45 ciclos sob as seguintes condições: um passo inicial de 94° C durante 2 min; seguido de 5 ciclos de 94°C-50 seg/ 58°C-50 seg/ 72°C-50 seg; 6 ciclos de 94°C-50 seg/ 57°C-45 seg/ 72°C-50 seg; 8 ciclos de 94°C-50 seg/ 56°C-40 seg/ 72°C-50 seg; 13 ciclos de 94°C-50 seg/ 55°C-30 seg/ 72°C-50 seg; 13 ciclos de 94°C-50 seg/ 54°C-30 seg/ 72°C-50 seg e por fim uma extensão a 72 ° C durante 10 min.

Os produtos da PCR tiveram sua quantificação confirmada pela visualização em gel de agarose 2%, além de atestar a qualidade do amplificado sem apresentação de bandas inespecíficas. Posteriormente, os produtos foram tratados pelo kit de purificação *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega), seguindo as instruções do fabricante.

O sequenciamento das amostras, fita senso e anti-senso, ocorreram por meio do conjunto de reagentes BigDye™ Terminator v1.1 no sequenciador automático ABI 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California (CA)), no Instituto de Biotecnologia (IBTEC - Unesp Botucatu). A qualidade das sequências obtidas passou por análise visual, pelo programa GENEIOUS (BIALKOWSKA et al., 2017), de acordo com os eletroferogramas correspondentes, com valores de PHRED  $\geq 20$ .

### **3.5. Tratamento da Matriz de Dados Moleculares**

Para confirmar a identificação específica, as sequências passaram por triagem pelo Blast n, e seus pares (senso e anti-senso) tiveram alinhamento executado através do Geneious v. 7.1.9 (<https://www.geneious.com>) pelo método ClustalW, seguido de inspeção visual. Os blocos de sequências nucleotídicas de cada marcador, das sequências de referência e as obtidas no Genbank, tiveram seu alinhamento executado no servidor *on-line* Mafft (Kato et al., 2019). A edição posterior desse primeiro alinhamento teve a revisão e edição feita através do programa MEGA X (Kumar et al. 2018).

No mesmo programa, foram traduzidas sequências de DNA dos genes Cytb, ND2 e ND5 em sequência de aminoácidos para busca por *stop codons* prematuros. Esse procedimento indicaria possíveis pseudogenes. Através de consulta pelo BlastX foi identificado o frame de leitura correto dos blocos de alinhamento, o que viabiliza sucesso nas futuras análises de saturação e partição.

Com as 6 matrizes prontas (de cada um dos genes da amostragem fecal, e de cada um dos genes da matriz de referência), foi possível concatená-las pelo programa Mesquite 3.61 (Maddison e Maddison, 2019). Na primeira ficou a matriz nucleotídica apenas com as sequências de amostragem fecal para as análises populacionais. Na segunda, formou-se a matriz total, juntando a primeira com o bloco de sequências de referências e as adquiridas no GenBank. A matriz de referência, proveniente das amostras vouchers e sequências do GenBank, formou um bloco 4001 pb, com os três genes concatenados. Enquanto que a matriz de DNA fecal totalizou 1179 pb.

A fim de verificar a composição da informação nucleotídica contida nas matrizes, seus estados polimórficos foram detectados pelo programa MEGA X, em que foi possível contabilizar os sítios variáveis e os parcimoniosamente informativos. Enquanto o primeiro busca encontrar variação pelo menos em um indivíduo, o segundo avalia a mutação em um determinado sítio em mais de uma sequência incluída na análise (Miyaki et al., 2001).

Para cada uma das matrizes geradas foi aplicado o teste de Índice de Saturação de Substituição (Iss) com o auxílio do programa DAMBE7.2 (Xia, 2018), a fim de verificar se a informação filogenética nas sequências pode ter sido perdida por uma alta taxa de mutação em alguma posição do códon. Para tanto, foram avaliadas partições de conjuntos de dados contendo as posições 1 e 2, e a segunda com a posição 3 mais propensa a uma taxa de substituição maior do códon. Este índice demonstra que a composição da matriz não é saturada se o valor estimado for menor do que o de referência, validado pelo valor de  $P < 0,05$ . Como resultado, são gerados gráficos que demonstram relação entre o número de transversões/transições em função da distância genética.

### **3.6. Análises de Genética Populacional e Demografia**

No programa DnaSP v. 5.10.01 (Librado e Rozas, 2009) foi gerada uma representação gráfica dos valores observados e esperados da história demográfica das populações, a partir de análise da distribuição de diferenças entre pares (*mismatch distribution*) e a frequência de locais de segregação (espectro de frequências) (Tajima, 1989). Esta representação nos revela o padrão de distribuição das populações, de acordo com as interações dentro da trajetória evolutiva, como: gargalo genético ou isolamento geográfico (Frankham



et al., 2004). Através dela podemos mensurar o efeito que as mudanças demográficas históricas tiveram no tamanho populacional das subpopulações, resultando na diversidade genética observada.

Também no DnaSP v. 5.10.01 foram calculadas a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ), que avalia a média de diferenças por sítio entre duas sequências retiradas ao acaso de uma amostra, e a diversidade haplotípica ( $H_d$ ) que demonstra a probabilidade de dois haplótipos serem diferentes ao serem retirados aleatoriamente de uma amostra. O número de sítios segregantes ( $S$ ), ou polimórficos, apontará os sítios com diferentes nucleotídeos, em haplótipos amostrados de maneira independente.

Os testes de neutralidade foram realizados por meio do programa Arlequin v.3.5 (Excoffier e Lischer, 2010). Seguindo o modelo de variação neutra, foram avaliados os polimorfismos observados nas sequências, de modo a testar a ausência de seleção no conjunto de dados. Esses testes podem indicar decréscimo, expansão ou estabilidade populacional (Nielsen, 2001). O teste  $F_s$  de  $F_u$  se baseia na probabilidade de que em uma população em equilíbrio observa-se mais haplótipos do que os observados na população analisada, com base no valor estimado de  $\theta$  ( $\theta = 4N_e\mu$ , em que  $N_e$  corresponde ao tamanho efetivo da população e  $\mu$  à taxa de mutação por sequência por geração) (Fu, 1997). O teste  $D$  de Tajima é baseado nas diferenças entre os sítios polimórficos e o número de diferenças nucleotídicas, usando um modelo de sítios infinitos sem recombinação (Tajima, 1989).

A distância genética entre as populações e a análise de similaridade também foram mensuradas no programa Arlequin v.3.5 (Excoffier e Lischer, 2010). A distância genética varia entre 0 e 1, e quanto mais alto o valor, mais distantes geneticamente são as populações analisadas. A análise de similaridade genética *Neighbor-Joining* tem como premissa encontrar pares de unidades taxonômicas operacionais (OTU), que minimizem o comprimento total do ramo em cada estágio do agrupamento das OTU's (Saitou e Nei, 1987), sem depender de taxas constantes de substituição nucleotídica. No mesmo programa foram examinadas as diferenças genéticas entre os grupamentos populacionais distribuídos nas ecoregiões. A partir disto foi calculado o *Teste de Variância Molecular* (AMOVA), que estima a variabilidade dentro e entre as populações de *S. gouazoubira*, que refletem a correlação da diversidade haplotípica em

diferentes níveis hierárquicos, de acordo com a origem de amostragem (Excoffier et al., 1992).

Para tanto foram formadas simulações dos grupamentos populacionais de acordo com as barreiras geográficas que pudessem interferir no fluxo gênico das populações: Rio São Francisco, Chapada do Araripe e Planalto da Borborema. Para tal, foi adotada a simulação de agrupamentos entre estas populações de acordo com seus pontos geográficos, e que atendessem a melhor significância  $p$  para os resultados da AMOVA. Desse modo, cada amostra teve sua localidade própria representada, em que foram testados quatro grupamentos, com as 35 amostras subdivididas por todas as 3 barreiras geográficas citadas acima.

Sendo assim, a matriz de distância geográfica entre estes grupamentos, utilizada no AMOVA, foi otimizada pelo software Geographic Distance Matrix Generator v1.2.3 (Ersts, 2012) empregando as coordenadas de latitude e longitude representativas a cada ecorregião.

A rede de haplótipos foi gerada com as matrizes de sequências concatenadas e para cada gene, a partir do software Pop Art 4.8.4 (Bandelt et al., 1999), que a partir da aplicação do método de parcimônia consegue estabelecer o relacionamento entre os haplótipos, com limite de conexão igual a 95%. A construção da rede de haplótipos foi aplicada pelo *median-joining* que se baseia no critério de redes com mínima abrangência (*minimum spanning network*) e utiliza *median vectors* (mv) para conectar os haplótipos observados (SOBER, 1983). Os haplogrupos foram baseados na radiação da rede, avaliando-se a distância entre os haplótipos e entre os haplótipos derivados e, quando possível com o do centro do grupo. A rede foi colorida manualmente, com auxílio do Excel, considerando a frequência do haplótipo em cada domínio neotropical amostrado.

### **3.7. Análises Filogeográficas e Filogenéticas**

Com o Teste de Mantel (Mantel, 1967) verificou-se a significância estatística entre a matriz de distâncias genéticas e a matriz das distâncias geográficas, sendo geradas  $10^5$  permutações para determinar os valores de probabilidade. Ao correlacionar estas duas variáveis (distância genética e de distância geográfica), podemos inferir sobre a condição de estruturação

populacional.

Através do software Barrier v. 2.2 (Manni et al., 2004), aplicamos o procedimento de regionalização geográfica para detectar os locais de possíveis barreiras ao fluxo gênico, identificando interativamente conjuntos de distâncias genéticas contíguas ao longo de redes de conectividade entre os pontos de amostragem (Manel et al., 2003). Estas redes são geradas com aplicação da triangulação de Delaunay, com algoritmo de Monmonier (Manni et al., 2004) em que a representação gráfica das supostas “barreiras” inferidas pelo algoritmo é sobreposta à rede de conectividade a fim de identificar importantes características geográficas refletidas pelo conjunto de dados genéticos. O parâmetro de distância genética utilizada foi a linearizada de Slatkin [ $F_{st}/(1 - F_{st})$ ], calculada no programa Arlequin v 3.5.2.2 (Excoffier e Lischer, 2010)

No Paup (Swofford, 2003), fazendo uso da aplicação do Mr.ModelTest (Nylander, 2004), foi selecionado o melhor modelo evolutivo de acordo com o menor valor de *Akaike information criterion* (AIC) para as análises filogenéticas. Neste programa também foi realizada a análise filogenética de Máxima Verosimilhança, em que foram realizadas 1000 réplicas de *bootstrap* (BTS) para o cálculo de suporte dos nós, mas somente para a matriz completa final (fecal e referência).

Para análise filogenética foram realizadas inferências Bayesianas através da aplicação do Mr.Bayes, desenvolvida no servidor on-line CIPRES *Science Gateway* (Miller et al., 2011). A análise de MCMC (*Monte Carlo Markov Chains*) contou com 50 milhões de gerações para a matriz de DNA fecal completa. A análise teve a amostragem a cada mil gerações, e foi realizada com três corridas distintas. Os dados das árvores geradas foram sumarizados na melhor árvore, sendo aplicado um *burn-in* de 30%. A convergência da análise foi considerada satisfatória pois apresentou valores de ESS (*Estimated Sample Size*) maiores que 200. As árvores finais foram visualizadas, editadas e tiveram valores de suporte de probabilidade posterior (PP) implementados pelo aplicativo FigTree 1.4. (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Estas análises contaram com a representação de algumas espécies da tribo Odoicoileini, em que os espécimes da sub-tribo Blastocerina (*Passalites nemorivagus*, *Blastocerus dichotomus*, *Ozotocerus bezoarticus*), formaram *ingroup*. E outras espécies da sub-tribo Odoicoileina (*Odoicoileus virginianus*,

*Mazama rufa* e Complexo *Mazama americana*) representaram as espécies *outgroup*.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Coleta e Triagem de Amostras Fecais de Cervidae

A expedição de campo foi realizada em maioria nas Unidades de Conservação propostas (Tabela 6).

**Tabela 6.** Sumário das localidades das amostras coletadas.

Id	Local	Classificação da UC	UF	Nº de amostras coletadas
1	FN Contendas do Sincorá	US	BA	20
2	ARIE Serra do Orobó	US	BA	11
3	EE Raso da Catarina	PI	BA	12
4	MN Rio São Francisco	PI	AL	16
5	FN Negreiros	US	PE	17
6	PE Mata da Pimenteira	PI	PE	20
7	PN do Catimbau	PI	PE	17
8	Microregião do Seridó Oriental (Município de Pedra Lavrada e arredores)	PP	PB	8
9	FN de Açú	US	RN	12
10	PN Furna Feia	US	RN	17
11	EE do Castanhão	PI	CE	10
12	FN Araripe-Apodi	US	CE	11
13	EE de Aiuaba	PI	CE	15
14	PN da Serra da Capivara	PI	PI	15
			<b>Total</b>	<b>201</b>

PN= Parque Nacional; RPPN= Reserva Particular do Patrimônio Natural; PE= Parque Estadual; EE = Estação Ecológica; FN = Floresta Nacional; MN = Monumento Natural; ARIE = Área de Relevante Interesse Ecológico; PP = Propriedade Particular; US = Uso Sustentável.

Para a Paraíba houve indicação da realização das buscas serem feitas em regiões mais serranas, áreas de refúgio escolhida por vários táxons na Caatinga (Bonifácio et al., 2015). Por isso as coletas desse estado se concentraram na Microregião do Seridó Oriental Paraibano, situada em uma ampla zona de desertificação da Ecoregião do Planalto da Borborema. Os municípios visitados foram: Pedra Lavrada, Picuí, e Nova Palmeira. A outra

unidade, no Rio Grande do Norte (Estação Ecológica do Seridó – Proteção Integral), localizada na Microregião do Seridó Oriental Meridional, apresentou histórico de último avistamento de veado-catingueiro registrado em 2017, e logo após de um grande incêndio no perímetro da UC, não houve reaparecimento. Mesmo com a indicação de extinção local por sitiantes, prospecções foram realizadas durante 4 dias, em incursões no início da manhã e no final da tarde, mas sem sucesso no encontro de amostras.

Essa constatação é preocupante, visto que a região do Seridó potiguar e paraibano, assim como um todo, tem sofrido com a intensificação das zonas de desertificação e pressão da ação da caça, além da crescente implantação de usinas de energia renovável (eólica e fotovoltaica). Em particular, as usinas eólicas instalam suas turbinas nas áreas mais altas e serranas, o que compromete as áreas cada vez mais percebidas como de refúgio para a fauna e a flora da região.

Nosso esforço amostral alcançou um total de 201 amostras fecais, variando de 8 a 20 amostras por localidade dentre as quais 83 foram “frescas” (com muco, coloração externa esverdeada e sem fungo), e 142 “menos fresca” (sem muco, coloração interna esverdeada, e sem fungo). Em cada ponto de coleta as amostras apresentavam algumas particularidades, como as de Serrita-PE, onde se relatava escolha alimentar por restos de cupinzeiro. Como consequência, a amostra apresentava um resíduo externo bege escuro (Figura 13 - 3). Além disso, foi observada variedade na morfologia e coloração dos cíbalos, sendo a maior variedade demonstrada nos municípios da Microregião do Seridó Oriental Paraibano (Figura 13 - 4).



**Figura 13.** Variações das amostras fecais coletadas. 1- Esec de Aiuaba (CE); 2 e 3– Flona de Negreiros (PE); 4 - Variação de formas encontradas na Microregião do Seridó Oriental Meridional (PB).

Nenhuma dessas particularidades afetou o sucesso da extração do DNA. Em alguns casos, foi considerada a necessidade de aumentar a quantidade de cíbalos devido a variação nos tamanhos e formas de um ponto amostral para outro, para que alcançasse a quantidade indicada para o processamento, de até 1mL do tubo de 2 mL. Na triagem da identificação específica, sob protocolo de digestão enzimática, foi detectada a espécie *Subulo gouazoubira* para todas as amostras coletadas. Em todas as análises foram utilizados controles positivos de amostras de veado-catingueiro (*S. gouazoubira*) e veado-mateiro (complexo *Mazama americana*), pela possibilidade de ocorrência.

Das 201 amostras, 60 delas foram consideradas independentes espacialmente, sendo representativas de indivíduos distintos pelo critério espacial obedecido. Tendo como critério a seleção de, pelo menos, 5 amostras

por ecorregião estudada, estas amostras seguiram para amplificação e sequenciamento dos 4 fragmentos de genes mitocondriais propostos para as análises populacionais e filogeográficas subsequentes.

#### 4.2. Amplificação, Sequenciamento e Matrizes Moleculares

Todas as amostras de referência selecionadas foram tratadas e tiveram a delimitação dos recortes dos fragmentos dos genes de interesse para cada conjunto de amostras. Assim, a matriz de referência final foi composta por 18 animais e 4001 pb, dentre eles 1190 sítios variados e 930 sítios parcimoniosamente informativos (28% no Cyt-b, 28% no ND2 e 48% no ND5), e o ND5 contendo a maior parte do polimorfismo. A comparação da matriz de referência completa (4001 pb) com a subdivisão do delineamento de DNA fecal (1179 pb) representa 29% do tamanho, apresentando 27% dos sítios informativos e 27% dos PICs (Tabela 7).

**Tabela 7.** Informações da matriz nucleotídicas das amostras de referência e das matrizes derivadas dela, e da matriz de DNA fecal completa. PICs= “*parsimony informative characters*”; pb= pares de base.

	<b>Matriz</b>	<b>Número de Espécimes</b>	<b>Tamanho</b>	<b>Sítios Variáveis</b>	<b>PICs</b>
1	<b>Referência Total</b>	<b>16</b>	<b>4001</b>	<b>1140</b>	<b>866</b>
2	Cytb	16	1141 (29%)	317 (28%)	239 (27%)
3	ND2	16	1040 (26%)	270 (24%)	206 (24%)
4	ND5	16	1820 (45%)	553 (48%)	421 (49%)
5	Referência Final	16	1179 (29%)	410(36%)	329 (37%)
9	Bloco Final	51	1179 pb	501	311

As amostras fecais selecionadas apresentaram sucesso de amplificação de 92%. No entanto, foram admitidas apenas amostras com sequências de qualidade para todos os 4 fragmentos, reduzindo de 60 amostras para 35 amostras a serem utilizadas, com representação em todas as ecoregiões (Apêndice B). Adicionalmente a esta matriz foram inseridas 18 sequências de referência que representaram haplótipos distintos (Tabela 3 – Tópico 3.1). Por fim, a matriz de DNA fecal completa totalizou 51 espécimes, tendo como modelo evolutivo selecionado o GTR+I+G.

As matrizes não demonstraram saturação, como pode ser visto nos



gráficos (Apêndice A), em que as proporções de transição são maiores em relação as transversões, como é idealmente representado para um conjunto de dados com nível baixo de saturação.

### 4.3. Diversidade Genética e Inferências Demográficas

Nas 35 seqüências concatenadas de ND2, ND5 e Cit b, que formaram um bloco de nucleotídeos de 1179pb, foi detectada a composição genética correspondente de 32.4% à base adenina (A), 31,6% à timina (T), 22,2% à citosina (C) e 13.8% corresponde à guanina (G). A diversidade genética para essa matriz foi de 0,024, enquanto a diversidade haplotípica é de 1, definindo-se em um haplótipo único para cada uma das 35 amostras.

Os grupamentos populacionais testados correlacionaram as matrizes de distância genética e distância geográfica estão descritos na Tabela 8. Desta forma, cada grupamento teve amostragem de acordo com as barreiras geográficas, atrelada ao ponto de distribuição de cada amostra numa matriz de distância geográfica logaritmizada (Tabela 8 – Figura 14).

**Tabela 8.** Representação dos grupamentos das populações de acordo das barreiras analisadas, e suas respectivas amostras representativas.

