

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS E VETERINARIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLOGICA, CITOGENÉTICA E
MOLECULAR DE *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) A
PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL**

Jorge Alfonso Morales Donoso

Médico Veterinário

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRARIAS E VETERINARIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLOGICA, CITOGENÉTICA E
MOLECULAR DE *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) A
PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL**

Jorge Alfonso Morales Donoso

Orientador: Prof. Dr. Jose Mauricio Barbanti Duarte

**Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre em
Genética e Melhoramento Animal**

2017

M828c Morales Donoso, Jorge Alfonso
Caracterização morfológica, citogenética e molecular de *Mazama nemorivaga* (Cuvier, 1817) a partir de um topótipo atual / Jorge Alfonso Morales Donoso. – – Jaboticabal, 2017
viii, 80 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Jose Mauricio Barbanti Duarte
Banca examinadora: Diogo Cavalcanti Cabral de Mello, Estevam G. Lux Hoppe
Bibliografia

1. Revisão taxonômica. 2. Veado-roxo. 3. Citogenética clássica-molecular. 4. DNA mitocondrial. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.111.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

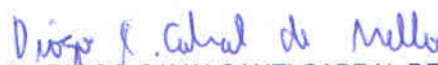
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) A PARTIR DE UM TOPÓTIPO ATUAL

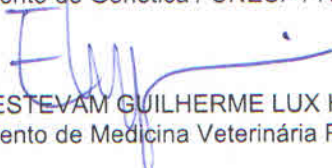
AUTOR: JORGE ALFONSO MORALES DONOSO

ORIENTADOR: JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em GENÉTICA E MELHORAMENTO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. DIOGO CAVALCANTI CABRAL DE MELLO
Departamento de Genética / UNESP / Rio Claro/SP


Prof. Dr. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de abril de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JORGE ALFONOSO MORALES DONOSO – Nascido em 11 de junho de 1984, natural de Chuquicamata, Chile, Médico Veterinário, formado no ano 2012 pela Universidade Santo Tomas, Santiago, Chile. Durante a graduação fez estágio no Laboratório de Morfologia, programa de Anatomia e Biologia do Desenvolvimento da Faculdade de Medicina da Universidade do Chile, Santiago. Realizou uma especialização em Ciências Ambientais (2007) na Universidade Santo Tomas, Santiago. Durante o período de agosto (2014) a março (2015) recebeu bolsa de aperfeiçoamento técnico da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP. Em março de 2015 iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento Animal (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus Jaboticabal) sob a orientação do Prof. Dr. Jose Mauricio Barbanti Duarte. O aluno recebeu financiamento para o mestrado pela coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

É ilusório imaginar que o homem possa dominar e controlar a natureza,
se ele não foi ainda capaz de controlar e enxergar a sua própria natureza.

JUNG, CARL GUSTAV.

*Dedicado a meu avó **Jorge Morales Olivares** (in memorian)*

AGRADECIMENTOS

Agradecer a **Deus** pela vida, e agradecer o caminho que a vida têm me mostrado.

Ao professor **Jose Mauricio Barbanti Duarte**, por sempre ter confiado em mim e me permitir realizar um sonho. Por todas as orientações e conselhos para ser um bom profissional. E pela sua amizade.

A minha companheira, **Cristiane**, por compartilhar em todos os momentos, pelas suas alegrias que hoje são minhas alegrias. E também por ser sempre o meu apoio. O desafio do mestrado foi simplificado pela sua presença na minha vida. Te Amo muito.

A minha família, **Nelson**, **Brunilda**, e minha irmã **Veronica** junto com seu marido **Jaime** e suas filhas **Julieta** e **Josefa**, que sempre estiveram junto a mim, quero expressar aqui o meu imenso agradecimento por tudo quanto fizeram para que hoje eu esteja realizando um sonho.

A meus avós **Jorge**, **Alfonso**, **Leontina** e **Adriana**, por terem construído um exemplo de valentia e coragem, por me ensinarem a amar o mundo e aprender a conhece-lo

A meus **tios** e **primos** que sempre estão na torcida para a realização de um futuro melhor para todos nós.

A toda a equipe do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (**NUPECCE**), que são família quando estamos fora de casa.

A **João Airton Boer**, quero agradecer por todo o apoio na realização da dissertação e por ser amigo sempre.

A **Iara Maluf Tomazella**, por ter sempre à disposição a ensinar, pela sua amizade e contribuição no trabalho.

A **Marcio**, **Pedro**, **Douglas**, **Chico**, pela parceria e amizade, pelos trabalhos de campo tantos feitos e tantos muitos por fazer.

Vitor e Karen, pela amizade e bons momentos.

Republica Misto-Quente por ter sido sempre um apoio, em especial a **Denise**, que por sempre estar aí quando precisamos de alguma coisa.

Aos **Nupeccianos, David, Claudia, Yuki, Luciana, Rosana, Vinicius, Mar, Carol, Eluzai, Mayara, Gabi, Duca, Gaffa**, Nupeciano uma vez, Nupeciano sempre !!!

A **todos os brasileiros** parabeniza-los pelo belo país e agradecer através deles a bolsa com a qual foi desenvolvido o trabalho. Espero retribuir a confiança com trabalho para construir cada vez um país melhor.

Um agradecimento especial a todos que fazem parte da Universidade Estadual Paulista **FCAV/ UNESP**, onde fiz grandes amigos.

Ao **Fuboca** e ao **Fidel Castrado**, por estarem sempre aí, firmes e fortes !!

Muito Obrigado!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABRAVIAÇÕES	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABELAS	VI
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO LITERATURA	2
2.1 Família Cervidae	2
2.2 Gênero <i>Mazama</i>	4
2.3 <i>Mazama nemorivaga</i>	6
III. OBJETIVOS	14
IV. MATERIAL E METODOS	15
4.1 Coleta do animal e amostras	15
4.2 Caracterização morfológica	16
4.2.1 Morfologia tradicional	16
4.2.1.1 Medidas corporais	16
4.2.1.2 Morfologia externa	17
4.2.1.3 Medidas cranianas	18
4.2.1.4 Medidas corporais	18
4.2.2 Morfologia geométrica	18
4.3 Caracterização Citogenética	19
4.3.1 Cultivo celular	19
4.3.2 Biometria Cromossômica	20
4.3.3 Citogenética clássica	21
4.3.3.1 Bandas G	21
4.3.3.2 Bandas C	21

4.3.3.3 Coloração Ag-RON	21
4.3.4 Citogenética Molecular	22
4.3.4.1 FISH telomérica	22
4.4 Genética Molecular	23
4.4.1 Amostras	24
4.4.2 Extração DNA	24
4.4.3 Quantificação DNA	24
4.4.4 Amplificação e Sequenciamento de genes mitocôndrias	24
4.4.5 Análises filogenéticas e construção de árvores	25
V. RESULTADOS	27
5.1 Caracterização Morfológica	27
5.1.1 Morfologia Tradicional	27
5.1.1.1 Descrição da pelagem	27
5.1.1.2 Comparação crânio-mandibular com holótipos de subespécies	32
5.1.1.3 Comparação de medidas biométricas	36
5.1.1.4 Análises de Cluster	39
5.1.2 Morfologia Geométrica	40
5.2 Caracterização citogenética	41
5.2.1 Citogenética clássica	41
5.2.2 FISH telomérica	45
5.3 Caracterização Molecular	46
VI. DISCUSSÃO	51
VII. CONCLUSÕES	56
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57

LISTA DE ABREVIACÕES

2n – Número diploide

Ba(OH)₂ - Hidróxido de Bário

Cm.- Centímetros

COI – Citocromo oxidasa I

CR – Comprimento relativo de braços cromossômicos

Cyt B – Citocromo b

IUCN- Internacional Union for Conservation of Nature

DNEM –Meio essencial mínimo modificado de Dulbecco

G – Gramas

KCl – Cloreto de potássio

Kg- Quilogramas

KH₂PO₄ – Fosfato monopotásico

Lt – Litro

M – Molar

Mg – Miligrama

mL – Mililitro

M.S.N.M- Metros sobre o nível do mar

Na₂HPO₄ - Fosfato dissódico

NaCl – Cloreto de sódio

NCBI – National Center for Biotechnology Information

NF – Número fundamental de braços cromossômicos

RB – Razão de braços cromossômicos

Pb. Pares de bases nucleotídicas

μL – Microlitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica das localidades tipo das subespécies de <i>Mazama nemorivaga</i>	8
Figura 2. Medidas lineares usadas na estatística multivariada, da comparação do Topótipo com holótipos de subespécies	20
Figura 3. Topótipo coletado na Guiana Francesa, vista lateral	32
Figura 4. Topótipo coletado na Guiana Francesa, vista dorsal	32
Figura 5. Topótipo coletado na Guiana Francesa, vista ventral	33
Figura 6. Topótipo coletado na Guiana Francesa, detalhes da cabeça	33
Figura 7. Pele aberta taxidermizada do topótipo de <i>Mazama nemorivaga</i>	34
Figura 8. Análise de Componentes Principais (PCA) para as subespécies de <i>M. nemorivaga</i>	36
Figura 9. Análise de Componentes Principais (PCA) para as medidas biométricas de <i>M. nemorivaga</i>	38
Figura 10. Dendrograma de análises de cluster realizado com medidas morfológicas, comparando o Topótipo com animais usados em projetos com animais vivos	39
Figura 11. Diagrama de dispersão XY, ilustrando os 89 landmark cranianos em uma vista dorsal	40
Figura 12. Cariótipo sob coloração convencional Giemsa	41
Figura 13. Cariótipo sob bandeamento G	42

Figura 14. Cariótipo sob bandeamento C	43
Figura 15. Cariótipo de <i>M. nemorivaga</i> sob impregnação com nitrato de prata	44
Figura 16. Hibridização <i>in situ</i> telomérica em metáfases pertencente ao topotipo de <i>Mazama nemorivaga</i>	45
Figura 17. Arvore filogenética do fragmento do gene mitocondrial Cyt-B	47
Figura 18. Árvore filogenética do gene mitocondrial Cyt-B	48
Figura 19. Árvore filogenética do gene mitocondrial COI I	49
Figura 20. Árvore filogenética do gene mitocondrial D-loop	49
Figura 21. Árvore filogenética utilizando os marcadores mitocôndrias Cyt B, COI I, D-loop.	50
Figura 21. Árvore filogenética do gene mitocondrial Cyt-B, junto com o agrupamento em relação a presença ou ausência de sistema sexual múltiplo nas populações.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Medidas cranianas do topótipo de <i>Mazama nemorivaga</i>	18
Tabela 2. Medidas cranianas de espécimes das subespécies de <i>M. nemorivaga</i> .	19
Tabela 3. Características gerais dos marcadores moleculares usados neste estudo	27.
Tabela 4. Resultado da Análises de Componente Principal (PCA), baseado em medidas de holótipos de subespécies.	35
Tabela 5. Análise de componentes principais com medidas morfológicas	37

-

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) A PARTIR DE UM TOPOTIPO ATUAL

RESUMO- A espécie *M. nemorivaga* corresponde a uma espécie de veado cinza que ocupa a região Amazônica. Com base em estudos anteriores, a atual classificação taxonômica da espécie apresenta inconsistências, que sugerem a presença de mais de uma espécie dentro do que hoje é classificado como *M. nemorivaga*. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo contribuir com a taxonomia do gênero *Mazama*, mediante a coleta de um exemplar em sua localidade tipo (Caïena, Guiana Francesa), caracterizando-o morfológica, citogenética e molecularmente, permitindo a comparação da espécie em estudo com outros espécimes utilizados em publicações, a fim de conhecer diferenças entre eles e revisar a taxonomia da espécie. Para tanto, foi coletado um exemplar na localidade tipo da espécie (Guiana Francesa), o qual foi caracterizado por técnicas de morfologia tradicional (medidas crânio-mandibulares, medidas biométricas, coloração da pele), morfologia geométrica, assim como análises citogenéticas (Banda G, Banda C, coloração convencional de Giemsa e coloração Ag-NOR, FISH telomérica) e moleculares (análises filogenéticas de genes mitocôndrias Cyt b de 920 pb, COI I de 658 pb, D-loop 610 pb). Os resultados da caracterização citogenética e molecular, mostraram um claro agrupamento do topótipo de *M. nemorivaga* com exemplares da região do Amapá, constituindo o clado Norte (Guiana Francesa e Amapá). Além disso, sugere-se a existência de três espécies distintas, com base no nível de diferenças em relação ao topótipo da espécie, uma ocorrendo na Amazônia oriental, acima do rio Amazonas (Amapá e Guiana Francesa), outra na Amazônia central (Mato Grosso, Pará e Maranhão) e uma outra na Amazônia ocidental (Acre e Rondônia). Além disso, foi identificada a presença de pelos na região tarsal como um dos caracteres morfológicos que pode ser utilizado na diagnose da espécie em relação aos outros membros do gênero.