	Barreiras	ID das amostras
1	Abaixo do Rio São Francisco	04, 06, 23, 24, 27, 30, 31, 35, 39, 40, 41, 45, 48, 52, 56
2	Acima da Chapada do Araripe	127, 144, 148, 155, 160, 180
3	Acima Rio São Francisco	66, 71, 83, 84, 102, 108, 215, 221, 225
4	Planalto da Borborema	111, 112, 113, 114, 117

O valor da distância genética média entre todos os grupamentos populacionais para o bloco de seqüências concatenadas foi de 0,04. Já para as seqüências de cada um dos genes estudados o ND5 ficou com 0,03, enquanto que o ND2 teve apenas 0,01 e o Cit b apresentou o valor mais alto de 0,07. Dentro da estimativa da distância genética entre grupos representativos separados pelas barreiras geográficas demonstradas na Tabela 8, as distâncias genéticas significativas ( $p = 0.05$ ) são demonstradas. Dentre os valores de distâncias genéticas entre os grupos, os maiores estão entre os grupos 1 e 2 (Abaixo do Rio São Francisco e Acima da Chapada do Araripe – a maior, grifada em cinza), os grupos 1 e 4 (Abaixo do Rio São Francisco e Planalto da Borborema), e os



os grupos 2 e 4 (Acima da Chapada do Araripe e Planalto da Borborema). Os menores valores de distância genética estão entre os grupos 3 e 4 (Acima do Rio São Francisco e Planalto da Borborema - a menor, grifada em cinza), os grupos 2 e 3 (Acima da Chapada do Araripe e Acima do Rio São Francisco) e os grupos 1 e 3 (Abaixo do Rio São Francisco e Acima do Rio São Francisco) (Tabela 9). Estes resultados refletem a realidade geográfica, e denotam o Rio São Francisco com uma barreira determinante no aumento da distância genética, além da demonstrada entre as formações da Chapada do Araripe e do Planalto da Borborema.

**Tabela 9.** Valores de distância genética entre os grupos separados pelas barreiras geográfica.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Grupo 1				
Grupo 2	0.0298			
Grupo 3	0.0220	0.0217		
Grupo 4	0.0265	0.0263	0.0163	

Os haplótipos se definiram de maneiras diferentes de acordo com a concatenação ou não dos genes envolvidos no estudo. O bloco de sequências concatenadas apresentou um haplótipo para cada uma das 35 amostras ( $H_d = 1,0000$ ), enquanto que para o fragmento do gene de ND5 foram encontrados 22 haplótipos ( $H_d = 0,9697$ ), 32 haplótipos para Cit b ( $H_d = 0,9933$ ) e 17 haplótipos ( $H_d = 0,9176$ ) para o fragmento de ND2 (Tabela 10). O número de sítios polimórficos (S) para ND2 foi o menor com 22, enquanto que o Cit b contou com 335 sítios e o ND5 com 124. O maior valor de diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) foi observado para o fragmento de Cit b (Tabela 10).

**Tabela 10.** Valores de diversidade genética. h: número de haplótipos;  $H_d$ : diversidade haplotípica; S: número de sítios polimórficos (incluindo gaps); k: número médio de diferenças nucleotídicas;  $\pi$ : diversidade nucleotídica

Fragmento	nº de sequências	nº de sítios	h ( $H_d$ )	S	k	$\pi$	$\theta$ -W/seq.
ND2 241	35	238	17 (0,918)	22	2,727	0,0116	5,584
ND5 252	35	453	27 (0,970)	124	11,45	0,0257	33,752
ND5 224	35	488	32 (0,993)	335	33,84	0,0699	98,586

Todos os testes de neutralidade realizados para todo o conjunto de amostras (Tabela 11) indicaram que as populações estão em expansão populacional pelos valores negativos e significativos dos resultados. Os testes de neutralidade por grupamento amostrado não foram realizados devido à baixa amostragem de cada um (menos de 35 amostras).

**Tabela 11.** Valores dos testes de neutralidade para toda a amostragem.

Fragmento	$D^*$ de Fu e Li	$F^*$ de Fu e Li	Fs de Fu	D de Tajima
ND2 241	-3,011 (P < 0.05)	-3,066 (P < 0.05)	-9,327 (P < 0.000)	-1,757 (0.10 > P < 0.05)
ND5	-4,331 (P < 0.02)	-4,383 (P < 0.02)	-9,291 (P < 0.000)	-2,484 (P < 0.001)
Cyt b	-3,148 (P < 0.05)	-3,474 (P < 0.02)	-6,649 (P < 0.001)	-2,501 (P < 0.001)
Concatenado	-4,1792 (P < 0.01)	-3,9342 (P < 0.01)	-15,724 (P < 0.000)	-2,470 (P < 0.001)

Os grupamentos de populações de *S. gouazoubira* apresentaram diferenças na diversidade genética. A maior quantidade de sítios polimórficos (S) está no grupamento 1 e a menor quantidade no grupamento 2. Os grupamentos demonstram variação de baixa a moderada nos valores de diversidade haplotípica ( $H_d$ ) sendo a menor de 0,17 do grupamento 1, e a maior de 0,45 do grupamento 2. E para diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) o intervalo de valores, entre menor e maior ficou de 0.009 para o grupamento 2, e 0.028 para o grupamento 3 (Tabela 12).

**Tabela 12.** Diversidade genética dos 4 grupamentos de populações representativas da Caatinga. Abreviações: n, número de sequências;  $H_d$ , diversidade haplotípica; H, número de haplótipos identificados;  $\pi$ , diversidade de nucleotídeos; S, número de sítios polimórficos.

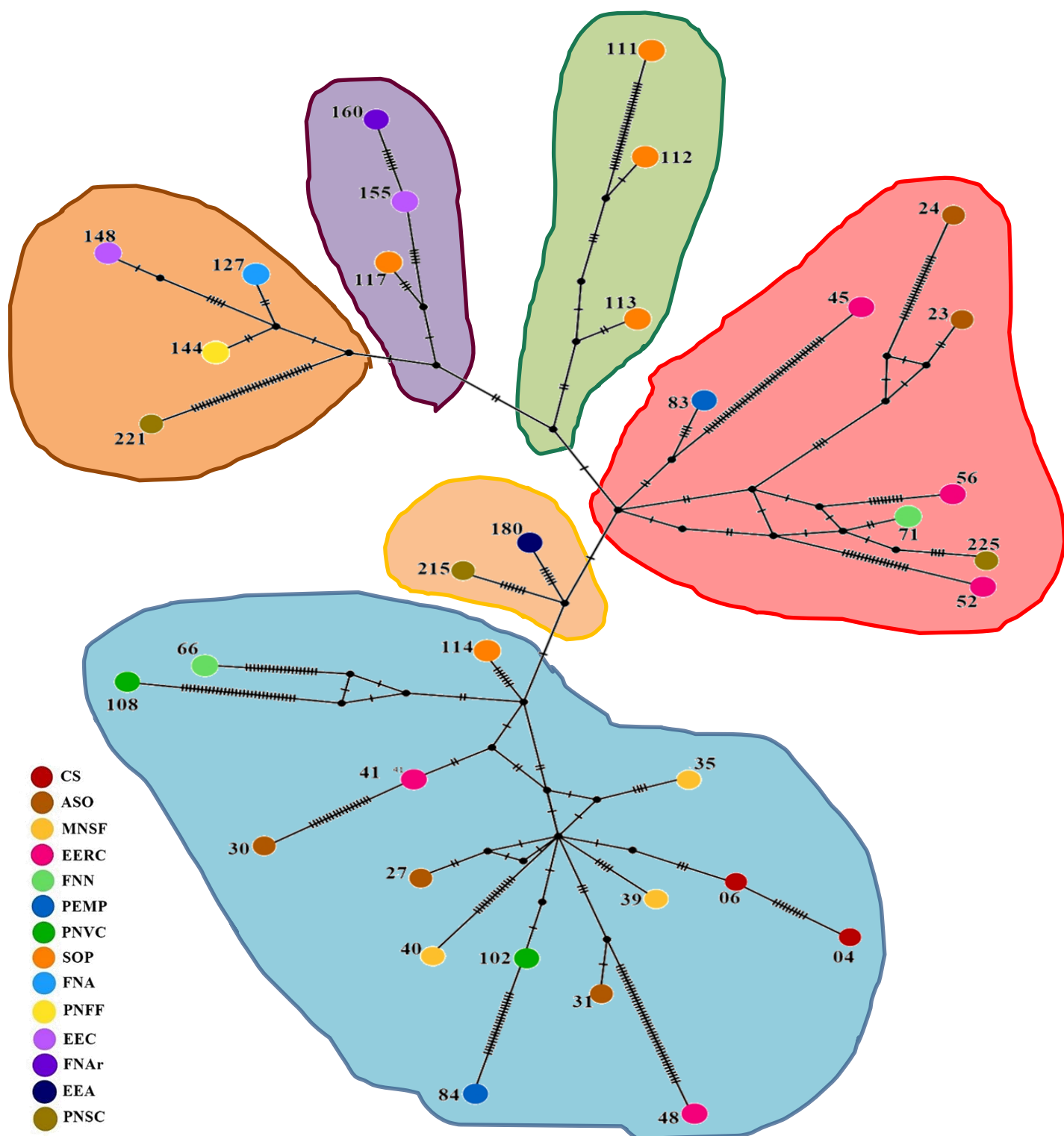
Grupo	ID	n	S	H	$H_d$	$\pi$
1	Abaixo do Rio São Francisco	15	182	15	0.17	0.027174 +/- 0.014095
2	Acima da Chapada do Araripe	6	25	6	0.45	0.009613 +/- 0.005883
3	Acima Rio São Francisco	9	127	9	0.26	0.028602 +/- 0.015650
4	Planalto da Borborema	5	50	5	0.43	0.018405 +/- 0.011490

Uma rede haplotípica gerada a partir das sequências concatenadas, recuperou as relações entre os 35 haplótipos encontrados nas populações de *S.*

*gouazoubira* (Figura 15), em que os arranjos haplotípicos não apontam coerência geográfica ao apresentar conexões com amostras de localidades distantes geograficamente, como entre as amostragens da Flona de Contendas do Sincorá no sudoeste da Bahia e do Parna do Vale do Catimbau no estado de Pernambuco.

A configuração da rede recuperada mescla o formato reticulado, designando uma parte da amostragem em estabilidade demográfica, e em estrela, indicando expansão populacional a partir de um grupamento mais ancestral e frequente em posições centrais. Além disso, a conformação em formato de estrela indica o que indica que a expansão populacional foi num passado recente, o que também é suportado pela alta diversidade e excesso de haplótipos únicos ou de baixa frequência. Em posições intermediárias aos haplótipos recuperados há presença vetores médios (pontos pretos entre as conexões), demonstrando uma relação de existência de haplótipos extintos ou não amostrados.

O primeiro grupo (em azul) apresenta haplótipos numa conformação estrelada e reticulada, reunindo amostragem da Flona de Contendas do Sincorá-BA, ARIE Serrá do Orobó-BA, Esec Raso da Catarina-BA, Mona do Rio São Francisco-SE, Flona de Negreiros-PE, Parque Estadual Mata da Pimenteira-PE, Parna do Vale do Catimbau e da Microregião do Seridó Oriental Paraibano; o segundo grupo (em laranja) com haplótipos numa conformação estrelada reúne Esec de Aiuaba-CE e Parna da Serra da Capivara-PI; e o terceiro grupo (em vermelho), em conformação estrelada e reticulada contendo os haplótipos da ARIE Serrá do Orobó-BA, .Esec Raso da Catarina-BA, Flona de Negreiros-PE, Parna do Vale do Catimbau e Parna da Serra da Capivara-PI; o quarto grupo (em verde) somente com três haplótipos da Microregião do Seridó Oriental Paraibano; o quinto grupo (em roxo), em conformação estrelada, com haplótipos Esec do Castanhão-CE e Flona do Araripe, e da Microregião do Seridó Oriental Paraibano; e o sexto grupo (em marrom) com haplótipos da Flona de Açú-RN, do Parna Furna Feia-RN, Esec do Castanhão-CE e Parna da Serra da Capivara-PI.



**Figura 14.** Rede de haplótipos dos fragmentos dos genes concatenados (ND2 + ND5 + Citb) das amostras de *S. gouazoubira* reproduzida pelo método *median-joining*. Os traços nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. Os pontos pretos são os median vector que são representações de haplótipos intermediários e faltantes à rede gerada. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

A configuração de distribuição desses haplótipos tem sentido na contiguidade geográfica dos locais das Unidades de Conservação. Vale a ressalva de que haplótipos do Ceará não aparecem conectados com haplótipos abaixo da Chapada do Araripe (estados de Pernambuco, Sergipe e Bahia), enquanto que os haplótipos da Microregião do Seridó Oriental Paraibano, presentes na ecorregião do Planalto da Borborema se agrupam em sua maioria. A topologia da rede recuperada para as inferências de cada gene (Apêndice C) também mesclam formato reticulado e em estrela, como também apresentam vetores médios pela inexistência de haplótipos já extintos ou não amostrados.

Para a inferência de estruturação genética das populações de *S. gouazoubira* foram utilizados os grupamentos populacionais anteriormente citados (Tabela 8). Assim, foi possível estimar os melhores resultados a serem encontrados na AMOVA (Tabela 13), de modo a testar a diferenciação genética entre populações que estariam separadas pelas barreiras geográfica testadas: Rio São Francisco, Chapada do Araripe e Planalto da Borborema.

O valor de FST para a AMOVA par a par (*Population pairwise FST*) (Tabela 14) foi significativo para uma baixa diferenciação genética dentro dos grupamentos separados pelas barreiras genéticas ( $F_{st} = 0.04572$ ,  $p = 0.00238 \pm 0.00051$ ). Este denota a ocorrência de fluxo gênico entre os grupos, explicado pelo sistema de acasalamento poligínico dos cervídeos. Os valores entre os 3 grupos ( $F_{ct}$ ) não apresentou um valor de significativo.

**Tabela 13.** Valor de Fst definidas pela AMOVA par a par

Origem de variação	d.f	Soma dos quadrados	Componentes de Variância	Porcentagem de Variação	Índice de Fixação	P-values
Entre os grupos	4	58.025	0.66600 $V_a$	4.57%		
Dentro das subpopulações	30	430.889	13.89964 $V_c$	96.11%	FST 0.04572	0.00238± 0.00051
Total	34	488.914	14.56564	100%		

Nas comparações de Fst par a par, os grupos 1 e 2 (Abaixo do Rio São Francisco e Acima da Chapada do Araripe) demonstraram valores significativos de moderada diferenciação ( $F_{st} = 0.07220$ ,  $p = 0.01109 \pm 0.0011$ ), assim como a relação entre os grupos 1 e 4 (Abaixo e acima do Rio São Francisco) ( $F_{st} = 0.06351$ ,  $p = 0.04316 \pm 0.0019$ ), 2 e 3 (Acima da Chapada do Araripe e Acima do Rio São Francisco) ( $F_{st} = 0.05263$ ,  $p = 0.02762 \pm 0.0015$ ) e quase apresentando

alta diferenciação genética os grupos 2 e 4 (Acima da Chapada do Araripe e Planalto da Borborema) (Tabela 15). As relações dos grupos 1 e 2; 1 e 4, e 2 e 4 também são apontados com os maiores valores de distância genética (Tabela 9).

A moderada estruturação apresentada entre os grupos nos valores de  $F_{st}$  na AMOVA par a par, unida ao valor de  $F_{ST}$  dentro de cada grupo revelando baixa estrutura genética, é condizente com a homogeneização das populações, demonstrada nos valores baixos de diversidade nucleotídica, e médios a baixo de diversidade haplotípica. O que aponta o recorrente fluxo gênico entre os 4 grupos propostos pela análise de acordo com as hipóteses de barreiras geográficas.

**Tabela 14.** Relação de valores de  $F_{st}$  nas comparações par a par entre os grupamentos. A – Valores de  $F_{st}$ ; B – Valores de significância p.

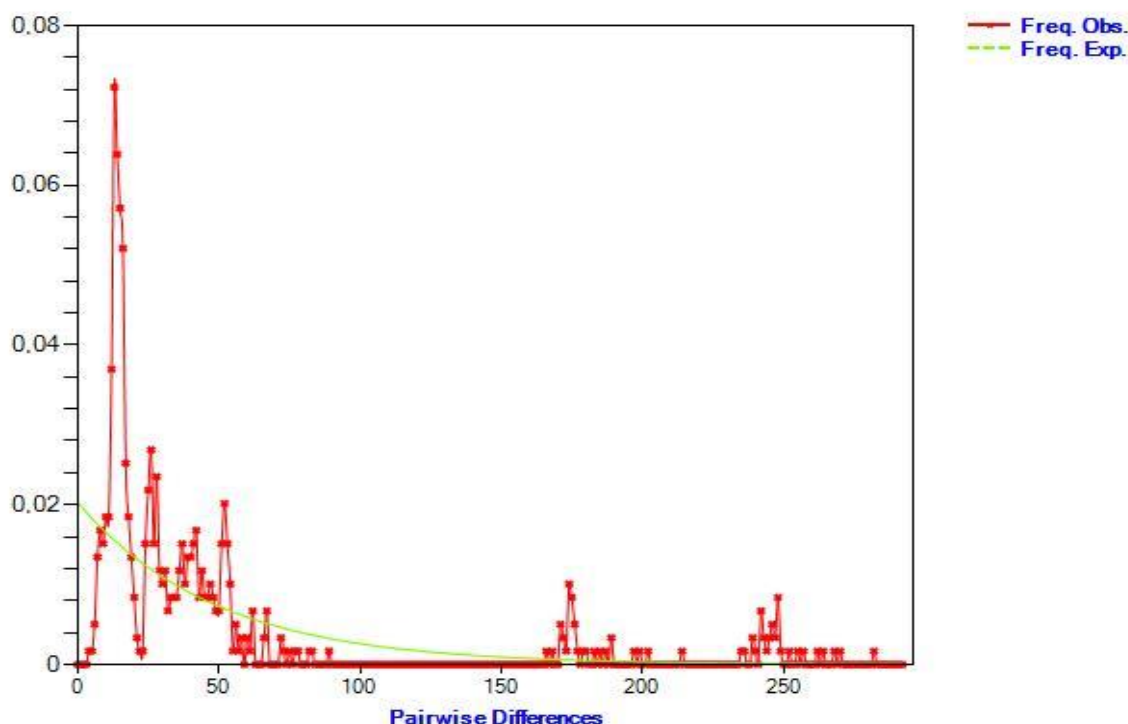
A	1	2	3	4
1	0.00000			
2	0.07220	0.00000		
3	0.00954	0.05263	0.00000	
4	0.06351	0.12330	0.04016	0.00000

B	1	2	3	4
1	*			
2	0.01109+-0.0011	*		
3	0.21552+-0.0047	0.02762+-0.0015	*	
4	0.04316+-0.0019	0.01346+-0.0011	0.10415+-0.0027	*

O teste de *Mismatch distribution* permite distinguir quais subpopulações permaneceram estáveis ao longo do tempo (curvas multimodais) e populações que sofreram expansão demográfica a partir de uma população fundadora pequena (curva unimodal). Este teste ajustou-se ao modelo de uma população de tamanho constante. A comparação da distribuição observada pela esperada apresentou uma distribuição multimodal, com valor pequeno e significativo ( $R_2=0,0549$ ,  $=61,758$  e  $T=0,000$ ). O gráfico se apresenta com uma distribuição de maior proporção de comparações com baixo número de diferenças. Isso acontece em casos de inclusão de haplótipos com um baixo número de substituições e, portanto, é demonstrada que a nossa amostragem apresenta uma história evolutiva mais recente. O que se interpreta que as amostras extraídas são de populações em equilíbrio demográfico ou subdivisão

populacional, demonstrada pela presença de vários picos definidos, os quais indicam expansão populacional unida a oscilações das frequências demográficas (Figura 15).



**Figura 15.** Análise de *Mismatch distribution* demonstrando oscilações no tamanho populacional total de *S. gouazoubira* na Caatinga. As frequências observadas (linha vermelha) e esperadas (linha verde) obtidas sob um modelo tamanho constante das populações.