Palavras-chave: Revisão taxonômica, veado roxo, citogenética clássica e molecular, DNA mitocondrial.

MORPHOLOGICAL, CYTOGENETICS AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) FROM A CURRENT TOPOTYPE

ABSTRACT-. The species *M. nemorivaga* corresponds to the grey brocket deer that occupies the Amazon region. Based on previous studies, the current taxonomic classification of the species presents inconsistencies, which suggest the presence of more than one species within what is now classified as *M. nemorivaga*. In this way, the present research project aims to contribute with the taxonomy of the *Mazama* genus, by collecting a specimen in its type locality (Cayenne, French Guiana). Characterizing the morphological specimen, Cytogenetic and molecular, allowing the comparison of the species under study with other specimens used in publications, in order to know the differences between them and to review the taxonomy of the species. For this, a specimen was collected in the locality of the species (French Guiana), characterized by traditional morphology techniques. (craniomandibular measurements, biometric measurements, skin coloration), geometric morphology, as well as by cytogenetic analyzes (Band G, C-band, conventional Giemsa staining and Ag-NOR staining, telomeric FISH) and molecular (phylogenetic analyzes of mitochondrial genes Cyt b of 920 bp, IOC I of 658 bp, D-loop 610 bp). The results of the cytogenetic and molecular characterization showed a clear grouping of *M. nemorivaga* topotype along with specimens from the Amapá region, constituting the northern clade (French Guiana and Amapá). In addition, it is suggested the existence of three distinct species, based on differences in relation to the topotype of the species. One occurred in the eastern Amazon, above the Amazon River (Amapá and French Guiana), another in central Amazonia (Mato Grosso, Pará and Maranhão) and another one in western Amazonia (Acre and Rondônia). The presence of hairs in the tarsal region was identified as one of the morphological characters that can be used to diagnose the species in relation to other members of the genus.

Keywords: Taxonomic revision, Amazonian brown brocket deer, Classical and molecular cytogenetic, mitochondrial DNA.

I. INTRODUÇÃO

Inúmeros problemas taxonômicos têm sido encontrados nos Cervídeos do Gênero *Mazama*. Este gênero é considerado um dos casos mais impressionantes e surpreendentes de convergência morfológica entre os mamíferos (GILBERT *et al.*, 2006; DUARTE *et al.*, 2008), permanecendo muitas dúvidas sobre o estado de classificação taxonômica das espécies que compõem o gênero *Mazama*. O número de espécies têm apresentado uma grande variação, e dependendo dos trabalhos envolvendo revisões taxonômicas, o número de espécies válidas para o gênero vai de quatro (CABRERA, 1961) a dez (IUCN, 2017). Suas características diagnósticas principais são o porte corporal médio a pequeno e chifres retos, sem ramificação, em forma de espeto (ROSSI, 2000). Entretanto, o gênero *Mazama* (RAFINESQUE, 1817) apresenta baixos níveis de diferenciação morfológica (GROVES & GRUBB, 1987), os quais não estão correlacionados com a ampla diversidade cariotípica (DUARTE & MERINO, 1997). Sugerindo a existência de um complexo de espécies crípticas no que hoje é denominado *Mazama nemorivaga* (CUVIER, 1817) (FIGUEIREDO, 2014). Recentes trabalhos têm proposto que os *Mazama* cinzas não pertencem ao gênero *Mazama* e inclusive que *M. nemorivaga* não compartilha o mesmo gênero com *M. gouazoubira*. Por outro lado, o próprio *M. nemorivaga* tem sua validade como espécie contestada por alguns autores (REFERENCIAS). Dessa maneira, este trabalho teve o intuito de contribuir com a taxonomia do gênero *Mazama*, mediante a coleta de um exemplar na localidade tipo da espécie (Topótipo), com posterior caracterização morfológica, citogenética e molecular, permitindo assim comparações com indivíduos já analisados em publicações anteriores.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família Cervidae

Entre os mamíferos, a família Cervidae, se destaca por apresentar uma história evolutiva e sistemática pouco compreendida, o que é demonstrado através de diversas mudanças taxonômicas do grupo nos últimos anos (DUARTE & MERINO 1997; GROVES & GRUBB, 1987; GRUBB, 2005; WEBB, 2000). Isso pode ser devida a uma alta fragilidade cromossômica que a família Cervidae possui, o que leva a uma das taxas evolutivas mais altas, verificadas a partir de análises cariotípicas (DUARTE & JORGE, 1996; VARGAS-MUNAR *et al.*, 2010).

Esta composta por um grupo diversificado de artiodáctilos que inclui espécies pequenas como o *Pudu mephistophiles* (De Winton, 1896), com peso corporal de aproximadamente 6 quilos (kg), e espécies de maior tamanho como *Alces alces* (LINNAEUS, 1758), com mais de 600 kg de peso (JANIS, 1987). Atualmente, a família engloba 54 espécies distribuídas amplamente entre América, Europa, Ásia e norte da África. Os animais distribuídos na América Central e do Sul possuem dois padrões morfológicos principais: espécies com menos de 60 cm de altura de cernelha e chifres simples e pontiagudos, representados pelos gêneros *Mazama* e *Pudu*, e espécies de maior estatura, com machos adultos apresentando chifres ramificados, representados pelos gêneros *Odocoileus*, *Hippocamelus*, *Ozotoceros* e *Blastocerus* (EINSERBERG, 2000).

A primeira descrição da família Cervidae foi realizada por Goldfuss (1820), sendo reconhecidas três subfamílias: Cervinae (GOLDFUSS, 1820); Capriolinae (BROOKES, 1828) e Hydropotinae (TROUESSART, 1898). Esta última representada por apenas uma espécie: o veado-d'água chinês (*Hydropotes inermis*) (SWINHOE,

1870). A primeira divisão entre Cervinae e Capriolinae foi realizada por Brookes (1878), baseado em caracteres morfológicos, que sugeriu a separação em duas subfamílias de acordo com o 2º e 5º osso metacarpal. Os metacarpos do 2º e 5º dedo encontram-se parcial ou completamente ausentes em cervídeos. Em algumas espécies o segmento distal do metacarpo está presente e articula com a falange, enquanto os rudimentares proximais estão ausentes, e esta condição é denominada como *telemetacarpal*. A ausência do segmento distal do metacarpo é a condição *Plesiometacarpal*. Estas condições foram utilizadas para estabelecer a separação entre Cervinae (plesiometacarpalia, cervídeos do Velho Mundo) e Capreolinae (telemetacarpalia, Novo Mundo). Posteriormente, essa primeira classificação com base em caracteres morfológicos, foi corroborada por Gilbert *et al.*, (2006), em um estudo filogenético.

A sistemática dentro da subfamília Cervinae encontra-se amplamente resolvida, enquanto que a subfamília Capreolinae apresenta uma sistemática mais controversa (PITRA *et al.*, 2004; GILBERT *et al.*, 2006; DUARTE *et al.*, 2008; HASSANIN *et al.*, 2012; CROITOR, 2014). A subfamília Capreolinae é composta por 9 gêneros e 36 espécies (WILSON & REEDER, 2005). Groves & Grubb (1987) propuseram agrupar em apenas uma tribo os gêneros *Pudu*, *Mazama*, *Hippocamelus*, *Blastocerus*, *Ozotoceros*, *Odocoileus* e *Rangifer*, sendo denominada Odocoileini. Posteriormente, Webb (2000) separou os cervídeos do Sul da América em duas tribos: Rangiferini e Odocoileini. A tribo Rangiferini agrupava somente o gênero *Rangifer* e os Sul-Americanos *Hippocamelus* e *Pudu*. E a tribo Odocoileini, incorporava os gêneros *Odocoileus*, *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Atualmente o gênero *Rangifer* constitui-se como uma tribo separada, tribo Rangiferini, e a dos Sul-

Americanos Odocoileini, é constituída pelos gêneros: *Hippocamelus*, *Odocoileus*, *Blastocerus*, *Mazama*, *Ozotoceros* e *Pudu* (HECKERBERG et al., 2016).

Vários estudos concordaram em dois subclados bem consistentes dentro da tribo Odocoileini, e a separação do gênero *Mazama* dentre estes dois clados (GILBERT et al., 2006; DUARTE et al., 2008; HASSANIN et al., 2012). O primeiro subclado é composto pelos gêneros *Hippocamelus* e *Ozotoceros*, e as espécies *Blastocerus dichotomus*, *Mazama gouazoubira*, *Mazama chunyi*, *Mazama nemorivaga* e *Pudu puda*, enquanto o segundo subclado agrupa o gênero *Odocoileus*, e as espécies: *Mazama americana*, *Mazama bororo*, *Mazama nana*, *Mazama temama*, *Mazama pandora*, *Mazama rufina* e *Mazama bricenii*. Baseados nestes resultados, foram estabelecidas duas novas subtribos para a tribo Odocoileini. O primeiro clado recebe o nome de subtribo Blastocerina e o segundo clado, denominado Odocoileina (HECKERBERG et al., 2016).

2.2 Gênero *Mazama*

Entre os cervídeos neotropicais, o gênero *Mazama* é o que apresenta maior distribuição, ocupando quase a totalidade das regiões tropicais e subtropicais entre o centro sul do México (Estado de Veracruz) ao norte da Argentina (CZERNAY, 1987; ROSSI, 2000). Este gênero ocupa uma ampla variedade de habitats, incluindo florestas montanhosas, florestas tropicais chuvosas, florestas tropicais secas e savanas arbóreas, em margens altitudinais entre o nível do mar até acima dos 4000 m.s.n.m. (ALLEN, 1915; EISENBERG, 1989; DUARTE & GONZALEZ, 2010). As espécies do gênero possuem hábito solitário, sendo suas características diagnósticas

principais o tamanho corporal médio ou pequeno e os chifres simples, curtos e pontiagudos nos machos.

O gênero *Mazama* apresenta baixos níveis de diferenciação morfológica, os quais não estão correlacionados com a ampla diversidade cariotípica entre as espécies do gênero (GROVES & GRUBB, 1987; DUARTE & MERINO, 1997), razão pela qual a taxonomia do gênero *Mazama* tem se apresentado confusa (MERINO & ROSSI, 2010), sendo um táxon bastante controverso (EISENBERG, 2000). Até 1850 eram reconhecidas somente duas espécies de *Mazama*, os veados vermelhos e os cinzas. Em 1878, Sir Victor Brooke reconhece seis espécies, quatro delas bem diferenciadas, já em 1898, Lydekker identificou sete espécies. Allen (1915) reconheceu 18 espécies de *Mazama*; enquanto Tate (1939) realizou a primeira separação dos *Mazama* do Centro e Sul América, excluindo os *Mazama tema* e *M. pandora* do grupo do *Mazama americana*. Cabrera (1961) reduziu o número a quatro espécies (*M. americana*, *M. chunyi*, *M. gouazoubira* e *M. rufina*), descrevendo 20 subespécies agrupadas dentro delas.

Posteriormente através de análises citogenéticas e pelo fato de apresentar cariótipos muito diferentes, Jorge & Benirschke, (1977) indicaram pela primeira vez que *M. temama* poderia se tratar de uma espécie diferente de *M. americana*. Em 1987, Czernay atualiza a revisão do gênero *Mazama* e reconhece seis espécies sendo quatro delas de veados vermelhos (*M. americana*, *M. rufina*, *M. bricenii*, *M. nana*) e duas de veados cinzas (*M. gouazoubira* e *M. chunyi*) (CZERNAY 1987). Duarte (1996) descreveu *Mazama bororo* fundamentado em diferenças cariotípicas. Por sua vez, Medillin, Gardner & Aranda (1998) elevaram *Mazama pandora* ao nível de espécie baseados em crânios e peles, com o qual aumentou o número de espécies para dez:

M. rufina, *M. pandora*, *M. bricenii*, *M. chunyi*, *M. americana*, *M. gouazoubira*, *M. nana*, *M. temama*, *M. nemorivaga* e *M. bororo* (IUCN 2017, GONZALEZ *et al.*, 2009; MATTIOLI, 2011; MERINO & ROSSI, 2010

As espécies do gênero apresentam similaridades fenotípicas, o qual faz a sua discriminação quase impossível. Entretanto, os membros do gênero dividem-se em dois grupos com base na coloração da pelagem: os veados vermelhos (*M. americana*, *M. nana*, *M. bororo*, *M. temama*, *M. rufina*, *M. bricenii*) e os veados marrons ou cinzas (*M. gouazoubira*, *M. pandora*, *M. chunyi* e *M. nemorivaga*) (DUARTE, 2008; DUARTE & GONZALES, 2010).