#### 4.4. Inferências Filogeográficas e Filogenéticas

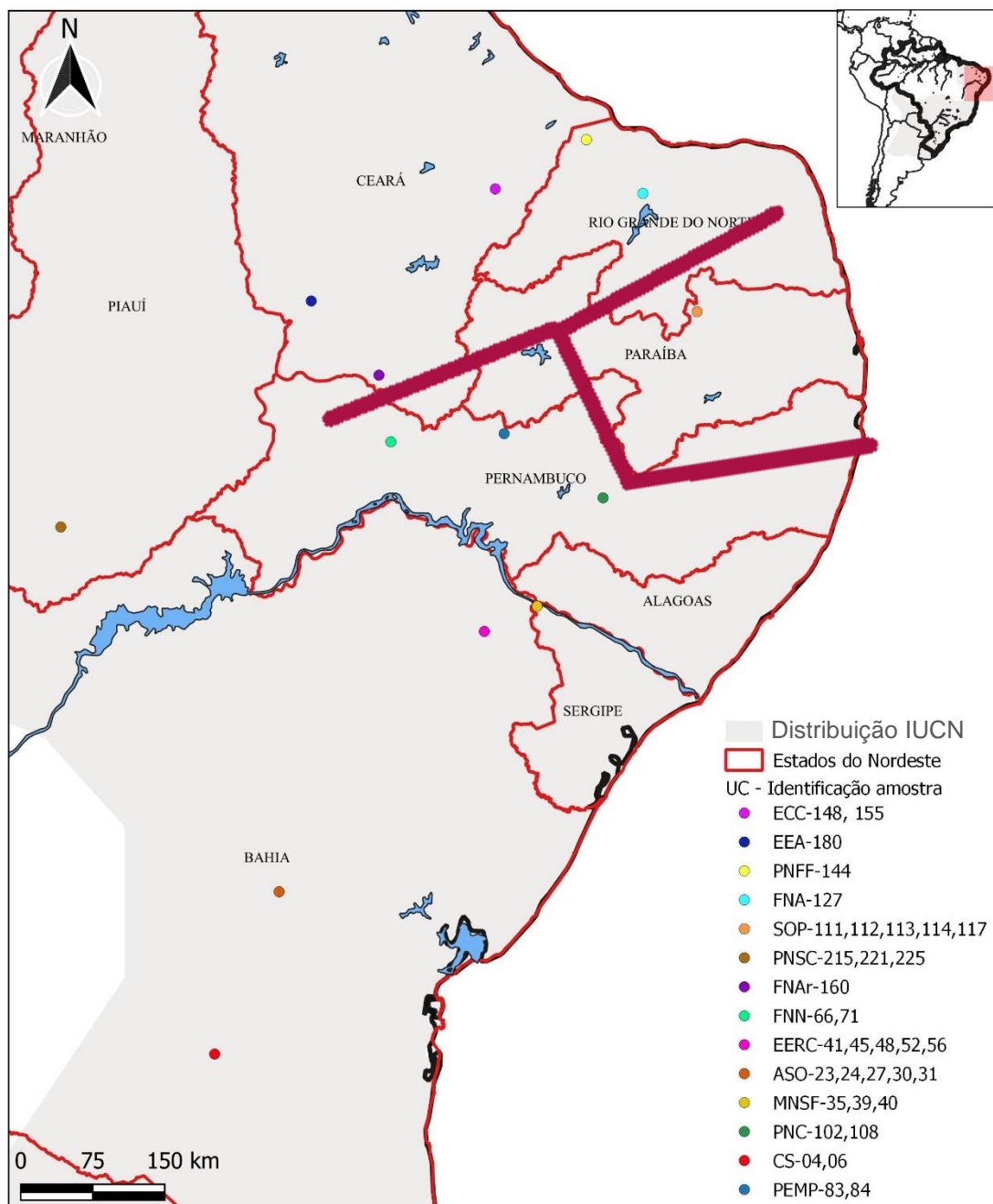
O teste de Mantel resultou em um valor positivo, porém sem uma associação significativa ( $r = 0.044$ ;  $p = 0.29$ ). Este dado revela que não existe evidência de isolamento por distância nestes grupamentos separados por barreiras geográficas, para estes marcadores. Ou, que a distância genética não sofre o efeito do isolamento por distância, isto é, independente do quão distante geograficamente as subpopulações estejam, não há influência nas distâncias genéticas amostradas.

Entretanto a análise da triangulação de Delaunay encontrou barreira genética associada à geografia, com suporte de valor de bootstrap de 100%. Estas barreiras identificadas são áreas onde as diferenças dos pares de populações são maiores. Essa inferência auxiliou a gerar pistas sobre a paisagem delimitada na amostragem pela Caatinga, a ponto de identificar os

locais de existência das barreiras por apresentar uma taxa de mudança abrupta de distância genética das subpopulações inferidas.

Assim, a divisão das populações foi recuperada em três grupamentos: 1 – unindo a amostragem majoritariamente de baixo e de cima do Rio São Francisco, mas abaixo da Chapada do Araripe; 2 – isolando as alterações de altitude e relevo do Planalto da Borborema, na Paraíba; 3 – e a amostragem da Rio Grande do Norte e norte do Ceará (acima da Chapada do Araripe) e Piauí (Figura 16). Esse resultado está congruente com o demonstrado pelas conexões dos haplótipos demonstrada na rede recuperada a partir dos dados dos fragmentos de genes concatenados (ND2 + ND5 + Citb) das amostras de *S. gouazoubira* (Figura 14)





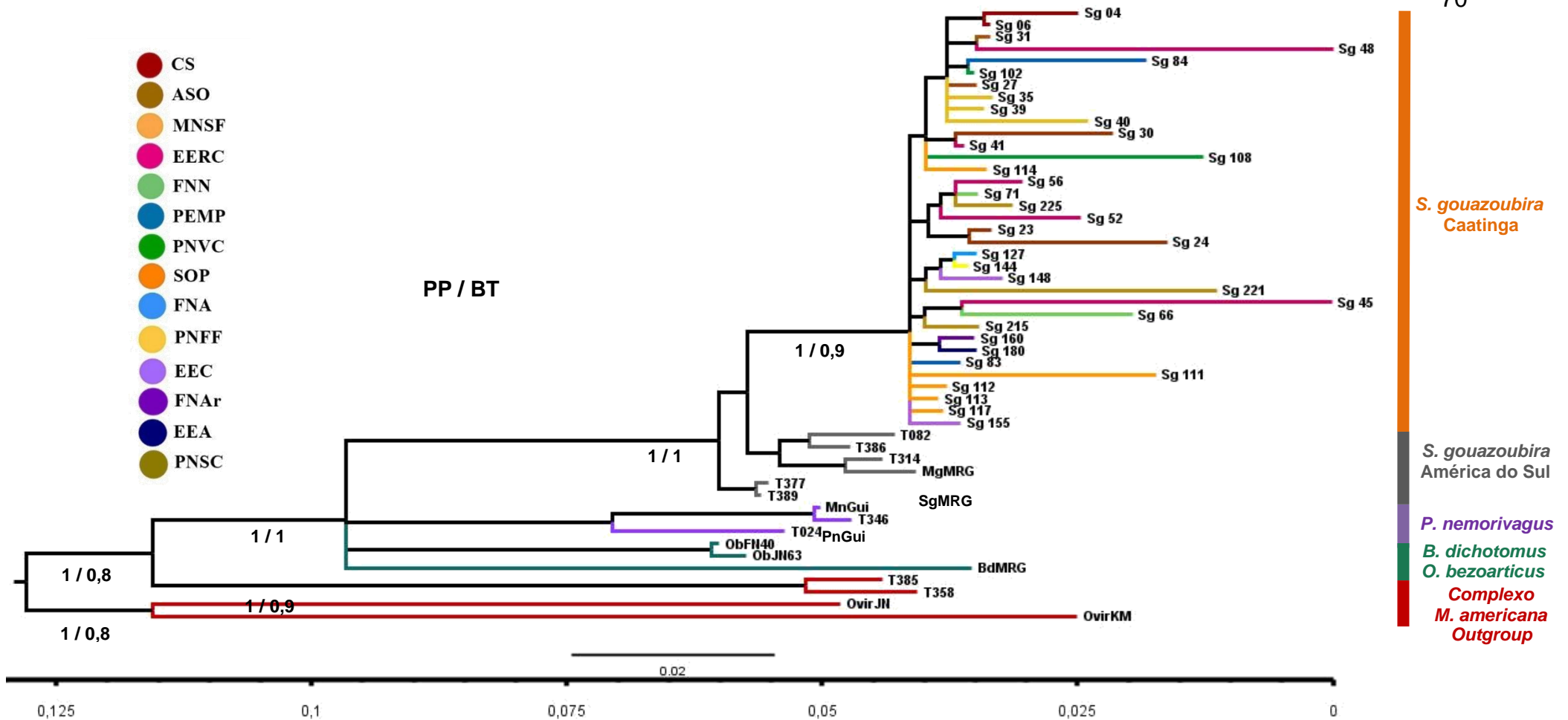
**Figura 16.** Plotagem da triangulação de Delaunay, indicando os grupamentos amostrais de acordo com as hipóteses de barreiras geográficas ao fluxo gênico na distribuição dos indivíduos de *S. gouazoubira* na Caatinga. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

As estimativas de reconstrução filogenética tendo como suporte

sequências de outras espécies de cervídeos neotropicais, mostraram que o *Subulo gouazoubira* da Caatinga forma clado exclusivo (Figura 17). Dentro deste grande clado, subclados demonstram a disposição dos espécimes sem representar coerência geográfica, nem relação com a disposição das ecoregiões.

A filogenia obtida pela matriz de dados de DNA fecal completa, indicaram topologias convergentes em ambas as abordagens de Inferência Bayesiana e Máxima Verosimilhança (Figura 17 - Imagem das árvores espelhadas no Apêndice D). Todos os clados do outgroup e dos espécimes voucher de veado-catingueiro apresentaram bom suporte, com valores de probabilidade posterior (PP) acima de 0,9 e bootstrap (BT) acima 0,8 para a maioria dos clados, com exceção dos clados de divergência mais recente.

Os clados formados pelos indivíduos de veado-catingueiro da amostragem fecal, também apresentaram suporte de probabilidade posterior (PP) acima 0,9 e valores de bootstrap (BT) também acima de 0,9. A estrutura destes clados pode ser reflexo da presença de linhagens diferentes, com distribuição simpátrica, e por isso a baixa resolução na apresentação de clados derivados. A presença da politomia observada pode ser reflexo da moderada diversidade haplotípica unida à baixa diferenciação entre as subpopulações, também demonstrada na AMOVA. Além do mais, a árvore filogenética reapresenta a maioria das relações demonstradas pela rede de haplótipos e entra em consenso com a triangulação de Delaunay, quando nos poucos clados formados estão subdivididos indivíduos dos mesmos pontos de amostragem (Figura 16). A coerência da distribuição da amostragem nos ramos também é percebida na rede de haplótipos para os dados concatenados (ND2 + ND5 + Citb) (Figura 14).



**Figura 17.** Hipótese filogenética gerada a partir de seqüências concatenadas da matriz completa de 51 amostras (referência e fecal) representação da tribo Odocoileini (Capreolinae: Cervidae). O modelo evolutivo definido esta reconstruções foi o GTR+I+G, indicado pelo MrModelTest do programa Paup, de acordo com o menor valor de Akaike information criterion (AIC). PP: Probabilidade Posterior; BT: Bootstrap. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Genética Populacional, Demografia e Filogenia

O presente trabalho conseguiu delinear informações relevantes acerca da organização populacional das linhagens do veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) no domínio da Caatinga. Nossa amostragem demonstra estruturação genética de acordo com as barreiras geográficas da Chapada do Araripe, do Planalto da Borborema e o Rio São Francisco. Além disso, é inferido que essas populações se mantenham em tamanhos populacionais estáveis e em expansão, com recorrentes gargalos genéticos causados por oscilações em suas frequências demográficas, dado ilustrado pela rede de haplótipos raros. Acrescido a estes dados, as populações analisadas formam um clado único na filogenia recuperada o que pode indicar a ocorrência de uma Unidade Genética para a Caatinga.

Assim como demonstrado em outros estudos da espécie, estas populações de veado-catingueiro apresentam organização populacional influenciada por algumas características, como: distribuição simpátrica entre suas populações e com outras espécies de cervídeos, ampla capacidade dispersiva, plasticidade ecológica e adaptação a ambientes antropizados, assim como um sistema de acasalamento poligínico essencial para a manutenção de sua diversidade genética.

As populações apresentaram diversidade nucleotídica de  $(\pi) = 0,041$  e diversidade haplotípica alta,  $Hd = 1$  em análise global. Entretanto, para cada um dos grupos houveram diferenças significativas nos dados de diversidade genética. Para os grupos acima da Chapada do Araripe (populações do Ceará e do Rio grande do Norte) e do Planalto da Borborema (população da Paraíba) existe a evidência de expansão devido a um número de diversidade nucleotídica baixo e diversidade haplotípica moderada (Tabela 12). Em contrapartida as populações acima e abaixo do Rio São Francisco (populações da Bahia, de Pernambuco, Sergipe e do Piauí) demonstram baixos valores de diversidade nucleotídica e haplotípica. Estes dados indicam que estes grupos sofrem ou sofreram efeito de gargalo recente, e aponta para o risco proveniente da baixa variabilidade genética populacional por reduzir a aptidão de adaptação à

oscilações provocadas adversidades ambientais.

Através dos testes que comparam a relação entre os haplótipos e suas distribuições geográficas foi possível detectar baixa estruturação na população de veado-catingueiro nos grupos analisados de acordo com a subdivisão das barreiras geográficas. Na análise da população total a espécie apresentou uma baixa estruturação dentro dos grupos, mas nas comparações entre os pares foram evidenciadas diferenças significativas com estruturações moderadas, coerentes com valores de distância genética significativa (Tabelas 9 e 15). Esta estruturação que está relacionada com as formações geográficas tem seu maior valor, de quase alta estruturação, entre as populações presentes acima Chapada do Araripe (populações do Ceará e Rio Grande do Norte) e Planalto da Borborema (população da Paraíba). O que pode indicar o grupo do Planalto da Borborema como a mais isolada entre as demais.

As diferenças na diversidade genética e haplotípica demonstrada em nossos resultados, e que conferem um grau de isolamento, corroboram com os resultados baseados pela triangulação de Delaunay, de acordo com barreiras genéticas ao fluxo gênico. Justamente por isolar a população do Planalto da Borborema (Paraíba) e demonstrar uma interrupção de fluxo gênico entre as populações acima da Chapada do Araripe, mantendo as populações do Ceará apenas com conexões com as populações do Piauí e Rio Grande do Norte (Figura 16). Enquanto que as populações da Bahia, Pernambuco e Piauí se mantêm conectadas, demonstrando que o Rio São Francisco não significa uma barreira ao fluxo gênico entre estes grupos.

Estes parâmetros entram em acordo com a diversidade haplotípica e nucleotídica, de baixa a moderada, relatada nestas análises de genética dos grupamentos da espécie. Isso se baseia na investigação a partir de marcadores de herança matrilinear, acrescido ao comportamento social de casais. A estrutura genética de uma população é caracterizada pelo número de subpopulações contidas nela, as frequências de diferentes variantes genéticas em cada subpopulação e o grau de isolamento genético destas subpopulações. Portanto, mesmo que haja fluxo gênico entre estas subpopulações a geografia pode determinar os padrões de dispersão fazendo com que a distribuição de alelos não ocorra de maneira aleatória, e formando os grupos com pool gênicos como

os demonstrados para a nossa amostragem.

Nossos dados se assemelham aos de Aristimuño et al (2015), que a partir da investigação do marcador mitocondrial D-loop, encontrou estruturação na organização populacional para indivíduos de veado-catingueiro distribuídos entre o Norte e o Sul do Uruguai, como também da Bolívia e Brasil. A partir de investigações apenas com o citocromo b e com amostragem da Argentina, Brasil e Bolívia, Bideragay (2003) também constatou alta diversidade haplotípica ( $H_d = 0.632$ ) para um conjunto de 19 indivíduos, apresentando resultados semelhantes aos nossos. Diferentemente, e também utilizando o gene Citocromo b, Elizondo et al. (2010) demonstram um haplótipo central compartilhado por indivíduos da Argentina, Brasil, Paraguai, Bolívia e Uruguai, além de caracterizar uma coerência geográfica com a distribuição de alguns haplótipos. Nos nossos resultados o maior número de haplótipos compartilhados está presente no fragmento de gene do ND2, seguido do ND5 e o Citocromo b fica por último. Mas, o estudo de Elizondo et al. (2010) se assemelha ao nosso resultado quando estabelece uma estruturação moderada para as populações do Brasil e da Argentina. Ademais, o estudo anteriormente citado de Serna-Lagunes et al., (2021), com outra espécie de veado florestal, o *Mazama temama*, diferentemente dos nossos resultados, destaca o isolamento reprodutivo e geográfico das linhagens de através da inferência do D-loop do mtDNA.

É chamado “Deme” a entidade dinâmica de população reprodutiva composta por indivíduos transitórios ao longo do tempo. A partir da interação entre eles, o pool gênico de uma população é formada, podendo reter gametas potenciais que garantem a manutenção da espécie ao longo das gerações. O sistema de acasalamento nesta dinâmica é o compartilhado, e quanto maior sua abrangência espacial, dispersiva e reprodutiva o Deme chega a representar a população de uma espécie inteira. Os cervídeos são mamíferos poligínicos, tendo o macho uma alta capacidade dispersiva e reprodução com fêmeas de grupos distintos; e com as fêmeas filopátricas com um nível adaptativo à consanguinidade. Esta dinâmica de acasalamento proporcionaria o equilíbrio da diversidade genética a que atende o sistema, evitando excessos dos efeitos endo e exogâmicos. Mesmo sendo filopátricas, as fêmeas podem cumprir uma movimentação local em busca de recursos para a sobrevivência (Black-Decima,

2000; Purdue et al. 2006), ainda mais em regiões com as características ambientais do semiárido nordestino.

Nossos resultados demonstram que para a população de veado-catingueiro não há relevância da influência da distância geográfica no isolamento das linhagens genéticas dos marcadores utilizados, o que parece contraditório com os outros resultados supracitados. Seria necessário um maior número amostral maior quantidade de dados moleculares para a resolução desta evidência. Contudo, a espécie possui distribuição simpátrica de suas subpopulações, unida ao comportamento reprodutivo correlacionado com a disponibilidade de recursos, e que está relacionada com o regime de chuvas na Caatinga (Bonifácio et al., 2015). Este é um ponto relevante a se destacar para o entendimento de sua organização populacional. E como esta espécie não possui sazonalidade reprodutiva, é provável que a oscilação climática atue como um filtro ambiental que influencie nestas populações, o que poderia resultar numa estocasticidade ambiental (Vellend et al., 2014).

Portanto, por seu sistema de acasalamento proporcionar o compartilhamento de indivíduos numa metacomunidade (Leibold et al., 2004), e denota a interdependência e conectividade das subpopulações (Werneck, 2011). Por ser uma espécie generalistas e de ampla capacidade de dispersão, o *S. gouazoubira* é selecionado sob variações bióticas e abióticas do semiárido nordestino, como um regime de chuvas restrito a cinco meses do ano, diferenças de altitudes, alta temperatura e evapotranspiração, baixa umidade, entre outras. E mesmo que existam particularidades destas variações nas ecoregiões do domínio da Caatinga, poderiam não ser relevantes para o estabelecimento de padrões de distribuição determinados pela distância geográfica e/ou pelo nicho ecológico (Vellend, 2016).

A modulação das flutuações climáticas ocorridas na Diagonal de Áreas Abertas, que apresenta padrões evolutivos múltiplos, ocasionou um padrão misto de áreas de distribuição das espécies amplamente distribuídas nesta sub-região (Muller, 1973; Werneck et al. 2011). Este cenário é principalmente evidenciado na rede de haplótipos com informações de genes concatenados deste estudo. A presença da conexão de haplótipos geneticamente distantes pode ser explicada por um possível contato secundário entre as linhagens com

origens diferentes. Pelo que se apresenta na rede haplotípica de cada gene estas relações são percebidas. Vale ressaltar que a o padrão observado nas redes em formato de estrela é observados para populações que passaram por expansão demográfica recente, enquanto que o formato reticulado denota uma estabilidade demográfica (Hartl e Clark, 1997).

Além disso, também são percebidos haplótipos de maior frequência e múltiplas conexões, o que denota uma alta probabilidade de serem ancestrais. É esperado para esses haplótipos que tenham ampla distribuição geográfica, visto que os processos dispersivos permitiram a distribuição desses grupamentos ao longo das gerações. Da mesma maneira, também estão presentes haplótipos com uma única conexão, ligados a haplótipos da mesma população. Onde pode-se presumir que eles evoluíram recentemente e, portanto, não têm tempo de apresentar padrões de dispersão.

Mesmo sem definição de haplogrupos para a rede de genes concatenados, subdivisões são congruentes com a evidência das barreiras ao fluxo gênico. Estas barreiras possuem particularidades ambientais de suas localizações geográficas, do Rio São Francisco, nas diferenças de altitude e relevo do Planalto da Borborema e com a barreira de altitude existente na Chapada do Araripe (Velloso et al., 2002).

Entretanto, a comunicação das subpopulações da margem inferior do Rio São Francisco (populações da Bahia e Sergipe) com as subpopulações da margem superior do Rio São Francisco (populações de Pernambuco e Piauí), podem refletir um marco de conexão dada a rota de dispersão histórica associada à formação do aquífero e as incursões marinhas (Ab'saber, 1997).