2.3 *Mazama nemorivaga*

Mazama nemorivaga foi descrita pela primeira vez como *Cervus nemorivagus* por Cuvier (1817), a partir de exemplares armazenados no museu Nacional de História Natural de Paris. Esta primeira descrição da espécie permitiu a identificação de caracteres diagnósticos de *M. nemorivaga*, em relação às outras duas espécies da família Cervidae registradas na Guiana Francesa, *M. americana* e *Odocoileus virginianus*. Entretanto, a localidade tipo de *M. nemorivaga* foi descrita a partir de animais coletados pelos Srs. Poiteau e Martin em Caiena capital da Guiana Francesa. Cuvier (1821) estabeleceu a localidade tipo da espécie e complementa a sua descrição, como sendo um animal de chifres em forma de adaga (retos), de cor parda, com a parte ventral do pescoço, lábios e cauda brancos, membros anteriores e região peitoral até a coxa de cor branca com tonalidade canela (CUVIER, 1817; CUVIER, 1821). Este holótipo pertence atualmente ao Museu Nacional de História Natural de

Paris (BROOKE, 1878), segundo comunicação pessoal com a Sra. Cécile Callou, curadora da coleção de mamíferos (Anexo 1)

Atualmente, a descrição de *M. nemorivaga* corresponde a um cervídeo de pequeno porte, com peso em torno de 15 kg, estatura média de 48 cm de altura, coloração acinzentada, orelhas pequenas e mufla grande (ROSSI & DUARTE 2008). Hoje em dia, *M. nemorivaga* é classificada pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) como não prioritária ou de menor preocupação (LC).

A sua distribuição geográfica inclui os territórios da Guiana, Guiana Francesa, Suriname, Venezuela, Colômbia, Panamá, Equador, Peru, Brasil e, provavelmente, Bolívia (ROSSI *et al.*, 2010). Foi reconstruída a partir de espécimes encontrados nos museus e observações de campo (ROSSI *et al.*, 2010), entretanto, é difícil especular sobre sua distribuição atual e como a espécie responde a mudanças na vegetação e fragmentação de habitat.

Mazama nemorivaga é reconhecida como sendo a espécie de *Mazama* cinza que ocupa a região Amazônica. (ROSSI & DUARTE 2008; ROSSI *et al.*, 2010). No Brasil ocorre nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Amapá, Acre e Roraima, no norte do estado do Mato Grosso e noroeste do Maranhão (ROSSI, 2000).

Até o presente momento, já foram relatadas cerca de 21 sinonímias para *M. nemorivaga* e outras 13 que ainda apresentam identificações duvidosas (ROSSI, 2010). Além disso, existem sete descrições de subespécies de *M. nemorivaga*, que também têm sido referidas como subespécies de *M. gouazoubira* (Cabrera 1961; Czernay 1987, Hershkovitz 1951, Medellín *et al.* 1998; Pinder & Leeuwenberg 1997). Elas são *M. americana citus* (Osgood, 1912), *M. gouazoubira medemi* (Barriga-Bonilla,

1966), *M. murelia* (ALLEN, 1915), *M. permira* (Kellogg, 1946), *M. rondoni* (Miranda-Ribeiro, 1914), *M. cita sanctaemartae* (Allen, 1915) e *Cervus tschudii* (Wagner, 1855) (Figura 1).

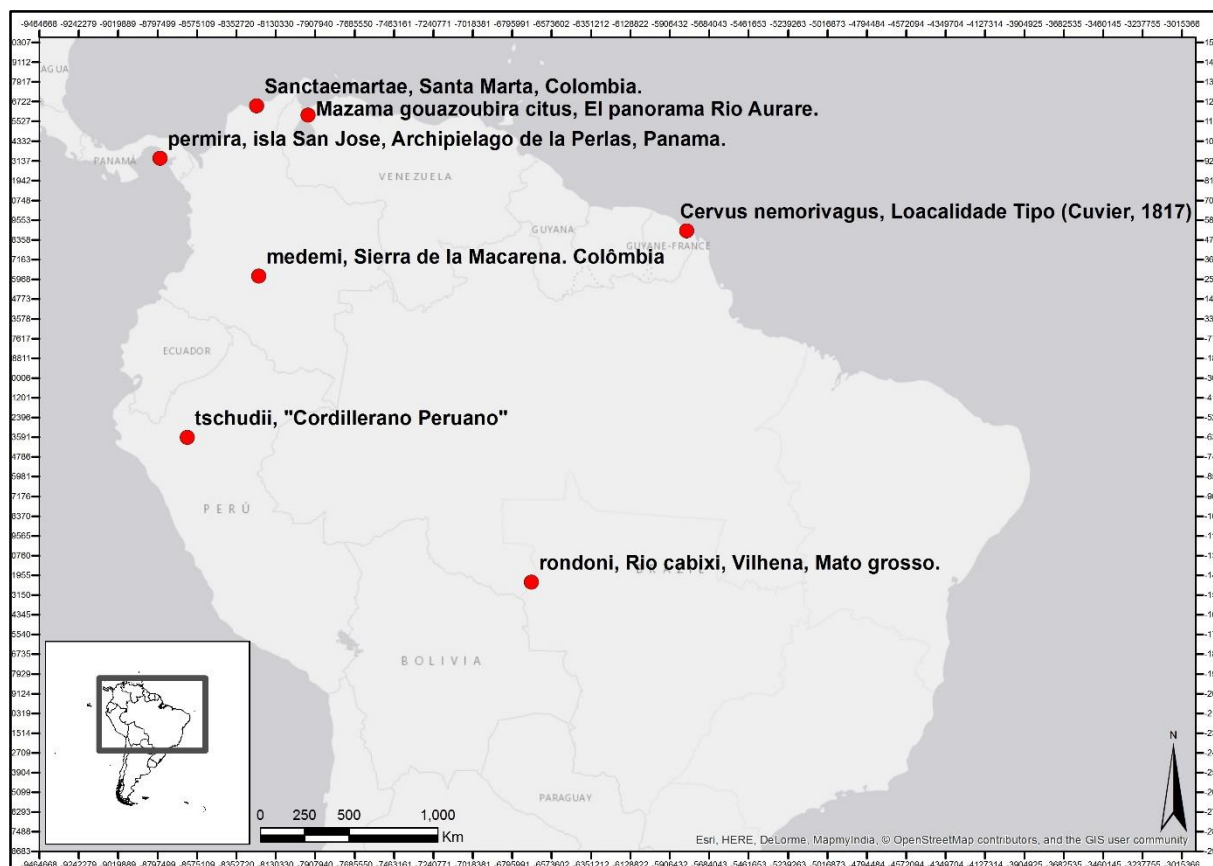


Figura 1. Distribuição geográfica das localidades tipo das subespécies de *Mazama nemorivaga*

As subespécies *Mazama nemorivaga rondoni* e *Cervus tschudii* não apresentam diferenças morfológicas significativas (ROSSI *et al.*, 2010). Entretanto, a partir da descrição morfológica de Osgood (1912) da subespécie *M. americana citus*, foram registradas diferenças morfológicas, como tamanho dos dentes e presença de pelos na região tarsal, sugerindo que *M. a. citus* corresponderia a uma espécie diferente do *Cervus nemorivagus* descrito por Cuvier (ROSSI, 2010). A presença de pelos na região tarsal também foi observada na revisão taxonômica realizada por Rossi no ano 2000.

A única forma deste complexo de subespécies descrita para o Brasil é *Mazama nemorivaga rondoni* (Miranda-Ribeiro, 1919). Em algumas publicações (DUARTE 1996; DUARTE & MERINO, 1997) *M. nemorivaga* é citado como *Mazama rondoni*, até o trabalho de Rossi (2000), que não encontrou diferenças morfológicas significativas com relação à espécie tipo (*Cervus nemorivagus*, Cuvier 1817), rejeitando esta classificação e incluindo todos os morfotipos em *M. nemorivaga*. Rossi (2000) considera *M. rondoni* como sinônimo de *M. nemorivaga*. (ROSSI & DUARTE, 2008; ROSSI *et al.* 2010).

Mazama nemorivaga e *Mazama gouazoubira* eram consideradas como pertencentes a uma única espécie, *M. gouazoubira* (FISHER, 1814). Apesar de ter sido descrita em 1817 por Cuvier, *M. nemorivaga* não era considerada por muitos autores como uma espécie validada. Análises cariotípicas de indivíduos de *M. gouazoubira* provindos da região norte do Brasil retomaram a discussão sobre a divisão da espécie, uma vez que apresentavam cariótipos distintos e características morfológicas diferentes (DUARTE, 1996; DUARTE & MERINO 1997; DUARTE & JORGE, 1998).

O nome *M. nemorivaga* é reconhecido como espécie válida por Rossi (2000), com base em caracteres morfológicos como a coloração, dimensões cranianas, presença ou ausência de mancha superciliar, a partir de espécimes provenientes dos estados da Amazônia brasileira.

Nesse contexto, análises cariotípicas têm se mostrado uma ferramenta de grande importância para auxiliar na definição das espécies que compõem este gênero (DUARTE & JORGE 1996; DUARTE & JORGE, 2003; ABRIL & DUARTE, 2008; ABRIL, 2009).

As espécies do gênero *Mazama* possuem uma ampla variabilidade cromossômica devido à ocorrência de rearranjos cromossômicos que propiciam o processo de especiação (VARGAS-MUNAR *et al.*, 2010). A facilidade de ocorrências desses rearranjos pode ser facilmente evidenciada pela observação de fusões Robertsonianas (DUARTE & MERINO, 1997), principal mecanismo de diferenciação cariotípica (GUSTAVSON & SUNDT, 1969; TAYLOR *et al.*, 1969; JORGE & BENIRSCHKE, 1977; NEITZEL, 1987)

O padrão cariotípico para a espécie *M. nemorivaga* é $2n=68/NF=70$ para fêmeas e $2n=69/NF=70$ para machos (RESENDE, 2012). Duarte & Jorge (1998) realizaram análise citogenética de seis espécimes provenientes dos estados do Rondônia, Acre e Pará, onde os indivíduos analisados apresentaram uma constituição cromossômica de $2n=67$ a 70 , $NF=69$ a 72 e múltiplos cromossomos B (2 a 8). Resende (2012) em sua comparação cariotípica entre *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga* analisou cariótipos de oito *M. nemorivaga* provenientes dos estados do Mato Grosso, Pará, Maranhão, Amapá, Rondônia e Acre, encontrando a mesma variação no número diploide e número fundamental de braços ($2n=67$ a 69 e $NF=70$ a 72). Dos oito animais analisados por Resende (2012), quatro animais provenientes dos estados do Mato Grosso, Amapá e Acre, apresentaram cariótipo distinto devido à ocorrência de fusão Robertsoniana (duas fêmeas apresentam o cariótipo variante $2n=69/NF=72$, e dois machos variantes com $2n=67/NF=70$ e $2n=69/NF=72$). Este tipo de rearranjo em algumas populações pode gerar isolamento reprodutivo, indicando algum grau de diferenciação das populações, e podem sugerir a presença de mais de uma espécie dentro de *M. nemorivaga* (FIORILLO, 2013).

No estudo de Resende (2012), três animais provenientes dos estados do Amapá e Acre, apresentaram um par autossômico acrocêntrico a mais que o cariótipo padrão (34 autossomos ao invés de 33). Isto pode ser explicado porque estes animais não possuem a fusão X-autossômica, e por consequência não possuem sistema sexual múltiplo. Diante disto, a presença da fusão X autossômica deve gerar uma barreira reprodutiva, podendo ser um mecanismo de especiação.

A diferenciação do sistema sexual (XX/XY₁Y₂), produto da fusão X-autossômica em *M. nemorivaga*, foi descrita por Fiorillo *et al.* (2013) por meio do bandejamento G, que identificaram que os machos apresentavam uma banda intersticial no meio do braço q do cromossomo X, a metade distal foi homólogo ao cromossomo Y₂, o qual confirma a fusão em tandem X-autossômica. Neste estudo, foram utilizados animais provenientes dos estados do Maranhão, Pará e Mato Grosso, onde todos os animais apresentaram um cariótipo padrão compostos por 33 pares de cromossomos autossômicos, exceto o animal proveniente do Mato Grosso, que apresentou um cariótipo composto por 32 pares de cromossomos autossômicos, sendo resultado de uma fusão Robertsoniana em homozigose entre os pares 4 e 32.