Carmignotto e Astúa (2017) demonstram que para pequenos mamíferos, as alterações moduladas pelo Terciário e Quaternário no Rio São Francisco, também provocaram barreira ao fluxo gênico. O que pode gerar um padrão biogeográfico em que se evidencia uma distribuição divergente entre populações da margem superior e inferior deste importante aquífero (Faria et al. 2013). Além disso os autores também destacam a ocorrência de padrões de diferenciação desde o final do Terciários ao Quaternário inferior, modulados pelas alterações climáticas e ambientais que resultaram na mudança da vegetação assim como na formação de barreiras físicas (Pennington et al. 2006; Werneck et al. 2012).



Duarte et al. (2008) propõe que a expansão populacional da espécie tenha ocorrido durante o Pleistoceno, em que colonizou diferentes ambientes durante as oscilações climáticas desta Era geológica, e que resultaram em baixos níveis de diferenciação geográfica. Esta grande expansão demográfica gerou uma alta variabilidade haplotípica ocorrida no período Pleistocênico na América do Sul, o que entra em acordo com os resultados atuais dos parâmetros demográficos aqui apresentados.

O teste de Mismatch distribution apresenta um padrão multimodal, demonstrando uma população em equilíbrio demográfico, e a presença dos outros picos reforçam processos expansivos populacionais abruptos associados a efeitos estocásticos de processos de extinção impulsionados pela deriva genética e eventos de gargalo populacional e contração repentina de espécies (Rogers e Harpending, 1992). A oscilação demográfica indicada por esse resultado pode estar relacionada às ameaças que o veado-catingueiro sofre na Caatinga. Mesmo que a espécie apresente certa adaptação a ambientes antropizados e plasticidade ecológica, é conhecida pelo alto interesse cinegético, e ainda está sujeita a constantes pressões de exploração, fragmentação do habitat, autoconsumo pelas comunidades locais e predação por carnívoros (Aristimuño et al. 2015; Bonifácio et al., 2015). Por sua vez, os testes de neutralidade aplicados neste estudo indicaram expansão demográfica nas populações analisadas. Por mais que os testes de  $D$  da Tajima e  $F_s$  de Fu sejam influenciados pelo número amostral (Ramos-Onsins, 2002; Ramírez-Soriano et al., 2008), os resultados destes testes foram congruentes com a topologia da rede haplotípica e a análise de Mismatch distribution. Esta última análise avalia a distribuição do número médio de diferenças par a par entre as sequências, utilizando a estatística  $R_2$  que é mais adequada para pequenas amostragens (Ramírez-Soriano et al., 2008).

A hipótese filogenética recuperada pela análise bayesiana dá alto suporte ao clado exclusivo para as linhagens mitocondriais de *S. gouazoubira*, inferidas nesta análise, com diversificação mais recente que os outros representantes da mesma espécie da América do Sul (outras regiões do Brasil e Paraguai – localidade tipo). Esta evidência indica a possibilidade da consideração de uma unidade genética para a população da Caatinga. Esta classificação se faz a

populações com evolução independente e com distribuição historicamente delimitada, sem considerar a distribuição atual de variações fenotípicas, apresentando monofilia para haplótipos mitocondriais (Moritz, 1999). Entretanto é necessária amostragem mais ampla de outros biomas, assim como fontes amostrais complementares como marcadores nucleares e abordagens morfométricas para o início das considerações. Além disso, os subclados formados têm coerência com os grupamentos apresentados da rede haplotípica deste estudo.

## **5.2 Contribuições da Amostragem não-invasiva para o estudo de Cervídeos na Caatinga.**

A relevância desta pesquisa para uma boa inferência nos estudos de genética populacional e filogeografia é pela representatividade relevante no esforço amostral. A possibilidade da investigação a partir de amostragem não-invasiva foi primordial para o desenvolvimento do estudo *in situ* para caracterizar a diversidade genética dos cervídeos analisados. Essa abordagem metodológica acrescida à aptidão do faro da cadela farejadora auxiliar na coleta, possibilitou uma ampla amostragem com amostras georreferenciadas, permitindo um amplo espectro para os estudos filogeográficos.

Além disso, há de se destacar a importância das Unidades de Conservação (UC) implementadas na Caatinga. Mesmo com baixíssima porcentagem de cobertura (menos de 2% do território), as Unidades visitadas proporcionaram números expressivos de amostragem. Mais especificamente, um gradiente de sucesso é percebido ao passo em que se aumentam as influências de ações antrópicas no entorno ou dentro dos perímetros das UC's. Enquanto, que nas Unidades mais preservadas a amostragem passava do número estipulado (15 amostras), outras Unidades que eram invadidas por rebanhos de animais de produção ou sofriam com a pressão da ação de caça tinham redução na amostragem. O fato mais alarmante acontece justamente fora de uma Unidade de Conservação, nas coletas realizadas na Microregião do Seridó Oriental paraibano, que além das influências do agravamento das zonas de desertificação a Biodiversidade ainda sofre com a pressão de ações

antrópicas. E mesmo que as buscas fossem realizadas em vários municípios foi a região de menor amostragem deste trabalho.

As informações aqui concluídas terão maior robustez com o aumento da amostragem com populações de biomas vizinhos pode estabelecer o conhecimento de zonas híbridas e diferenciação populacional, ao passo da detecção do nível de fluxo gênico existente entre as populações. Acrescido das técnicas de biologia molecular, podemos analisar pequenos fragmentos mitocondriais, explorados de amostragem fecal, foi possível delinear uma matriz de dados informativa para este estudo. Uma metodologia de identificação de espécies de cervídeos, a partir de um fragmento de 224 pb do gene Citocromo b tratado com enzimas de restrição, foi proposto por González et al. (2009) para espécies da Mata Atlântica. Neste trabalho, a metodologia também se mostrou eficaz na identificação de espécies das amostras da Caatinga. Além disso, o enriquecimento da informação genética a partir da junção de marcadores variáveis (ND2, ND5 e Cit B) suportaram o sinal filogenético necessário para as inferências genético-populacionais e filogeográficas.

Nesta questão, esforços devem ser aplicados para o aumento da amostragem em números de indivíduos e regiões moleculares investigadas para que se atinja uma informação mais robusta a cerca da história evolutiva e natural das populações da Caatinga. A aplicação de inferências de abrangência genômica aliados a amostragens não-invasivas já é aplicado a alguns grupos animais, e é urgente o desenvolvimento de técnicas que possibilitem essa fonte investigativa para estudos de espécies elusivas como os cervídeos (Carroll et al., 2018).

O clado filogenético exclusivo para a população amostrada indica a necessidade de mais estudos que caracterizem e protejam o potencial evolutivo da espécie no semiárido nordestino (Black-Décima e Vogliotti 2008). Vale salientar que a espécie só possui atualização do status de conservação para o estado do Ceará (SEMACE, 2022) em que está classificada como “vulnerável”. Sendo o que se apresenta, e se conclui com os resultados encontrados neste estudo, fica evidente a necessidade de delineamentos estratégicos para a conservação das populações de veados da Caatinga. Ao passo que podemos conhecer uma representação de sua história evolutiva e demográfica, é

essencial um maior conhecimento sobre as características ecológicas a que se submetem em ambientes de variações bióticas e abióticas extremas e consequentes filtros ambientais, como o do Semiárido nordestino.

Deste modo, o incentivo da conservação dessa espécie amplamente distribuída na região nordestina poderia desencadear critérios para definições de novas áreas prioritárias à conservação, com a formação de mais Unidades de Conservação, neste bioma que já é tão negligenciado e tem potencial desacreditado. As conclusões aqui contidas podem integrar um conjunto de informações para subsídios de conservação desta espécie que é uma das maiores representantes dos mamíferos de médio porte ainda existentes na Caatinga.

## 6. CONCLUSÕES

Este estudo contou com considerações da genética populacional atreladas barreiras geográficas da Caatinga, em que foram analisados parâmetros populacionais, demográficos, filogenéticos e filogeográficos para prever sobre o perfil das populações de veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira* Smith, 1827) no bioma do semiárido nordestino. Com base nos resultados aqui expostos, a população dos cervídeos da Caatinga apresenta baixa estruturação genética, o que denota a manutenção de fluxo gênico entre as subpopulações visto seu sistema de acasalamento poligínico, mas que é modulado por barreiras ao fluxo gênico entre determinadas populações relacionadas a formações geográficas com diferenças de altitude.

Além disso, mesmo que a amostragem total demonstre uma alta diversidade haplotípica, o gradiente desse parâmetro entre valores baixos a moderados, unido ao resultado que revelam oscilações demográficas com expansões populacionais repentinas denunciam recorrentes gargalos populacionais que depauperam a variabilidade genética desta espécie que têm alto interesse de caça no bioma para fins alimentares e culturais. Portanto, é urgente a avaliação do status de conservação da espécie para os estados do bioma, devido escassez de dados que subsidiem eficientes ações de educação ambiental e conservação *in situ*. A formação de um clado filogenético exclusivo, pode indicar a suspeita de uma Unidade de Conservação Significativa, sendo

necessário enriquecimento de dados para a confirmação desta suspeita. É relevante para a abrangência desta pesquisa destacar o sucesso do uso de amostragem não-invasiva, por DNA fecal, aliada ao uso da cadela farejadora que proporcionou amplo espectro no número amostral, justamente com a identificação eficiente do método RFLP criado originalmente para espécies de cervídeos da Mata Atlântica.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ab'Saber, A. N. (1997). A Formação Boa Vista: O significado geomorfológico e geocológico no contexto do relevo de Roraima. **Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**, INPA/Manaus, 267-293.

Ab'Sáber, A. N. (2003). **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas** (Vol. 1). Ateliê editorial.

Ab'Sáber, A. N. (2006). **Brasil, paisagens de exceção: o litoral e o Pantanal mato-grossense, patrimônios básicos** (Vol. 2). Ateliê editorial.

Abril, V. V., Carnelossi, E. A. G., González, S., & Duarte, J. M. B. (2010). Elucidating the evolution of the red brocket deer *Mazama americana* complex (Artiodactyla; Cervidae). **Cytogenetic and Genome Research**, 128(1-3), 177-187.

Albuquerque, U. P., Araújo, E. D. L., de Castro, C. C., & Alves, R. R. N. (2017). People and natural resources in the Caatinga. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**, Springer, 303-333.

Alves, R. R. N., Gonçalves, M. B. R., & Vieira, W. L. S. (2012). Caça, uso e conservação de vertebrados no semiárido Brasileiro. **Tropical Conservation Science**, 5(3), 394-416.

Alves, R. R. N., Feijó, A., Barboza, R. R. D., Souto, W. M. S., Fernandes-Ferreira, H., Cordeiro-Estrela, P., & Langguth, A. (2016). Game mammals of Caatinga biome. **Ethnobiol. Conserv.** 5 (5), 1–51.

Andrade-Lima D. (1981) The Caatinga dominium. **Revista Brasileira de Botânica** 4: 149-153.

Angeli, T.; Oliveira, M. L.; Duarte, J. M. B. (2014) Differentiation Of Deer Species Of The Genus *Mazama* By Track Morphometry. **Studies On Neotropical Fauna And Environment**, V. 49, N. 3, P. 199-203.

Altrichter, M. (2000) Importancia De Los Mamíferos Silvestres Em La Dieta De Pobladores De La Península De Osa, Costa Rica. **Revista Mexicana De Mastozoología**, V. 4, P. 95-103.

Antongiovanni, M., Venticinque, E. M., Fonseca, C. R. (2018) Fragmentation patterns of the Caatinga drylands. **Landscape Ecology**, 33(8), 1353-1367.

Aristimuño, M. P.; González, S.; Duarte, J. M. B. (2015) Population Structure And Genetic Variability Of The Gray-Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*; Mammalia: Cervidae) In Uruguayan Populations. **Deer Specialist Group Newslett**, 27: 58-6.

Ávila-Pires, Fd. (1959) As Formas Sul-Americanas Do Veado-Virá. An. **Acad. Brasileira Ciências**, 31.4: 547-556.

Avilla, L. S. et al. (2013) The northernmost Record of *Catagonus stenocephalus* (Lund in Reinhardt, 1880) palaeobiogeographical significance. **Journal of South American Earth Sciences**.

Avise, J. C. et al. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual review of ecology and systematics**, v. 18, n. 1, p. 489-522.

Avise, J. C. (2004) Molecular markers, natural history, and evolution, Sinauer. Inc., Sunderland, M.,.

Avise, J. C. (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of biogeography**, v. 36, n. 1, p. 3-15.

Avise, J. C.; Bowen, B. W.; Ayala, F. J. (2016) In the light of evolution X: Comparative phylogeography. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 29, p. 7957-7961.

Arana, M. D. et al. (2021) Esquema biogeográfico de la República Argentina. **Opera lilloana**, v. 56, p. 1-238.

Azevedo, N. A.; Oliveira, M. L.; Duarte, J. M. B. (2021) Guia ilustrado dos cervídeos brasileiros. Rio de Janeiro. **Sociedade Brasileira de Mastozoologia**. **41p**.

Bailey, R. G. (2014) **Ecoregions: The Ecosystem Geography Of The. Oceans And Continents**. 2nd Ed., Springer, 180p.

Balbino, E. D. P. (2018) Análise filogeográfica em *Spondias tuberosa* (Arruda Câmara). **Dissertação de Mestrado**. UFAL, Campus Arapiraca, Unidade Educacional ARAPIRACA. 52p.

Bandelt, H. J.; Forster, P.; Röhl, A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular biology and evolution**, v. 16, n. 1, p. 37-48.

Banda, K. et al. (2016) Plant Diversity Patterns In Neotropical Dry Forests And Their Conservation Implications. **Science**, V. 353, N. 6306, P. 1383-1387,.

Bandelt, H. J.; Forster, P.; Röhl, A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific Phylogenies. **Molecular Biology And Evolution**, V. 16, N. 1, P. 37-48.

Barral, E. C. (2018) Biologia reprodutiva, ecologia de populações e filogeografia de *Amburana cearensis*, leguminosae ameaçada de extinção. **Tese de Doutorado** – Biologia Vegetal. Universidade Federal de Pernambuco. 129p.

Barboza, R. R. D., Lopes, S. F., Souto, W. M., Fernandes-Ferreira, H., Alves, R. R. (2016) The Role Of Game Mammals As Bushmeat In The Caatinga, Northeast Brazil. **Ecology And Society**, V. 21, N. 2.

Barrio, J. (2013) *Hippocamelus Antisensis* (Artiodactyla: Cervidae). Mammalian

Species, 45(901), 49-59.

Bennett, E. L.; Robinson, J. G. Hunting Of Wildlife In Tropical Forests: Implications For Biodiversity And Forest Peoples. **Environment Department Working Papers; Biodiversity Series**. World Bank, Washington, Dc, 76, 2000.

Bergallo, H. G.; Rocha, C. F. D.; Alves, M. A. S.; Van Sluys, M. (2000) **A Fauna Ameaçada de Extinção no Estado do Rio de Janeiro**. Eduerj. 166p.

Bergqvist, L. P. et al. (1997) Faunas-locais de mamíferos pleistocênicos de Itapipoca/Ceará, Taperoá/Paraíba e Campina Grande/Paraíba. Estudo comparativo, bioestratinômico e paleoambiental. **Geociências**, v. 2, n. 6, p. 23-32.

Bernegossi, A. M., Borges, C. H. D. S., Sandoval, E. D. P., Cartes, J. L., Cernohorska, H., Kubickova, S., ... & Duarte, J. M. B. (2023). Resurrection of the genus *Subulo* for the gray brocket deer, with designation of a neotype. **Journal of Mammalogy**, 104(3), 619-633.

Bezerra, Al. M. R. et al. (2014) Subsidies for a poorly known endemic semiarid biome of Brazil: non-volant mammals of an eastern region of Caatinga. **Zoological Studies**, v. 53, p. 1-13.

Bialkowska, Agnieszka B.; Yang, Vincent W.; Mallipattu, Sandeep K. Krüppel- (2017) Like Factors In Mammalian Stem Cells And Development. **Development**, V. 144, N. 5, P. 737-754.

Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K., Meier, R., Winker, K., .; Das, I. (2007). Cryptic Species As A Window On Diversity And Conservation. **Trends In Ecology & Evolution**, 22(3), 148-155.

Bidegaray, L.. (2003) Variabilidad Genética En *Mazama* (Mammalia: Cervidae) (**Doctoral Dissertation, Tesis De Grado**, Sección Genética Evolutiva, Facultad De Ciencias, Udelar. Montevideo, Uruguay).

Black-Décima, P. (2000) Home Range, Social Structure, And Scent Marking Behavior In Brown Brocket Deer (*Mazama Gouazoubira*) In A Large Enclosure. **Mastozoología Neotropical**, 7.1: 5-14.

Black-Décima, P. et al. (2010) Brown Brocket Deer *Mazama Gouazoubira* (Fischer 1814). **Neotropical Cervidology. Biology And Medicine Of Latin American Deer**, 190-201.

Black-Decima, P.A.; Vogliotti, (2016) *A. Mazama Gouazoubira*. The Iucn Red **List of Threatened Species**: E.T29620a22154584. <https://dx.doi.org/10.2305/Iucn.Uk.2016-2.Rlts.T29620a22154584.En>. Accessed On 06 December 2022.

Bonifácio, Km; Schiavetti, A; Freire, Eliza Maria Xavier. (2015) Conhecimento Ecológico Local Sobre O Veado, *Mazama Gouazoubira* (G. Fischer, 1814), Por



Moradores Do Entorno De Uma Área Protegida Do Semiárido Brasileiro. **Brazilian Journal Of Environmental Sciences** (Online), N. 38, P. 78-95.

Borges, Chs. (2017) Caracterização Morfológica, Citogenética E Molecular De Mazama Gouazoubira (*Artiodactyla*, Cervidae) A Partir De Um Topótipo Atual. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias Jaboticabal, 99 P.

Bowen, Brian W., et al. (2014) Phylogeography Unplugged: Comparative Surveys In The Genomic Era. **Bulletin Of Marine Science**, 90.1: 13-46.

Bouckaert, R. et al. (2019) BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. **PLoS computational biology**, 15(4), e1006650.

Brasil. Lei Nº 9.605, De 12 De Fevereiro De 1998. Dispõe Sobre As Sanções Penais E Administrativas Derivadas De Condutas E Atividades Lesivas Ao Meio Ambiente, E Dá Outras Providências. **Diário Oficial Da União**, Presidência Da República, Brasília, Df, 13 Fev. 1998. Seção 1, P. 1.

Brooke V. (1878) On The Classification Of Cervidae With A Synopsis Of The Existing Species. **Proceedings Of The Zoological Society Of London** (1):883–928.

Canevari, M.; Vaccaro, O. (2007) **Guía de mamíferos del sur de América del Sur**. Buenos Aires: Lola.

CARROLL, E. L. et al. (2018) Genetic and genomic monitoring with minimally invasive sampling methods. **Evolutionary applications**, v. 11, n. 7, p. 1094-1119.

Capanna, E., Civitelli, M. V., Cristaldi, M. (1977) Chromosomal Rearrangement, Reproductive Isolation And Speciation In Mammals. The Case Of *Mus Musculus*. **Italian Journal Of Zoology**, 44(3), 213-246.

Cardillo, M. et al. (2005) Multiple Causes Of High Extinction Risk In Large Mammal Species. **Science**, 309.5738: 1239-1241.

Carmignotto, Ap; Vivo, M. ; Langguth, A. (2012) Mammals Of The Cerrado And Caatinga: Distribution Patterns Of The Tropical Open Biomes Of Central South America. In: Bones, Clones And Biomes. The History And Geography Of Recent Neotropical Mammals (Bd Patterson And Lp Costa, Eds.). **University Of Chicago Press**, Chicago, Illinois, P. 307-350.

Carmignotto, A. P.; Astúa, D. (2017) Mammals Of The Caatinga: Diversity, Ecology, Biogeography, And Conservation. In: Da Silva, J. M. C.; Leal, I. R.; Tabarelli, M. (Eds.). **Caatinga: The Largest Tropical Dry Forest Region In South America**. Cham: Springer. P. 211–254.

Carnelossi, Elias Alberto Gutierrez. (2008) Diferenças Moleculares Entre Citótipos De Mazama Americana (*Artiodactyla*: Cervidae). **Tese (Doutorado Em**

**Genética E Melhoramento Animal**). Universidade Estadual Paulista —Julio De Mesquita Filholl, Jaboticabal, Brasil.

Cartelle, C. (1999) Pleistocene mammals of the Cerrado and Caatinga of Brazil. **Mammals of the Neotropics**, 3, 27-46..