Estudos envolvendo análises moleculares, baseados no gene do Cyt B e um deles incluindo genes nucleares MGF e IL16, sugerem que o gênero *Mazama* é polifilético (GILBERT *et al.*, 2006; DUARTE *et al.*, 2008; HASSANIN *et al.*, 2012; FIGUEIREDO, 2014; HECKEBERG *et al.*, 2016) Os animais do gênero *Mazama* pertencentes a subtribo Odocoileina (*M. americana*, *M. bororo*, *M. nana*, *M. temama*, *M. pandora*, *M. briceni*, *M. rufina*) não se agrupam no mesmo clado da árvore filogenética que os animais da subtribo Blastocerina (*M. gouazoubira* e *M.*

nemorivaga), e de acordo com estes autores, a tribo Blastocerina deveria ser considerada um gênero distinto de *Mazama*.

Duarte *et al.* (2008) utilizaram o gene mitocondrial do *citocromo b* para analisar todas as espécies de cervídeos sul-americanos, com o intuito de esclarecer a sistemática e a história evolutiva dos mesmos. O resultado desta pesquisa indicou que as espécies do gênero *Mazama* da subtribo Blastocerina também não se agrupam como um grupo monofilético, indicando a possível separação a nível genérico de *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga*. Essa separação em gêneros distintos também foi observada por Hassanin *et al.*, (2012), que utilizaram o mitogenoma de 128 táxons, com o objetivo de interpretar as relações filogenéticas da ordem Cetartiodactyla. Estes estudos concordam com a separação entre os dois clados. Duarte *et al.*, (2008) agruparam *M. nemorivaga* em um clado monofilético separado do resto das outras espécies, já no trabalho de Hassanin *et al.*, (2012), *M. nemorivaga* também agruparam como clado monofilético, mas com uma maior proximidade ou como sendo grupo irmão com *Blastocerus dichotomus*.

Avaliando a sistemática molecular de *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga*, Figueiredo (2014), analisou amostras de *M. nemorivaga* provenientes de quatro localidades da Amazônia Brasileira: Rondônia (seis animais), Pará (dois animais), Acre (um animal), Amapá (dois animais). O resultado do estudo propõe uma árvore filogenética incluindo os marcadores mitocondriais Cyt b e COI e os nucleares MGF e IL16, que indica a separação da espécie *M. nemorivaga* em três clados diferentes, evidenciando uma diferença entre amostras provenientes do Amapá (acima do rio Amazonas), comparado com as amostras provenientes das regiões abaixo do Rio Amazonas (Rondônia e Pará). Neste estudo, foi evidenciado também uma

diferenciação entre as amostras de Rondônia e Pará, corroborando com a hipótese de Duarte et al. (2008), que sugeriram a possibilidade da existência de duas espécies dentro do que hoje é considerado *M. nemorivaga*, uma ocorrendo na região oeste da Amazônia e a outra na parte leste.

Diante do exposto, com base em estudos morfológicos (ROSSI, 2000) citogenéticos (RESENDE 2012, FIORILLO *et al.*, 2013) e moleculares (GILBERT *et al.*, 2006; DUARTE *et al.*, 2008, HASSANIN *et al.*, 2012; FIGUEIREDO, 2014; HECKEBERG *et al.*, 2016), sugere-se que a atual classificação de *M. nemorivaga* apresenta inconsistências.

III. OBJETIVOS

- Caracterização de um topótipo de *Mazama nemorivaga* por meio de análises morfológica (biometria corporal, padrões de coloração, craniometria, caracterização de pós-crânio), citogenética (cariótipo convencional, biometria cromossômica, bandamento C, bandamento G, bandamento RON, FISH telomérica) e molecular (três regiões mitocondriais).
- Comparar os padrões obtidos com os já descritos na literatura para outros espécimes da mesma espécie, a fim de esclarecer o nível de diferença entre indivíduos já estudados, possibilitando revisar a taxonomia da espécie, incluindo suas sinónimas e subespécies.

IV.MATERIAL E METODOS

4.1 Coleta do animal e amostras

A localidade tipo de *Mazama nemorivaga* corresponde a Caiena, capital da Guiana Francesa (CUVIER, 1821). Após obtenção de autorização de coleta pelo governo Francês (Anexo 4), foi realizada uma expedição de coleta à Guiana Francesa, cidade de Régina, situada a 70 km ao sul de Caiena, por ser o ponto mais próximo, com a presença de cervídeos, onde foi possível a captura de um animal. Este exemplar foi posteriormente depositado, com o número de tombo NPC 080 no Museu do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), localizado nas dependências da Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV, campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Foram obtidos dados biométricos do animal logo após a morte para possibilitar comparação com dados coletados em projetos com animais vivos. O animal foi posicionado em um pano de campo azul contendo escalas métricas, sendo então tomadas fotos do animal nas posições, lateral, dorsal e ventral, bem como detalhes da cabeça, da mesma forma que tem sido feito em projetos anteriores com animais anestesiados.

Foi realizada a tricotomia e antissepsia da região interna da coxa esquerda, realizando-se uma excisão de um fragmento de 2 x 2 cm de pele, que foi depositado em um tubo contendo meio de transporte (Meio McCoy's + 500 mg/L gentamicina + 200 mg/L anfotericina B) (DUARTE *et al.*, 1999). Em seguida, o fragmento de pele foi dividido em 10 fragmentos, que foram depositados em tubos criogênicos contendo meio de congelamento de peles (200 mL meio McCoy's (Vitrocell®) + 40 mL soro equino

inativado +2 mL dimetilsulfóxido (DMSO) + 24gr de polivinil pirrolidona + 100 mg/L sulfato de gentamicina + 4 mg/L anfotericina) (DUARTE *et al.* 1999). Esse material permaneceu por 3 horas e meia sob refrigeração e por 30 minutos no vapor de nitrogênio líquido, sendo depois estocado em imersão, também em nitrogênio líquido (-196°C). Com esta técnica, as células permanecem vivas, e foram utilizadas em cultivos de fibroblastos para estudos citogenéticos.

Foram ainda, coletadas amostras de tecido (músculo, fígado) para estudos moleculares. Fragmentos de 1 cm² destes tecidos foram mergulhados em tubos com etanol absoluto, permanecendo à temperatura ambiente. O esqueleto completo (crânio e pós-crânio) foi limpo no local do abate do animal e o material foi acondicionado em caixas plásticas sob temperatura ambiente. A pele, na sua íntegra, foi retirada e separada dos restos musculares, gordura e fâscias, sendo então mergulhada em solução curtume (500g de Al₂(SO₄)₃.(14-18)H₂O + 500g NaCl) para dessecação do material. Após secagem por 3 dias, a mesma foi acondicionada para estudos morfológicos.