Cavalcanti, N. De B.; De Resende, Geraldo Milanez; Brito, Lt De L. (2009b) Regeneração Natural E Dispersão De Sementes Do Imbuzeiro (*Spondias Tuberosa* Arruda) No Sertão De Pernambuco. **Embrapa Semiárido**-Artigo Em Periódico Indexado (Alice).

Chiarello, Adriano G. (2000) Influência Da Caça Ilegal Sobre Mamíferos E Aves Das Matas De Tabuleiro Do Norte Do Estado Do Espírito Santo. **Boletim Do Museu De Biologia Mello Leitão**, 11.12: 229-247.

Cracraft, J., Prum, R. O. (1988) Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. **Evolution**, 42(3), 603-620.

Crandall, K. A., Bininda-Emonds, O. R., Mace, G. M., Wayne, R. K. (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. **Trends in ecology & evolution**, 15(7), 290-295..

Cifuentes-Rincón, Analorena, et al. (2020) Designation Of A Neotype For *Mazama Americana* (*Artiodactyla*, *Cervidae*) Reveals A Cryptic New Complex Of Brouzet Deer Species. **Zookeys**, 958: 143.,

Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., Crandall, K. (2002) Tcs: Estimating Gene Genealogies. **Parallel And Distributed Processing Symposium, International Proceedings**, 2, 184.

Costa, T. C., De Oliveira, M. A., Accioly, L. J. D. O., Da Silva, F. H. (2009). Análise Da Degradação Da Caatinga No Núcleo De Desertificação Do Seridó (Rn/Pb). **Revista Brasileira De Engenharia Agrícola E Ambiental**, 13, 961-974.

Cosse, M., González, S., & Gimenez-Dixon, M.. (2009). Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia*, 99(2), 158–164. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000200007>

Croitor, Roman. (2018) Plio-Pleistocene Deer Of Western Palearctic: Taxonomy, Systematics, Phylogeny. Institute Of Zoology Of The Academy Of Sciences Of Moldova. **Ion Toderaş**. Institute of Zoology of the Academy of Sciences of Moldova, 978-9975-66-609-1.

ffhal-01737207

CTFB. **Catálogo Taxonômico Da Fauna Do Brasil**. (2022) Disponível Em: <[Http://Fauna.Jbrj.Gov.Br/Fauna/Faunadobrasil/2](http://Fauna.Jbrj.Gov.Br/Fauna/Faunadobrasil/2)>. Acesso Em: 24 Ago.

Cursino, Ms; Duarte, Jmb. (2016) Using Sperm Morphometry And Multivariate Analysis To Differentiate Species Of Gray *Mazama*. **Royal Society Open**

**Science**, 3.11: 160345.

Dantas, M. A. T.; Cherkinsky, A.; Bocherens, H.; Drefahl, M.; Bernardes, C.; França, L. M. (2017) Isotopic Paleoecology Of The Pleistocene Mega Mammals From The Brazilian Intertropical Region: Feeding Ecology ( $\Delta 13c$ ), Niche Breadth And Overlap. **Quaternary Science Reviews**, V. 170, P. 152-163.,.

Dantas, M. A. T.; Cozzuol, M. A. (2016) The Brazilian Intertropical Fauna From 60 To About 10 Ka Bp: Taxonomy, Dating, Diet, And Paleoenvironments. In: Gasparini G., Rabassa J., Deschamps C., Tonni E. (Eds). **Marine Isotope Stage 3 In Southern South America, 60 Ka B.P.-30 Ka B.P.** Springer Earth System Sciences. Isbn 978-3-319-39998-0. Cham: Springer.

Dantas, M. A. T.; Missagia, R. V.; Dutra, R. P.; Raugust, T.; Silva, L. A.; Delicio, M. P.; Renó, R.; Cherkinsky, A. (2020) Isotopic Paleoecology ( $\Delta 13c$ ) From Mammals From Iuiu/Ba And Paleoenvironmental Reconstruction ( $\Delta 13c$ ,  $\Delta 18o$ ) For The Brazilian Intertropical Region Through The Late Pleistocene. **Quaternary Science Reviews**, V. 242.

Cruz, M. A. O. M., Borges-Nojosa, D. M., Langguth, A. R., Sousa, M. A. N., Silva, L. A. M., Leite, L. M. R. M., ... & Moraes, B. L. C. (2005). Diversidade de mamíferos em áreas prioritárias para conservação da Caatinga. **Análise das Variações da Biodiversidade do Bioma Caatinga: Suporte a Estratégias Regionais de Conservação** (FS Araujo, MJ Rodal & MRV Barbosa, eds.). Ministério do Meio Ambiente, Brasília.

Da Silva, J. M. C., Garda, A. A. (2010). Padrões e processos biogeográficos na Amazônia. Biogeografia da América do Sul: Padrões e Processos. Roca.

Da Silva, J M C ; Barbosa, L C F. (2017) Impact Of Human Activities On The Caatinga. In: **Caatinga - The Largest Tropical Dry Forest Region In South America**. Springer, Cham, P. 359-368.

Da Silva, Jmc; Leal, Jr.; Tabarelli, M, (2018) (Ed.). **Caatinga: The Largest Tropical Dry Forest Region In South America**. Springer.

Delciellos, A. C. (2016). Mammals of four Caatinga areas in northeastern Brazil: inventory, species biology, and community structure. **Check List**, 12(3), 1916-1916.

Demartelaere, A. C. F., dos Santos, A. F., Coutinho, P. W. R., de Sá, R. J. D. S., do Nascimento Leão, F. D. A., da Conceição, A. G. C., ... & de Souza, T. L. (2021). Causas, consequências e métodos atribuídos para prevenir a desertificação na caatinga. **Brazilian Journal of Development**, 7(8), 83270-83285.

De Albuquerque, U.P. et al. (2012<sup>a</sup>) Caatinga Revisited: Ecology And Conservation Of An Important Seasonal Dry Forest. **The Scientific World Journal**, V. 2012.

De Araujo, H. F., Garda, A. A., e Silva, W. A. D. G., do Nascimento, N. F. F., de Freitas Mariano, E., & da Silva, J. M. C. (2022). The Caatinga region is a system and not an aggregate. *Journal of Arid Environments*, 203, 104778.

De Magalhães, R. M. M. (1987) Os cérvidas quaternários das regiões nordeste, sudeste e sul do Brasil. **Anuário do Instituto de Geociências**, 16, 98-99.

De Oliveira, L. R., Loizaga De Castro, R., Cárdenas-Alayza, S., & Bonatto, S. L. (2012). Conservation genetics of South American aquatic mammals: an overview of gene diversity, population structure, phylogeography, non-invasive methods and forensics. **Mammal Review**, 42(4), 275-303.

De Faria Peres, P. H., Grotta-Neto, F., Luduvério, D. J., De Oliveira, M. L., Duarte, J. M. B. (2021) Implications Of Unreliable Species Identification Methods For Neotropical Deer Conservation Planning. **Perspectives In Ecology And Conservation**, 19(4), 435-442.

De Miguel, D., Azanza, B., Morales, J.. (2014) Key Innovations In Ruminant Evolution: A Paleontological Perspective. **Integrative Zoology**, 9(4), 412-433.

De Oliveira, M. L., do Couto, H. T. Z., & Duarte, J. M. B. (2019). Distribution of the elusive and threatened Brazilian dwarf brocket deer refined by non-invasive genetic sampling and distribution modelling. **European journal of wildlife research**, 65(2), 1-9.

De Souza, J. N., de Oliveira, M. L., & Duarte, J. M. B. (2013). A PCR/RFLP methodology to identify non-Amazonian Brazilian deer species. **Conservation Genetics Resources**, 5(3), 639-641.

Dias, D. M., & Bocchiglieri, A. (2016). Riqueza e uso do habitat por mamíferos de médio e grande porte na Caatinga, nordeste do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, 11(1), 38-46.

Dobson, F. S. (1982). Competition for mates and predominant juvenile male dispersal in mammals. **Animal behaviour**, 30(4), 1183-1192.

Duarte, J. M. B. **Guia De Identificação Dos Cervídeos Brasileiros** (1996b). Jaboticabal: Funep, 14p.

Duarte, J.M.B.; Merino, M.L. Taxonomia E Evolução. (1997) In: Duarte, J.M.B. **Biologia E Conservação De Cervídeos Sul-Americanos: Blastocerus, Ozotoceros E Mazama**. Funep, Jaboticabal, P. 1-2.

Duarte, J. M. B. (1998) Análise Taxonômica Dos Mazama Cinzas Do Brasil. In: Análise Citogenética E Taxonômica Do Gênero Mazama (Cervidae; Artiodactyla) No Brasil. 1998. Não Paginado. **Tese (Doutorado Em Ciências Biológicas)** – Instituto De Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Botucatu.

Duarte, J. M. B.; Jorge, W. (2003) Morphologic And Cytogenetic Description Of

The Small Red Brocket (Mazama Bororo Duarte, 1996) In Brazil. **Mammalia**, V. 67, N. 3, P. 403-410.

Duarte, J.M.B.; Gonzalez, S.; Maldonado, J.E. (2008) The Surprising Evolutionary History of South American Deer. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, V. 49, P.17-22.

Duarte, J. M. B., & González, S. (2010) (Eds.). **Neotropical Cervidology: Biology And Medicine Of Latin American Deer**. Jaboticabal: Funep/lucn, Pp. 160-165.

Duarte, J. M. B., Vogliotti, A., Dos Santos Zanetti, E., De Oliveira, M. L., Tiepolo, L. M., Rodrigues, L. F., De Almeida, L. B. (2012) Avaliação Do Risco De Extinção Do Veado-Catingueiro Mazama Gouazoubira G. Fischer [Von Waldhein], 1814, No Brasil. **Biodiversidade Brasileira-Biobrasil**, (1), 50-58.

Duarte, J. M. B., Talarico, Â. C., Vogliotti, A., Garcia, J. E., Oliveira, M. L., Maldonado, J. E., & González, S. (2017). Scat detection dogs, DNA and species distribution modelling reveal a diminutive geographical range for the vulnerable small red brocket deer *Mazama bororo*. **Oryx**, 51(4), 656-664.

Elizondo, C. Estudio De La Variabilidad Genética Del Mazama Gouazoubira (Mammalia: Cervidae) Fischer, 1814. (2010) Tese De Doutorado. **Tesis De Grado**, Departamento De Genética, Laboratorio De Genética De La Conservación, libce-Facultad De Ciencias, Udelar. Montevideo, Uruguay.

Eisenberg, J. F. (1987) The Evolutionary History Of The Cervidae With Special Reference To The South American Radiation. **Biology And Management Of The Cervidae** (Cm Wemmer, Ed.). Smithsonian Institution Press, Washington, Dc, 60-64,.

Eisenberg, J. F. (2000) The Contemporary Cervidae ff Central And South America. **Antelopes Deer And Relatives: Fossil Record, Behavioral Ecology, Systematics, And Conservation**, Es Vrba and Gb Schaller (Eds.). Yale University Press, New Haven, Connecticut, P. 189-202.

Ersts, P. J. (2012). Geographic distance matrix generator version 1.23. [http://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/gdmg](http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/gdmg). **American Museum of Natural History**.

Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131(2), 479-491.

Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, 10(3), 564-567.

Feijó, A.; Langguth, A. (2013) Mamíferos De Médio E Grande Porte Do Nordeste Do Brasil: Distribuição E Taxonomia, Com Descrição De Novas Espécies.

**Revista Nordestina De Biologia**, V. 22, N. 1, P. 3-225.

Feijó, A., Nunes, H., Langguth, A. (2016). Mamíferos da Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, 24(1), 57-74.

Feldhamer, George A.; Mcshea, William J. **Deer: The Animal Answer Guide**. Jhu Press, 2012.

Figueirêdo, Mg. (2014) Filogenia E Taxonomia Dos Veados Cinza (Mazama Gouazoubira E M. nemorivaga). **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, 57p..

**Flora E Funga Do Brasil**. Jardim Botânico Do Rio De Janeiro. Disponível Em: < [Http://Floradobrasil.Jbrj.Gov.Br/](http://Floradobrasil.Jbrj.Gov.Br/) >. Acesso Em: 20 Ago. 2022.

Foerster, S. Í. A. (2020). Diversidade genética e padrões filogeográficos do escorpião Jaguajir rochae (Borelli, 1910) em um gradiente de estabilidade climática da Caatinga (**Master's thesis**, Universidade Federal de Pernambuco).

Fontana, C.S.; Bencke, G.A.; Reis, R.E. (2003) Livro Vermelho Da Fauna Ameaçada De Extinção No Rio Grande Do Sul. **Edipucrs**, P. 632.

Fontana F; Rubini M. (1990) Chromosomal Evolution In Cervidae. **Biosystems**, 34:157-174.

Fonseca, C. R., Antongiovanni, M., Matsumoto, M., Bernard, E., & Venticinque, E. M. (2017). Conservation opportunities in the Caatinga. In Caatinga (pp. 429-443). **Springer**, Cham.

Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2004). A primer of conservation genetics. **Cambridge University Press**.

Frankham, R. (2010). Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. **Biological conservation**, 143(9), 1919-1927.

French, N., Yu, S., Biggs, P., Holland, B., Fearnhead, P., Binney, B., Fox, A., Grove-White, D., Leigh, J. W., Miller, W., Muellner, P., Carter, P. (2014) Evolution Of Campylobacter Species In New Zealand. In Sheppard, S. K. & Méric, G. (Eds.), **Campylobacter Ecology And Evolution**. Norfolk, England: Caister Academic Press. Pp. 221–240.

Fry, W. E., Gustafson, E. P. (1974). Cervids From The Pliocene And Pleistocene Of Central Washington. *Journal Of Paleontology*, 375-386, 1974.

Fu, Y. X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925.

Galindo, D. J., Martins, G. S., Vozdova, M., Cernohorska, H., Kubickova, S., Bernegossi, A. M., ... Duarte, J. M. B. (2021) Chromosomal Polymorphism And Speciation: The Case Of The Genus Mazama (Cetartiodactyla; Cervidae). **Genes**, 12(2), 165.

- Ganem, Roseli Senna. **Caatinga: Estratégias De Conservação**. 2017.
- Garamszegi, L. Z. (Ed.). (2014). Modern phylogenetic comparative methods and their application in evolutionary biology: concepts and practice. **Springer**.
- Geburek, T., & Konrad, H. (2008). Why the conservation of forest genetic resources has not worked. **Conservation Biology**, 22(2), 267-274.
- Geist, V. (1966) The Evolution Of Horn-Like Organs. *Behaviour*, 27(1-2), 175-214.
- Geist, V. (1998) *Deer Of The World: Their Evolution, Behaviour, And Ecology*. Mechanicsburg, Pennsylvania: **Stackpole Books**. Vol. 272.
- Gilbert, C., Ropiquet, A., & Hassanin, A. (2006). Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): systematics, morphology, and biogeography. **Molecular phylogenetics and evolution**, 40(1), 101-117.
- Glenn, T., Bavis, R., & Bollback, J. (2004). DNA extraction protocols using silica. **Laboratory of molecular systematics MRC**, 534.
- Gomide, S. M. M. (1989). Mamíferos pleistocênicos de Itapipoca, Ceará, Brasil, depositados no Museu Nacional (Doctoral dissertation, **Dissertação de Mestrado**. Museu Nacional da UFRJ, Rio de Janeiro, 172 p.(Unpublished)).
- González, S.; Maldonado, J. E.; Leonard, J. A.; Vilà, C.; Duarte, J. M. B.; Merino, M.; Brum-Zorrilla, N.; Waine, R. K. (1998) Conservation Genetics Of The Endangered Pampas Deer (*Ozotoceros Bezoarticus*). **Molecular Ecology**, V.7, P. 47- 56.
- González, S., Maldonado, J. E., Ortega, J., Talarico, A. C., BIDEGARAY-BATISTA, L. E. T. I. C. I. A., Garcia, J. E., & Duarte, J. M. B. (2009). Identification of the endangered small red brocket deer (*Mazama bororo*) using noninvasive genetic techniques (Mammalia; Cervidae). *Molecular Ecology Resources*, 9(3), 754-758.
- González, Susana; Barbanti Duarte, José Maurício. (2020) Speciation, Evolutionary History And Conservation Trends Of Neotropical Deer. **Mastozoología Neotropical**, V. 27, P. 37-47.
- Graae, B. J., Vandvik, V., Armbruster, W. S., Eiserhardt, W. L., Svenning, J. C., Hylander, K., ...Lenoir, J. (2018) Stay or Go—How Topographic Complexity Influences Alpine Plant Population And Community Responses To Climate Change. *Perspectives In Plant Ecology*, **Evolution And Systematics**, 30, 41-50.
- Greenwood, Paul J. (1980) Mating Systems, Philopatry And Dispersal In Birds And Mammals. **Animal Behaviour**, 28.4: 1140-1162.
- Groves, C. P.; Grubb, P. (1987) Relationships Of Living Deer. In “Biology And Management Of The Cervidae” (Cm Wemmer, Ed.). **Smithsonian Inst. Press**, Washington, Dc, 21-59.

- Groves, C. P. (2007) Family Cervidae. **The Evolution of Artiodactyls**, 249-256.
- Grubb, P. (2005) Artiodactyla: Cervidae: Capreolinae. *Mammal Species Of The World: A Taxonomic And Geographic Reference* (Eds., Wilson D, Reeder D). **The Johns Hopkins University Press**, Baltimore, Md, 652-653.
- Guérin, C., & Faure, M. (2009). Les Cervidae (Mammalia, Artiodactyla) du Pléistocène supérieur-Holocène ancien de la région du Parc National Serra da Capivara (Piauí, Brésil). **Geobios**, 42(2), 169-195.
- Gutiérrez Ee, Maldonado Je, Radosavljevic A, Molinari J, Patterson Bd, Martínez-C Jm, Rutter Ar, Hawking Mtr, García, Fj, Helgen, Km. (2015) The Taxonomic Status Of *Mazama bricenii* And The Significance Of The Táchira Depression For Mammalian Endemism In The Cordillera De Mérida Venezuela. **Plos One** 10(6): E0129113.
- Gutiérrez, E. E., Helgen, K. M., Mcdonough, M. M., Bauer, F., Hawkins, M. T., Escobedo-Morales, L. A., ... Maldonado, J. E. A (2017) Gene-Tree Test Of The Traditional Taxonomy Of American Deer: The Importance Of Voucher Specimens, Geographic Data, And Dense Sampling. **Zookeys**, (697), 87.
- Haffer, J., & Prance, G. T. (2002). Impulsos climáticos da evolução na Amazônia durante o Cenozóico: sobre a teoria dos Refúgios da diferenciação biótica. **Estudos avançados**, 16, 175-206.
- Harrisson, K. A., Pavlova, A., Amos, J. N., Radford, J. Q., Sunnucks, P. (2014). Does Reduced Mobility Through Fragmented Landscapes Explain Patch Extinction Patterns For Three Honeyeaters?. **Journal Of Animal Ecology**, 83(3), 616-627, 2014.
- Hartl, D. L., Clark, A. G., & Clark, A. G. (1997). Principles of population genetics (Vol. 116). **Sunderland: Sinauer associates**.
- Hasegawa, M., Kishino, H., & Yano, T. A. (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. **Journal of molecular evolution**, 22(2), 160-174.
- Hassanin, A., Douzery, E. J.. (2003) Molecular And Morphological Phylogenies Of Ruminantia And The Alternative Position Of The Moschidae. **Systematic Biology**, 52(2), 206-228.
- Hassanin, A., Delsuc, F., Ropiquet, A., Hammer, C., Van Vuuren, B. J., Matthee, C., ... Couloux, A (2012) Pattern And Timing Of Diversification Of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), As Revealed By A Comprehensive Analysis Of Mitochondrial Genomes. **Comptes Rendus Biologies**, V. 335, N. 1, P. 32-50.
- Harvey, M. G., Bravo, G. A., Claramunt, S., Cuervo, A. M., Derryberry, G. E., Battilana, J., ...Derryberry, E. P. (2020). The evolution of a tropical biodiversity hotspot. **Science**, 370(6522), 1343-1348.



Heath, T. A. (2015). Divergence time estimation using BEAST v2. Dating species divergences with the fossilized birth-death process. Heckberg Ns, Erpenbeck D, Gert Wörheide G, Rossner Ge. *Systematic Relationships Of Five Newly Sequenced Cervid Species*. **Peerj** 4: E2307, 2016.

Heckeberg, N.S. (2017) A Comprehensive Approach Towards The Phylogeny And Evolution Of Cervidae (**Doctoral Dissertation**, Lmu).

Heckeberg, N. S., Wörheide, G. (2019) A Comprehensive Approach Towards The Systematics Of Cervidae (No. E27618v1). **Peerj Preprints**.

Heckeberg, Nicola S. (2020) The Systematics of The Cervidae: A Total Evidence Approach. **Peerj**, 8: E8114.

Helfrich, P., Rieb, E., Abrami, G., Lücking, A., & Mehler, A. (2018). TreeAnnotator: versatile visual annotation of hierarchical text relations. In **Proceedings of the eleventh international conference on language resources and evaluation (LREC 2018)**.

Hernández Fernández M, Vrba Es (2005) A Complete Estimate Of The Phylogenetic Relationships In Ruminantia: A Dated Species-Level Supertree Of The Extant Ruminants. **Biological Reviews**. 80(2):269–302.

Herzog, S., Harrington, R. (1991). The Role Of Hybridization In The Karyotype Evolution Of Deer (Cervidae; Artiodactyla; Mammalia). **Theoretical And Applied Genetics**, 82(4), 425-429, 1991.

Hewitt, G. M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. **Series B: Biological Sciences**, 359(1442), 183-195.

Hurtado-Gonzales, JI; Bodmer, Re. (2004) Assessing The Sustainability Of Brocket Deer Hunting In The Tamshiyacu-Tahuayo Communal Reserve, Northeastern Peru. **Biological Conservation**, 116.1: 1-7,.

Hartl D.L.; Clark A.G. (2010) Princípios De Genética De Populações. **Capítulo 6 – Endocruzamento, Subdivisão Populacional E Migração**, 4º Edição. Artmed, 659p.

IBGE-Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística (2012). **Manual técnico da vegetação brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro. 275p.

IBGE-Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística (2019). **Biomass E Sistema Costeiro-Marinho Do Brasil: Compatível Com A Escala 1: 250 000**.

Janis, C. M., Theodor, J. M. (2014) Cranial And Postcranial Morphological Data In Ruminant Phylogenetics. **Zitteliana**, 15-31.

Morales-Donoso, J. A., Vacari, G. Q., Bernegossi, A. M., Sandoval, E. D. P., Peres, P. H. F., Galindo, D. J., ... & Duarte, J. M. B. (2023). Revalidation of *Passalites Gloger*, 1841 for the Amazon brown brocket deer *P. nemorivagus*

- (Cuvier, 1817) (Mammalia, Artiodactyla, Cervidae). **ZooKeys**, 1167, 241.
- Kardong, K. V. (2011) **Vertebrados: Anatomia Comparada, Função E Evolução**. 5th Ed. São Paulo, Roca.
- Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in bioinformatics**, 20(4), 1160-1166.
- Kingman, Jfc. (1982) On The Genealogy Of Large Populations. **Journal Of Applied Probability**, 19.A: 27-43.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular biology and evolution**, 35(6), 1547.
- Leal, I. R., Silva, J. D., Tabarelli, M., Lacher Jr, T. E. (2005) Mudando O Curso Da Conservação Da Biodiversidade Na Caatinga Do Nordeste Do Brasil. **Megadiversidade**, V. 1, N.1, P. 139-146.
- Ledo, R. M. D., Domingos, F. M., Giugliano, L. G., Sites Jr, J. W., Werneck, F. P., & Colli, G. R. (2020). Pleistocene expansion and connectivity of mesic forests inside the South American Dry Diagonal supported by the phylogeography of a small lizard. **Evolution**, 74(9), 1988-2004.
- Leigh, E. G., O'Dea, A., & Vermeij, G. J. (2014). Historical biogeography of the Isthmus of Panama. **Biological Reviews**, 89(1), 148-172.
- Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25(11), 1451-1452.
- Lister, A. M., Parfitt, S. A., Owen, F. J., Collinge, S. E., Breda, M. (2010) Metric Analysis Of Ungulate Mammals In The Early Middle Pleistocene Of Britain, In Relation To Taxonomy And Biostratigraphy: Ii: Cervidae, Equidae And Suidae. **Quaternary International**, 228(1-2), 157-179.
- Machado, Tcfb. (2020) Novos Registros De Mastodontes (Mammalia: Proboscidea) Para Minas Gerais, **Brasil: Descrição, Datação E Ecologia Alimentar**..
- Maddison, W. P., Maddison, D. R. (2019). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, v. 3.61. **See <http://mesquiteproject.org>**.
- Machado, A. F., da Silva, M. N. F., Farias, I. P., Anciães, M., Nunes, M. S., Miranda, C. L., ... & Duarte, L. (2023). Recent past connections between Amazonian and Atlantic forests by comparative phylogeography and paleodistribution models for didelphid mammals. PREPRINT **Evolutionary Ecology** (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2600787/v1>]
- Magalhães, R. M., Mello, M. S., & Paglarelli, L. (1992). Os cérvidas pleistocênicos

da região nordeste brasileira. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 64(2), 149-154.

Manni, F., Guérard, E., & Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. **Human biology**, 173-190.

Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer research**, 27(2\_Part\_1), 209-220.

Mantellatto, A. (2016) Padrões De Distribuição Histórica, Relações Filogenéticas E Filogeográficas De Veado Mateiro-Pequeno, Mazama Bororo Duarte, 1996 (Mammalia: Cervidae). **Tese (Doutorado Em Genética E Melhoramento Animal)**. Universidade Estadual Paulista —Julio De Mesquita Filholl, Jaboticabal, Brasil.

Cruz, M. A. O. M., Borges-Nojosa, D. M., Langguth, A. R., Sousa, M. A. N., Silva, L. A. M., Leite, L. M. R. M., ... & Moraes, B. L. C. (2005). Diversidade de mamíferos em áreas prioritárias para conservação da Caatinga. **Análise das Variações da Biodiversidade do Bioma Caatinga: Suporte a Estratégias Regionais de Conservação** (FS Araujo, MJ Rodal & MRV Barbosa, eds.). Ministério do Meio Ambiente, Brasília.

Maran, Louise Helena Martins. (2016) Filogenia Molecular De Mazama Americana (Artiodactyla: Cervidae) Como Auxílio Na Resolução Das Incertezas Taxonômicas. **Tese (Doutorado Em Genética E Melhoramento Animal)**. Universidade Estadual Paulista —Julio De Mesquita Filholl, Jaboticabal, Brasil.

Marinho, P. H., Bezerra, D., Antongiovanni, M., Fonseca, C. R., Venticinque, E. M. (2018) Mamíferos De Médio E Grande Porte Da Caatinga Do Rio Grande Do Norte, Nordeste Do Brasil. **Mastozoologia Neotropical**, 25(2), 345-362.

Marquez, A., Maldonado, J. E., González, S., Beccaceci, M. D., Garcia, J. E., & Duarte, J. M. B. (2006). Phylogeography and Pleistocene demographic history of the endangered marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) from the Río de la Plata Basin. **Conservation genetics**, 7(4), 563-575.

Marshal, J. P., Bleich, V. C., Krausman, P. R., Reed, M. L., Andrew, N. G. (2006) Factors Affecting Habitat Use And Distribution Of Desert Mule Deer In An Arid Environment. **Wildlife Society Bulletin**, V. 34, N. 3, P. 609-619.

Martins, Tk. (2018) Estruturação Das Comunidades De Pequenos Mamíferos Não-Voadores No Bioma Caatinga: Enfoque Em Metacomunidades, Betadiversidade E Filobetadiversidade. **Tese (Doutorado)** - Ufpb/Ccen, João Pessoa.

Martinsen, E. S., Mcinerney, N., Brightman, H., Ferebee, K., Walsh, T., Mcshea, W. J., ... Fleischer, R. C. (2016) Hidden In Plain Sight: Cryptic And Endemic Malaria Parasites In North American White-Tailed Deer (*Odocoileus virginianus*).

**Science Advances**, 2(2), E1501486.

Melo, R. S.; Silva, O .C.; Souto, A.; Alves, R. R. N.; Schiel, N. (2014) The Role Of Mammals In Local Communities Living In Conservation Areas In The Northeast Of Brazil: An Ethnozoological Approach. *Tropical Conservation Science*, V. 7, N. 3, P. 423-439.

Mesquita, D.O., Costa, G.C., Garda, A.A., Delfim, F.R. (2017). Species Composition, Biogeography, and Conservation of the Caatinga Lizards. In: Silva, J.M.C., Leal, I.R., Tabarelli, M. (eds) **Caatinga**. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-68339-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-68339-3_6)

MMA. Ministério Do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes De Conservação Da Biodiversidade. **Portaria Mmanº 147 De 2022. Espécies Ameaçadas – Lista 2022**. Disponível Em: <[Http://Www.In.Gov.Br/En/Web/Dou/-/Portaria-Mma-N-148-De-7-De-Junho-De-2022-406272733](http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733)>. Acesso Em: 23 Ago. 2022.

MMA. **Lista Nacional Oficial De Espécies Da Fauna Ameaçadas De Extinção**. Ministério Do Meio Ambiente, Brasília, 2014. <[Http://Pesquisa.In.Gov.Br/Imprensa/Jsp/Visualiza/Index.Jsp?Jornal=1&Pagina=121&Data=18/12/2014](http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=121&data=18/12/2014)>

MMA. Caatinga - Monitoramento Do Desmatamento Dos Biomas Brasileiros Por Satélite - **Relatório Técnico 2010 – 2011**. Ministério Do Meio Ambiente, Brasília, 2016a. <[Http://Www.Mma.Gov.Br/Index.Php/Comunicacao/Agencia-Infommma?View=Blog&Id=2096](http://www.mma.gov.br/index.php/comunicacao/agencia-informma?view=blog&id=2096)>

MMA. (2016b). **Áreas Prioritárias Para A Conservação, Utilização Sustentável E Repartição De Benefícios Da Biodiversidade Do Cerrado, Do Pantanal E Da Caatinga**. Ministério Do Meio Ambiente, Brasília. [Http://Www.Mma.Gov.Br/Biodiversidade/Biodiversidade-Brasileira/%C3%A1reas-Priorit%C3%A1rias/Item/10724](http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira/%C3%A1reas-priorit%C3%A1rias/item/10724)

Meng, J; Mckenna, Mc. (1998) Faunal Turnovers of Palaeogene Mammals From The Mongolian Plateau. *Nature*, 394.6691: 364-367.

Meredith, R. W., Janečka, J. E., Gatesy, J., Ryder, O. A., Fisher, C. A., Teeling, E. C., ... & Murphy, W. J. (2011). Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification., 334(6055), 521-524.

Merino, M. L.; Milne, N.; Vizcaíno, S.F. (2005) A Cranial Morphometric Study Of Deer (Mammalia, Cervidae) From Argentina Using Three-Dimensional Landmarks. *Acta Theriologica*, V. 50, N. 1, P. 91-108.

Merino, M.L.; Rossi, R.V. (2010) Origin, Systematics, And Morphological Radiation. In: Duarte, J.M.B.; Gonzalez, S. (Eds.) **Neotropical Cervidology, Biology And Medicine Of Latin American Deer**. Funep/lucn, Jaboticabal/Gland, P. 2-11.

Mertens, J. Et Al. (2017) *Spondias Tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), A

Threatened Tree Of The Brazilian Caatinga? **Brazilian Journal Of Biology**, V. 77, N. 3, P. 542-552.

Mickoleit, G. (2004) Phylogenetische Systematik *der Wirbeltiere*. **München: Dr. Friedrich Pfeil**.

Mikich, S. B.; Bérnils, R. S. (2004) Livro Vermelho Da Fauna Ameaçada No Estado Do Paraná. **Instituto Ambiental Do Paraná**. P. 763.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2011,). The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. **In Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery** (pp. 1-8).

Miyaki, C. Y., Russo, C. A., & Pereira, S. L. (2012). Reconstrução filogenética: introdução e o método da máxima parcimônia. **Biologia molecular e evolução**.

Molina, M., Molinari, J. (1999) Taxonomy Of Venezuelan White-Tailed Deer (*Odocoileus*, Cervidae, Mammalia), Based On Cranial And Mandibular Traits. **Canadian Journal Of Zoology**, 77(4), 632-645.

Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V., ...Niño, H. (2015) Middle Miocene Closure of The Central American Seaway. **Science**, 348(6231), 226-229.

Moritz, C. (1994) Defining 'Evolutionarily Significant Units' for Conservation. **Trends In Ecology & Evolution**, 9.10: 373-375.

Moritz, C., & Faith, D. P. (1998). Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. **Molecular ecology**, 7(4), 419-429.

Moritz, C., Hoskin, C. J., MacKenzie, J. B., Phillips, B. L., Tonione, M., Silva, N., ... & Graham, C. H. (2009). Identification and dynamics of a cryptic suture zone in tropical rainforest. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 276(1660), 1235-1244.

Moore, J., & Ali, R. (1984). Are dispersal and inbreeding avoidance related?. **Animal Behaviour**, 32(1), 94-112.

Moore, W. S. (1995). Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. **Evolution**, 49(4), 718-726.

Moro MF, Lughadha EN, de Araujo FS & Martins FR (2016) A phytogeographical metaanalysis of the semiarid Caatinga domain in Brazil. **The Botanical Review** 82: 91-148.

Morrone, J. J. (2002). Guest Editorial: Biogeographical Regions under Track and Cladistic Scrutiny. **Journal of Biogeography**, 29(2), 149-152.

Morrone, J. J. (2006). Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. **Annual review of entomology**, 51(1), 467-494.

- Morrone, J. J. (2010). Fundamental biogeographic patterns across the Mexican Transition Zone: an evolutionary approach. **Ecography**, 33(2), 355-361.
- Morrone, J. J. (2014). Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. **Zootaxa**, 3782(1), 1-110.
- Morrone, J. J., Escalante, T., Rodríguez-Tapia, G., Carmona, A., Arana, M., & Mercado-Gómez, J. D. (2022). Biogeographic regionalization of the Neotropical region: New map and shapefile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 94.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., Kent, J. (2000) Biodiversity Hotspots For Conservation Priorities. **Nature**, 403(6772), 853-858.
- Neitzel, H. (1979) **Chromosome Evolution In Der Family Der Hirsche** (Cervidae). Bongo, Berlin, 3, 27-38.
- Neitzel, H. (1987) Chromosome Evolution of Cervidae: Karyotypic And Molecular Aspects. In: Obe, G.; Basler, A. (Eds.). *Cytogenetics, Basic And Applied Aspects*, Berlin: **Springer Verlag**, P. 90-112.
- Nimer, E. (1972) Climatologia Da Região Nordeste Do Brasil. Introdução À Climatologia Dinâmica. **Revista Brasileira De Geografia**, 34.2: 3-51.
- Nodari, F. (2008). Filogenia do género *Paroaria* (Aves: Passeriformes: Oscines) e filogeografia de *Paroaria dominicana* (**Doctoral dissertation**, Universidade de São Paulo).
- Nylander, J. A., Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P., & Nieves-Aldrey, J. (2004). Bayesian phylogenetic analysis of combined data. **Systematic biology**, 53(1), 47-67.
- Oliveira, J.A., Goncalves, P.R. And Bonvicino, C.R. Mamíferos Da Caatinga. In: I.R. Leal, M. Tabarelli, J.M.C. Silva, (2003) Eds. **Ecologia E Conservação Da Caatinga**. Recife: Universidade Federal De Pernambuco, Pp. 275-333.
- Oliveira EJ, Garcia JE, Contel EPB, Duarte JMB (2005) Genetic structure of *Blastocerus dichotomus* populations in the Parana river basin (Brazil) based on protein variability. **Biochemical Genetics**. 43(5/6), 211–222.
- Oliveira, E. S.; Torres, D. F.; Brooks, S. E.; Alves, R. R. N. (2010) The Medicinal Animal Markets in The Metropolitan Region Of Natal City, Northeastern Brazil. **Journal Of Ethnopharmacology**, V. 130, N. 1, P. 54-60.
- Oliveira, P. V., Ribeiro, A. M., Ximenes, C. L., Viana, M. S. S., & Holanda, E. C. (2014). Tayassuidae, cervidae e tapiridae da gruta do urso fóssil, holoceno, parque nacional de ubajara, ceará, brasil. **Revista Brasileira de Paleontologia**, 17(3), 417-434.
- Oliveira, E. F. D. (2014). Filogeografia de *Cnemidophorus ocellifer* (Squamata:

Teiidae) na Caatinga. **Tese (Doutorado em Ecologia)** - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 162p.

Oliveira, E. F., Gehara, M., São-Pedro, V. A., Chen, X., Myers, E. A., Burbrink, F. T., ... & Costa, G. C. (2015). Speciation with gene flow in whiptail lizards from a Neotropical xeric biome. **Molecular Ecology**, 24(23), 5957-5975.

Oliveira, M.L. (2015) Distribuição e estimativa populacional do veado-mão-curta (*Mazama nana*) utilizando amostragem não invasiva. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 60 p.

Oliveira, A. M., Becker-Kerber, B., Cordeiro, L. M., Borghezán, R., Avilla, L. S., Pacheco, M. L. A. F., & Santos, C. M. D. (2017). Quaternary mammals from central Brazil (Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul) and comments on paleobiogeography and paleoenvironments. *Revista Brasileira de Paleontologia*, 20(1), 31-44.

Pavan, A. C., & da C. Tavares, V. (2020). *Pteronotus gymnonotus* (Chiroptera: Mormoopidae). **Mammalian Species**, 52(990), 40-48.

Peres, P.H.F. (2015) Uso Do Espaço Pelo Veado-Catingueiro (*Mazama gouazoubira*; Fisher, 1814): Uma Comparação Entre Colares Gps E Dna Fecalistória. **Dissertação (Mestrado Em Ciências)** – Escola Superior De Agricultura “Luiz De Queiroz”, Universidade De São Paulo, Piracicaba, 84p.

Pérez-Hernández, R., & Lew, D. (2001). Las clasificaciones e hipótesis biogeográficas para la Guayana venezolana. **Interciencia**, 26(9), 373-382.

Pinder, L., & Leeuwenberg, F. (1997). Veado-Catingueiro (*Mazama gouazoubira*, Fisher 1814). **Biologia e Conservação de Cervídeos Sul-Americanos: Blastocerus, Ozotocerus e Mazama**. FUNEP. 238p, 60-68.

Piovezan, U., Tiepolo, L. M., Tomas, W. M., Duarte, J. B., Varela, D., & Marinho-Filho, J. S. (2010) Marsh Deer *Blastocerus Dichotomus* (Illiger, 1815). **Neotropical Cervidology: Biology And Medicine Of Latin American Deer**. Jaboticabal, Funep/Iucn, 66-76.

Posada, D. (2003). Using MODELTEST and PAUP\* to select a model of nucleotide substitution. **Current protocols in bioinformatics**, (1), 6-5.

Price, Sa.; Bininda-Emonds, Orp; Gittleman, JI. A Complete Phylogeny Of The Whales, Dolphins And Even-Toed Hoofed Mammals (Cetartiodactyla). **Biological Reviews**, V. 80, N. 3, P. 445-473, 2005.

Peulvast, J. P., & de Claudino Sales, V. (2004). Stepped surfaces and palaeolandforms in the northern Brazilian «Nordeste»: constraints on models of morphotectonic evolution. **Geomorphology**, 62(1-2), 89-122.

Prado, D. E., & Gibbs, P. E. (1993). Patterns of species distributions in the dry

seasonal forests of South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 902-927.

Queiroz LP (2006) The Brazilian Caatinga: phytogeographical patterns inferred from distribution data of the Leguminosae. In: Pennington RT & Ratter JA (eds.) Neotropical savannas and seasonally dry forests plant diversity, biogeography, and conservation. **Taylor & Francis**, Boca Raton Pp. 121-157.

Putman, Rory. The Natural History Of Deer. **Cornell University Press**, 1988.

Ramos-Onsins, Sebastian E.; Rozas, Julio. (2002) Statistical Properties Of New Neutrality Tests Against Population Growth. **Molecular Biology And Evolution**, 19.12: 2092-2100.

Ramírez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S. E., Rozas, J., Calafell, F., & Navarro, A. (2008). Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. **Genetics**, 179(1), 555-567.

Ramos-Onsins, S. E., & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. **Molecular biology and evolution**, 19(12), 2092-2100.

Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. **Systematic biology**, 67(5), 901-904.

Randi, E., Mucci, N., Claro-Hergueta, F., Bonnet, A., Douzery, E. J. A (2001) Mitochondrial Dna Control Region Phylogeny of The Cervinae: Speciation In Cervus And Implications For Conservation. In **Animal Conservation Forum**. Cambridge University Press. Vol. 4, No. 1, Pp. 1-11.

REFLORA, D. B. (2020). **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro.

Ribas, C. C., Maldonado Coelho, M., Smith, B. T., Cabanne, G. S., d'Horta, F. M., & Naka, L. N. (2012). Towards an integrated historical biogeography of the Neotropical lowland avifauna: combining diversification analysis and landscape evolution. Neotropical Ornithological Society; **Ornitología Neotropical**; 23; 4-2012; 187-206

Riddle, B. R., Dawson, M. N., Hadly, E. A., Hafner, D. J., Hickerson, M. J., Mantooth, S. J., & Yoder, A. D. (2008). The role of molecular genetics in sculpting the future of integrative biogeography. **Progress in Physical Geography**, 32(2), 173-202.

Ride, W.D.J.L. (1999). International Code of Zoological Nomenclature. **International Trust For Zoological Nomenclature**.

Rocha-Mendes, F.; Mikich, S. B.; Biaconi, G. V.; Pedro, W. A. (2005) Mamíferos Do Município De Fênix, Paraná, Brasil: Etnozoologia E Conservação. **Revista**



**Brasileira De Zoologia**, V. 22, N. 4, P. 991-1002.

Rodrigues, M. T. (2003). Herpetofauna da caatinga. **Ecologia e conservação da Caatinga**, 1, 181-236.

Rogers, A. R., & Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. **Molecular biology and evolution**, 9(3), 552-569.

Romero, VI; Chatellenaz, MI. (2013) Densidad De Mazama Gouazoubira (Artiodactyla, Cervidae) En Un Parque Nacional Del Nordeste De Argentina. **Acta Zoológica Mexicana**, 29.2: 388-399.

Rosenberg, Noah A.; Nordborg, Magnus. (2002) Genealogical Trees, Coalescent Theory And The Analysis Of Genetic Polymorphisms. **Nature Reviews Genetics**, 3.5: 380-390.

Rossi, R.V. (2000) Taxonomia De Mazama Rafinesque, 1817 Do Brasil (Artiodactyla, Cervidae). **Dissertação (Mestrado)**, Universidade De São Paulo, São Paulo, Sp, 189p.

Rotti, A., Vezzosi, R. I., Mothé, D., & dos Santos Avilla, L. (2021). Rising from the ashes: The biggest South American deers (Cetartiodactyla: Cervidae) once roamed Northeast Brazil. **Journal of South American Earth Sciences**, 108, 103154.

Santos, Cmd.; Amorim, Ds. (2007) Why Biogeographical Hypotheses Need A Well Supported Phylogenetic Framework: A Conceptual Evaluation. **Papéis Avulsos De Zoologia**, 47: 63-73.

Santos, J. C., Leal, I. R., Almeida-Cortez, J. S., Fernandes, G. W., Tabarelli, M. (2011) Caatinga: The Scientific Negligence Experienced by A Dry Tropical Forest. **Tropical Conservation Science**, V. 4, N. 3, P. 276-286,.

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular biology and evolution**, 4(4), 406-425.

Sampaio EVSB. (2010). Características e potencialidades. In: Gariglio MA, Sampaio EVSB, Cestaro LA, Kageyama PY (eds). **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**, Brasília, pp 29-48.

Serbent, M. P.; Periago, Me; Leynaud, Gc. (2011) *Mazama Gouazoubira* (Cervidae) Diet During The Dry Season In The Arid Chaco Of Córdoba (Argentina). **Journal Of Arid Environments**, 75.1: 87-90.

Serna-Lagunes, R., Romero-Ramos, D. K., Delfín-Alfonso, C. A., & Salazar-Ortiz, J. (2021). Phylogeography of the Central american red brocket deer, *Mazama temama* (Artiodactyla, Cervidae) in southeastern Mexico. **Neotropical Biology and Conservation**, 16(2), 369-382.

- Silva JMC, Barbosa LCF, Leal I, Tabarelli M (2017) The Caatinga: understanding the challenges. In: Silva JC, Leal I, Tabarelli M (eds) Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America. **Springer**, Cham, pp 3–19.
- Silva AC, Souza AF. (2018). Aridity drives plant biogeographical sub regions in the Caatinga, the largest tropical dry forest and woodland block in South America. **Plos One** 13:e0196130
- Silva-Caballero, A; Ortega, J. (2022) *Mazama Gouazoubira* (Cetartiodactyla: Cervidae). **Mammalian Species**, V. 54, N. 1023, P. Seac008.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, 139(1), 457-462.
- Sober, E. (1983). Parsimony in systematics: philosophical issues. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 14, 335-357.
- Souza, T., França, F.M., Barlow, J., Dodonov, P., Santos, J.S., Faria, D., et al. (2020) The Relative Influence Of Different Landscape Attributes On Dung Beetle Communities In The Brazilian Atlanticforest. **Ecological Indicators**, 117, 106534.
- Souza Junior, P., R, M. G. F., Dutra, L. J., Mattos, K. D., Carvalho, N. D. C. D., Abidu-Figueiredo, M., Santos, A. L. Q.. Osteology Of The Thoracic Limb Of South American Gray Brocket *Mazama Gouazoubira* (Fischer, 1814) (Cetartiodactyla: Cervidae). **Int. J. Morphol.**, Temuco, V. 35, N. 3, P. 1000-1009, Sept. 2017.
- Swofford, D. L. (2003). PAUP\* 4.0: phylogenetic analysis using parsimony, version 4 Sinauer associates.
- Tabarelli, M., & SILVA, J. M. C. D. (2003). Áreas e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. **Ecologia e conservação da Caatinga**, 777-796.
- Taberlet, P., & Luikart, G. (1999). Non-invasive genetic sampling and individual identification. **Biological journal of the linnean society**, 68(1-2), 41-55.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, 123(3), 585-595.
- Teixeira, M. G., Venticinque, E. M., Lion, M. B., & Pinto, M. P. (2021). The Brazilian Caatinga protected areas: an extremely unbalanced conservation system. **Environmental Conservation**, 48(4), 287-294.
- Thome, M. T. C., Carstens, B. C., Rodrigues, M. T., Alexandrino, J., & Haddad, C. F. (2021). Genomic data from the Brazilian sibilator frog reveal contrasting pleistocene dynamics and regionalism in two South American dry biomes. **Journal of Biogeography**, 48(5), 1112-1123.
- Tomazella, I. M. (2016) Análise De Polimorfismo Cromossômico Em *Mazama Gouazoubira* (Artiodactyla; Cervidae): Implicações Para A Evolução Cariotípica

Em Cervidae. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, 108p.

Tomazella, Im; Abril, Vv; Duarte, Jmb. (2017) Identifying *Mazama Gouazoubira* (Artiodactyla; Cervidae) Chromosomes Involved In Rearrangements Induced By Doxorubicin. **Genetics And Molecular Biology**, V. 40, P. 460-467.

Tonni, E. P., Cione, A. L., & Figini, A. J. (1999). Predominance of arid climates indicated by mammals in the pampas of Argentina during the Late Pleistocene and Holocene. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, 147(3-4), 257-281.

Trinca, Cristine Silveira; Jaeger, Camila Fernandes; Eizirik, Eduardo. (2013) Molecular Ecology of The Neotropical Otter (*Lontra Longicaudis*): Non-Invasive Sampling Yields Insights Into Local Population Dynamics. **Biological Journal Of The Linnean Society**, V. 109, N. 4, P. 932-948.

Turchetto-Zolet, A. C., Pinheiro, F., Salgueiro, F., & Palma-Silva, C. (2013). Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular ecology**, 22(5), 1193-1213.

Uehlinger, F. D., Johnston, A. C., Bollinger, T. K., Waldner, C. L. (2016) Systematic Review of Management Strategies To Control Chronic Wasting Disease In Wild Deer Populations In North America. **Bmc Veterinary Research**, 12(1), 1-16.

Valeri, M. P., Tomazella, I. M., Duarte, J. M. (2018) Intrapopulation Chromosomal Polymorphism In *Mazama Gouazoubira* (Cetartiodactyla; Cervidae): The Emergence Of A New Species? **Cytogenetic And Genome Research**, 154(3), 147-152.

Vanzolini, P. E., & Williams, E. E. (1981). The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 34(23), 251-255.

Vasconcelos, T. S., Prado, V. H., da Silva, F. R., & Haddad, C. F. (2014). Biogeographic distribution patterns and their correlates in the diverse frog fauna of the Atlantic Forest hotspot. **Plos one**, 9(8), e104130.

Velloso, A. L., Sampaio, E. V. S. B., & Parein, F. G. C. (2002). Ecorregiões propostas para o bioma Caatinga-Resultado do Seminário de Planejamento Ecorregional da Caatinga. Associação Plantas do Nordeste, Instituto de Conservação Ambiental. **The Nature Conservancy**, Recife, 1-76.

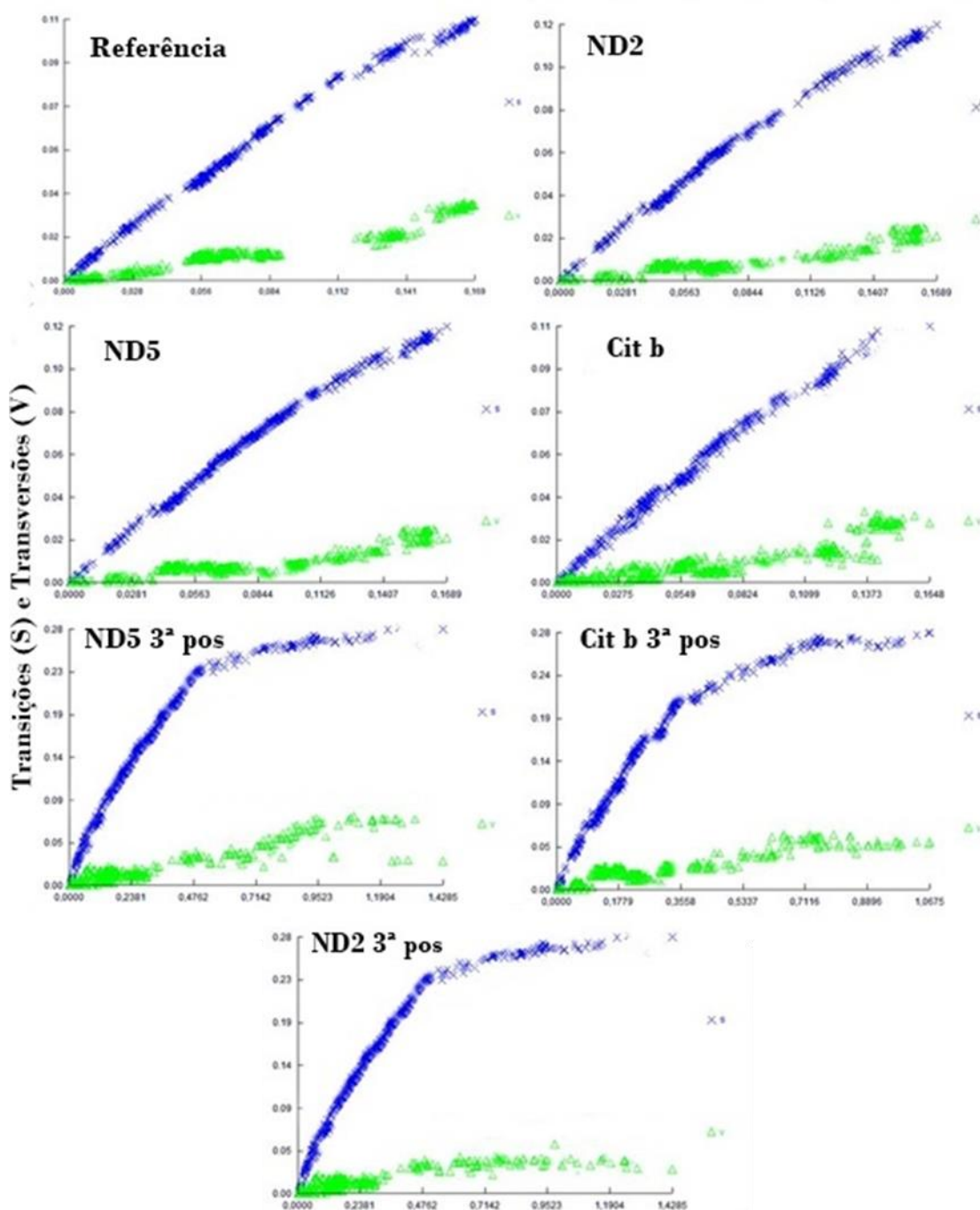
Vencovsky, R., Nass, L. L., Cordeiro, C. M. T., & Ferreira, M. A. J. D. F. (2007). Amostragem em recursos genéticos vegetais. **Recursos genéticos vegetais**.

Vogliotti, A. (2003) História Natural de *Mazama Bororo* (Artiodactyla; Cervidae) Através De Etnozoologia, Monitoramento Fotográfico E Rádio-Telemetria (**Doctoral Dissertation**, Universidade De São Paulo), 113p.

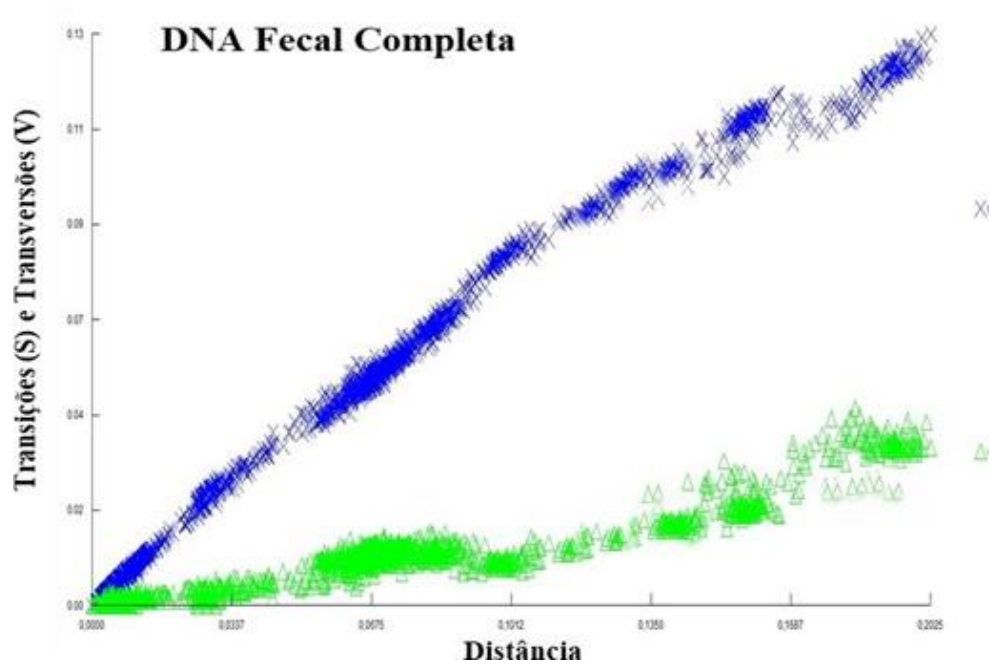
- Webb, S. D. (1985). Late Cenozoic Mammal Dispersals Between The Americas. *The Great American Biotic Interchange*, 357-386.
- Webb, S. D., Vrba, E. S., Schaller, G. B. (2000) Evolutionary History Of New World Cervidae. **Antelopes, Deer, And Relatives: Fossil Record, Behavioral Ecology, Systematics, And Conservation**, P.38-64.
- Weckerly, F. W. (1998). Sexual-size dimorphism: influence of mass and mating systems in the most dimorphic mammals. *Journal of Mammalogy*, 79(1), 33-52.
- Wenink, P. W., Baker, A. J., Rösner, H. U., Tilanus, M. G.. (1996) Global Mitochondrial Dna Phylogeography Of Holarctic Breeding Dunlins (*Calidris Alpina*). **Evolution**, 50(1), 318-330.
- Werneck, F. P., Costa, G. C., Colli, G. R., Prado, D. E., & Sites Jr, J. W. (2011). Revisiting the historical distribution of Seasonally Dry Tropical Forests: new insights based on palaeodistribution modelling and palynological evidence. **Global Ecology and Biogeography**, 20(2), 272-288.
- Wolverton, Steve et al. (2009) Conformation To Bergmann's Rule In White-Tailed Deer Can Be Explained By Food Availability. **The American Midland Naturalist**, V. 162, N. 2, P. 403-417.
- Woodburne, M. O. (2010) The Great American Biotic Interchange: Dispersals, Tectonics, Climate, Sea Level And Holding Pens. **Journal Of Mammalian Evolution**, 17(4), 245-264.
- Wurster, D. H., & Benirschke, K. (1968). Chromosome studies in the superfamily Bovoidea. **Chromosoma**, 25(2), 152-171.
- Yang, F; Carter, N. P.; Shi, L.; Ferguson-Smith, M. A. (1995) A Comparative Study of Karyotypes Of Muntjacs By Chromosome Painting. **Chromosoma**, Berlin, V.103, P.642-652.
- Zanetti, E. S.; Munerato, M. S.; Cursino, M. S.; Duarte, J. M. B. (2014) Comparing Two Different Superovulation Protocols on Ovarian Activity And Fecal Glucocorticoid Levels In The Brown Brocket Deer (*Mazama Gouazoubira*). *Reproductive Biology And Endocrinology*, V. 12, P. 1-24.
- Zink, R. M.; Remsen Jr, J. V. **Evolutionary Processes And Patterns Of Geographic Variation In Birds**. 1986.
- Zurano Jp, Magalhães Fm, Asato Ae, Silva G, Bidau Cj, Mesquita Do, Costa Gc. (2019) Cetartiodactyla: Updating A Time-Calibrated Molecular Phylogeny. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 133:256–262.
- Xia X (2018) DAMBE7: new and improved tools for data analysis in molecular biology and evolution. *Molecular Biology and Evolution* 35(6):1550-1552.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A**  
**ANÁLISE DE SATURAÇÃO POR SUBSTITUIÇÃO**



**Figura 1A.** Gráfico de saturação por substituição. Transições (S, em azul) e transversões (V, em verde) em função da distância genética, calculada par-a-par através do modelo TN93. A análise foi realizada para 18 sequências de cervídeos das matrizes de referência completa (4001 pb), ND2 (1140 pb), ND5 (1820 pb) e Cit-b (1141 pb). E também, na 3ª posição do códon dos genes Cit-b (488 pb) e ND5 (393 pb) e ND2 (238pb).



**Figura 2A.** Gráfico de saturação por substituição. Transições (S, em azul) e transversões (V, em verde) em função da distância genética, calculada par-a-par através do modelo TN93, para 53 sequências de cervídeos da matriz de DNA fecal completa (1179 pb).

## APÊNDICE B

**Tabela 1B.** Lista das localidades amostradas com pontos de georeferenciamento.

Ecorregião	ID	UC	Latitude	Longitude
<b>Depressão Sertaneja Meridional</b>	4	CS04	41°6'50.26" W	13°55'5.08" S
	6	CS06	41°6'43.04" W	13°56'8.85" S
	83	PEMP83	37°59'24.33"W	9°33'24.25"S
	84	PEMP84	37°59'27.43"W	9°33'56.32"S
	102	PNC102	37°59'1.92"W	9°34'10.95"S
	108	PNC108	38°18'13.34"W	7°53'36.81"S
	35	MNSF35	38°18'31.56"W	7°53'1.00"S
	39	MNSF39	37°20'38.19"W	8°30'59.83"S
	40	MNSF40	37°19'52.26"W	8°31'16.04"S
	<b>Complexo Chapada Diamantina</b>	23	ASO23	40°29'31.09"W
24		ASO24	40°29'29.31"W	12°19'38.01"S
27		ASO27	40°29'26.46" W	12°19'31.18" S
30		ASO30	40°28'57.23"W	12°20'1.88" S
31		ASO31	40°29'17.49"W	12°20'32.76" S
<b>Raso da Catarina</b>	41	EERC41	38°27'51.98"W	9°40'3.20"S
	45	EERC45	38°28'7.85"W	9°39'25.03"S
	48	EERC48	38°28'53.02"W	9°39'2.40"S
	52	EERC52	38°29'34.88"W	9°38'53.55"S
	56	EERC56	38°29'45.44"W	9°48'51.40"S
<b>Complexo Ibiapaba-Apodi</b>	160	FNAr160	39°31'9.27"W	7°19'33.25"S
	215	PNSC215	42°36'27.79"W	8°48'1.21"S
	221	PNSC221	42°32'35.23"W	8°50'12.75"S
	225	PNSC225	42°42'46.85"W	8°51'52.16"S

Continua...

UC's	
CS	Floresta Nacional Contendas do Sincorá-BA
PEMP	Parque Estadual Mata da Pimenteira-PE
PNC	ParNa do Catimbau-PE
MNSF	MoNa do São Francisco-SE
ASO	ARIE Serra do Orobó-BA
EERC	EE Raso da Catarina-BA
FNN	FloNa de Negreiros-PE
FNAr	FloNa do Araripe-CE
PNSC	ParNa Serra da Capivara-PI
SOP	Seridó Oriental Paraibano-PB
FNA	FloNa de Açú-RN
PNFF	ParNa Furna Feia-RN
EEC	EE do Castanhão-CE
EEA	EE de Aiuaba-CE



Continuação...

<b>Ecorregião</b>	<b>ID</b>	<b>UC</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
<b>Planalto da Borborema</b>	111	SOP111	36°24'10.30"W	6°43'57.18"S
	112	SOP112	36°24'5.44"W	6°43'47.51"S
	113	SOP113	36°27'37.64"W	6°39'23.34"S
	114	SOP114	36°25'59.17"W	6°42'41.48"S
	117	SOP117	36°25'49.94"W	6°42'34.00"S
<b>Depressão Sertaneja Setentrional</b>	66	FNN66	39°24'11.99"W	7°58'22.48"S
	71	FNN77	39°25'15.31"W	7°58'20.18"S
	127	FNA127	36°57'26.18"W	5°33'39.72"S
	144	PNFF144	37°30'20.50"W	5° 2'18.04"S
	148	EEC148	38°22'13.44"W	5°28'37.94"S
	155	EEC155	38°23'23.96"W	5°31'1.02"S
	180	EEA180	40°10'34.30"W	6°36'18.88"S

Fim.

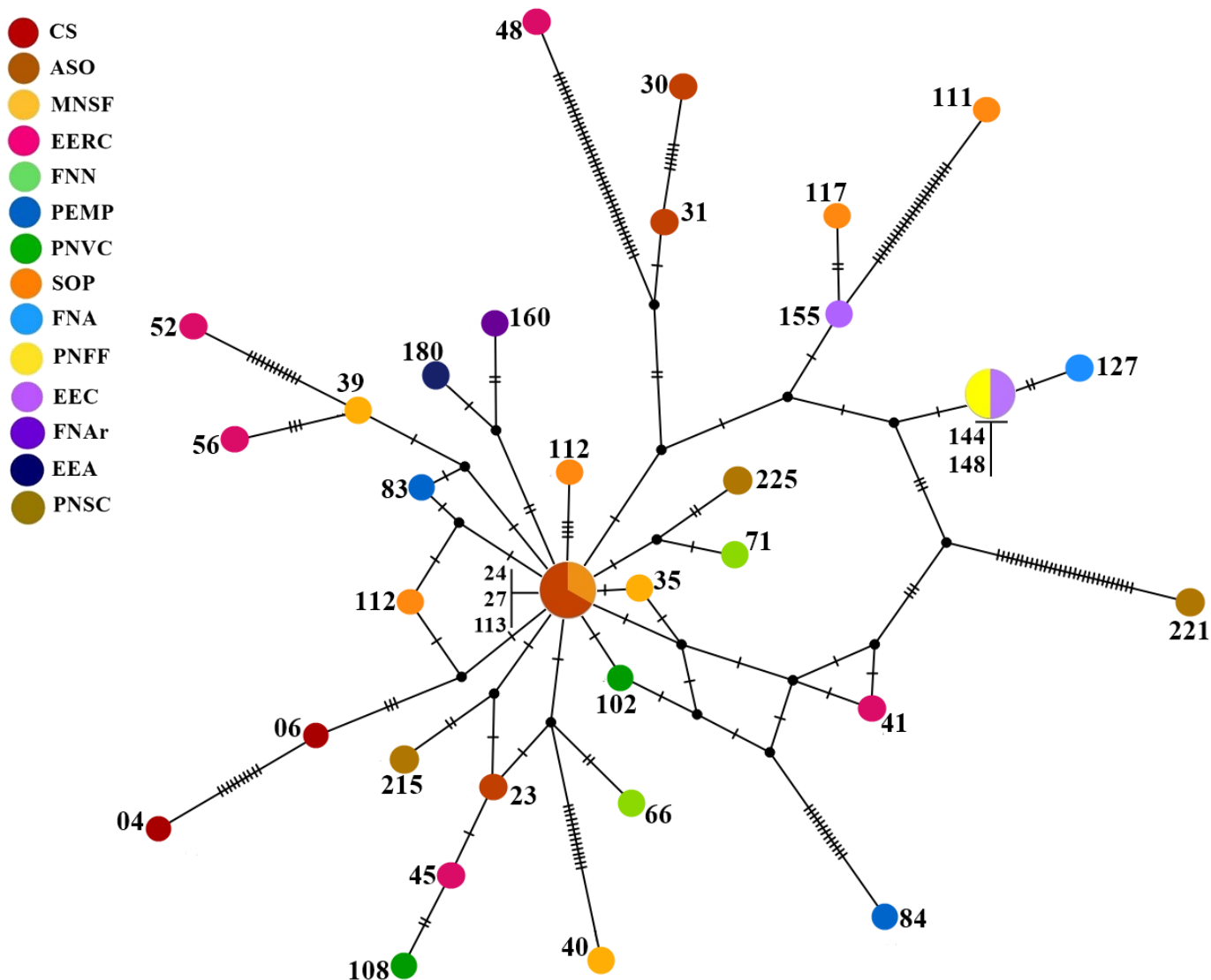
## APÊNDICE C

### REDES HAPLOTÍPICAS POR GENE ANALISADO

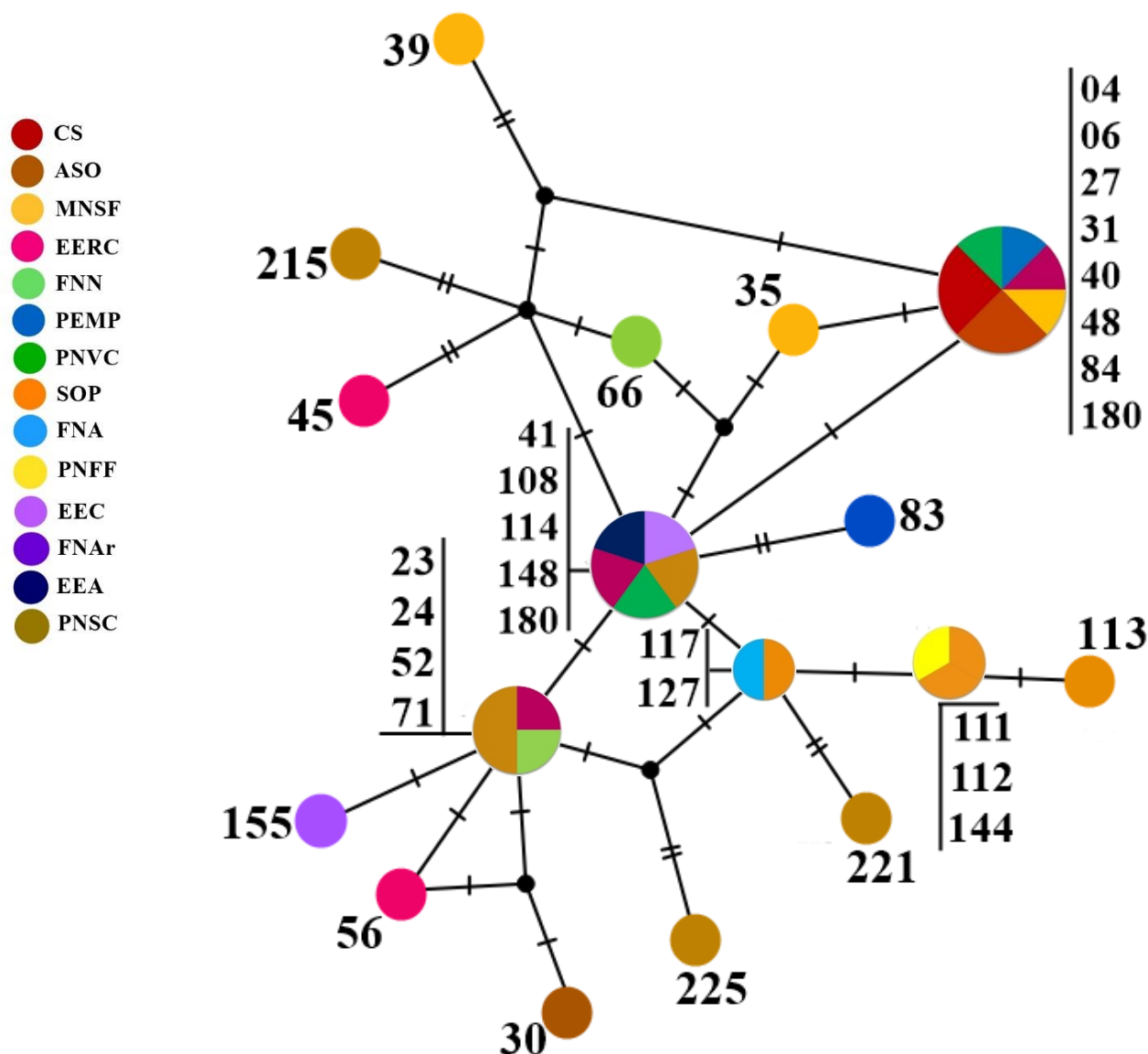
Para as redes dos genes separados foram recuperados grupamentos formados por haplótipos compartilhados na distribuição de amostragem. Na rede haplotípica os círculos maiores representam o grupamento mais diversos. Foram identificados 17 haplótipos, com 5 variáveis para o ND2, 27 haplótipos, com 4 variáveis, para o ND5 e 32 haplótipos, 2 variáveis, para o Cit b. Na tabela x, os grupamentos com maiores variabilidades amostrais são detalhados (Apêndice B). Os outros haplótipos de cada gene são haplótipos únicos por amostra.

**Tabela 1C.** Relação entre os haplótipos compartilhados nas análises de cada fragmento de gene e suas ecoregiões provenientes. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

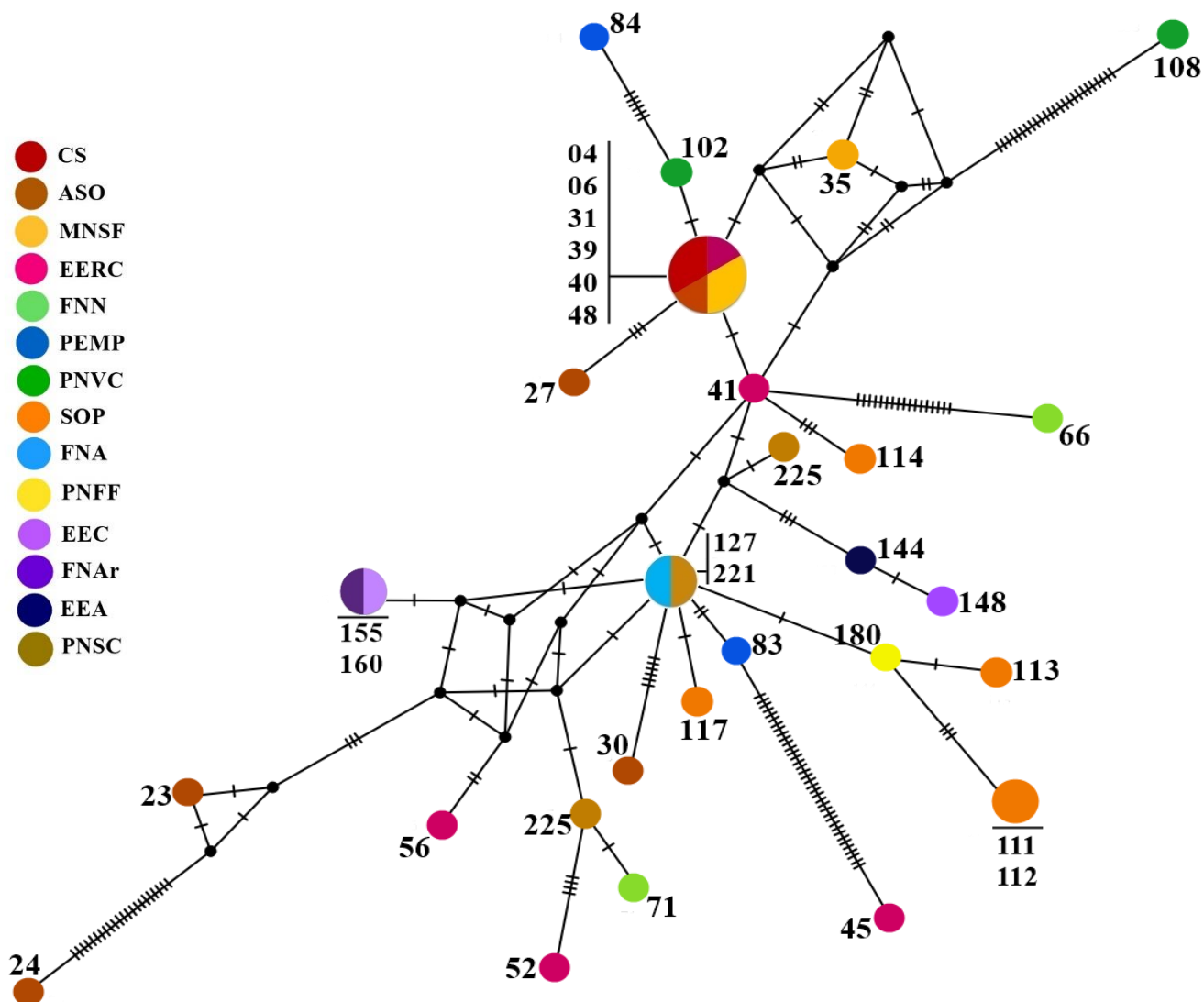
Gene	Nº Hap	Nº Hap. Variáveis	H <sub>d</sub>	H	Grupamento	Pontos de Coleta	Estados
ND2	17	5	0,916	1	04, 06, 27, 31, 40, 48, 84, 102	CS, ASO, MNSF, EERC, PEMP, PNVC	BA, SE, PE
				2	41, 108, 114, 148, 180	MNSF, PNVC, ASO, EEC, EEA	BA, PE, PB, CE
				3	111, 112, 144	SOP, PNFF	PB, RN
				4	117, 127	SOP, FNA	PB, RN
				5	155, 160	EEC, FNAr	CE
ND5	27	4	0,969	1	04, 06, 31, 39, 40, 48	CS, ASO, MNSF, EERC	BA, SE
				2	111, 112	SOP	PB
				3	127, 221	FNA, PNSC	RN, PI
				4	155, 160	EEC, FNAr	CE
Cit b	32	2	0,993	1	24, 27, 113	ASO, SOP,	BA, PB
				2	144, 148	PNFF, EEC	RN, CE



**Figura 1C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial Citocromo b das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os traços nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. Os pontos pretos são os *median vector* que são representações de haplótipos intermediários e faltantes à rede gerada. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Furna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

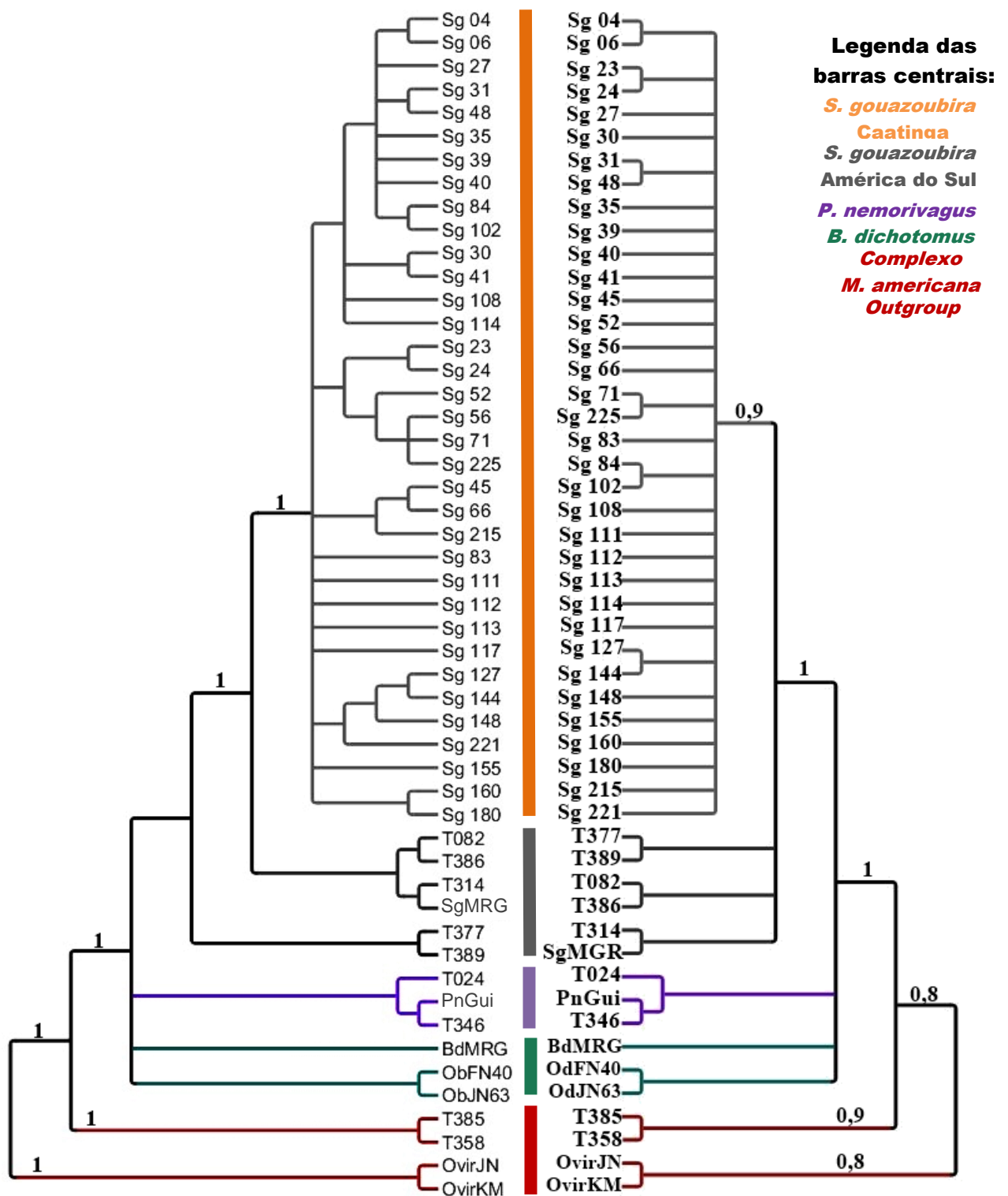


**Figura 2C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial ND2 das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os traços nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. Os pontos pretos são os *median vector* que são representações de haplótipos intermediários e faltantes à rede gerada. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Fuma Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.



**Figura 3C.** Rede de haplótipos recuperada das sequências nucleotídicas do fragmento do gene mitocondrial ND5 das amostras de *S. gouazoubira* analisadas. Os traços nos ramos indicam passos mutacionais entre os haplótipos relacionados. Os pontos pretos são os *median vector* que são representações de haplótipos intermediários e faltantes à rede gerada. CS: Flona do Sincorá; ASO: ARIE Serra do Orobó; MNSF: MoNa do Rio São Francisco; EERC: Esec Raso da Catarina; FNN: Flona de Negreiros; PEMP: Parque Estadual Mata da Pimenteira; PNVC: Parna Vale do Catimbau; SOP: Seridó Ocidental Paraibano; FNA: Flona de Açú; Parna Forna Feia; EEC: Estação Ecológica do Castanhão; FNAr: Flona do Araripe; EEA: Esec de Aiuaba; PNSC: Parna da Serra da Capivara.

## APÊNDICE D



**Figura 1D.** Hipóteses filogenéticas geradas a partir de seqüências concatenadas da matriz completa de 51 amostras (referência e fecal) representação da tribo Odocoileini (Capreolinae: Cervidae). Do lado esquerdo a análise gerada por inferência bayesiana no programa Mr. Bayes, com valores de suporte da probabilidade posterior (PP), e do lado direito a análise de Máxima Verosimilhança feita pelo programa Paup, com valores de suporte de bootstrap. O modelo evolutivo definido para ambas as reconstruções foi o GTR+G, indicado pelo MrModelTest do programa Paup, de acordo com o menor valor de Akaike information criterion (AIC).