4.2 Caracterização morfológica

4.2.1 Morfologia tradicional

4.2.1.1 Medidas corporais

O animal, logo após o abate, foi avaliado morfológicamente por meio das seguintes medidas corporais: peso, comprimento do chifre esquerdo e direito, diâmetro à base dos chifres direito e esquerdo, comprimento de cabeça, largura de cabeça, tamanho da orelha, distância entre olhos, distância entre chifres, largura da mandíbula à base, comprimento do metacarpo, comprimento do metatarso, altura, comprimento do corpo, comprimento da cauda, perímetro de pescoço e perímetro

torácico. Estas medidas foram tomadas por balança digital portátil (cap. 50 kg), fita métrica e paquímetro (precisão 0,01), sendo muito importantes para comparações com dados biométricos obtidos em projetos com animais vivos.

4.2.1.2 *Morfologia externa*

O animal foi posicionado em um pano de campo azul contendo escalas métricas, sendo então tomadas fotos do animal nas posições lateral (Figura 3), dorsal e ventral (Figura 4, Figura 5), bem como detalhes da cabeça (Figura 6), e pele taxidermizada (Figura 7), que estão sendo descritos a seguir.



Figura 3: Topótipo de *Mazama nemorivaga* coletado na Guiana Francesa, posicionado em um pano de campo azul, vista lateral.



Figura 4: Topótipo de *Mazama nemorivaga* coletado na Guiana Francesa, posicionado em pano de campo azul, vista dorsal.



Figura 5: Topótipo de *Mazama nemorivaga* coletado na Guiana Francesa, posicionado em pano de campo azul, vista ventral.

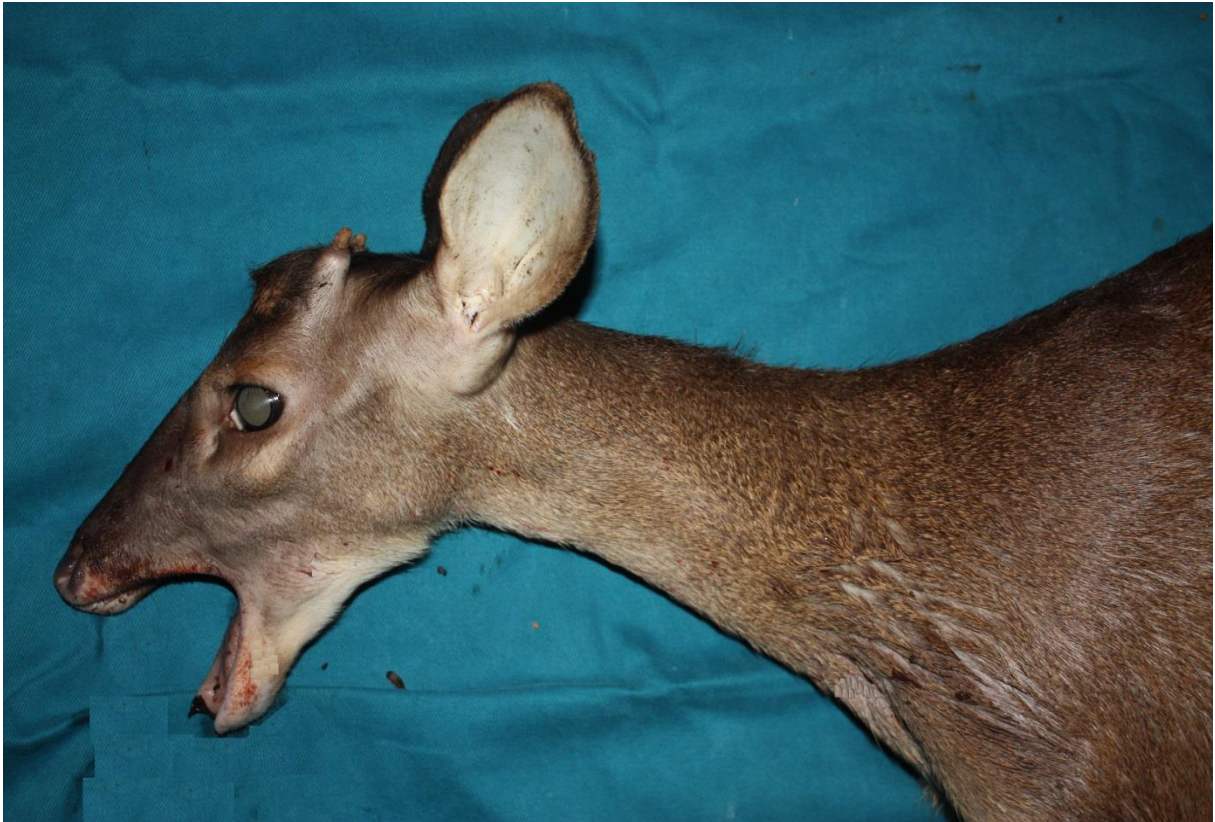


Figura 6: Topótipo de *Mazama nemorivaga* coletado na Guiana Francesa, posicionado em pano de campo azul, detalhes da cabeça.



Figura 7: Pele aberta taxidermizada do topótipo de *Mazama nemorivaga*.

A análise da morfologia externa do espécime foi realizada a partir de critérios utilizados por Rossi (2000), observando-se as fotos tomadas logo após a coleta e a pele inteira taxidermizada.

Foram examinados na pele e nas fotos os seguintes aspectos:

- Coloração geral da pelagem. Campos cromogénéticos da cabeça: faixas orbitais superior e inferior, mancha superciliar anterior, regiões auriculares antero-basal e pósterio-basal, faixa rostral, região nasal, região mentoniana, mancha mandibular, região bucal e região gular. Campos cromogénéticos do corpo: região da cabeça e pescoço, linha mediana dorsal do corpo, dorso da cauda, região dorsal posterior do corpo, região ventral do corpo, ventre da cauda e região distal dos membros. Padrão de faixas de pigmentos nos pelos das diferentes regiões do corpo. Ocorrência de faixas de pelos antevertidos. E a ocorrência de tufo arredondado de pelos na região tarsal.

4.2.1.3 Medidas cranianas

Foram tomadas medidas padrão do crânio (REES, 1969; DRIESCH, 1976), utilizando um paquímetro digital (precisão 0.01 mm) seguindo as medidas propostas por Von Den Driesch (1976).

Foram comparadas as medidas crânio-mandibulares do exemplar coletado, com as informações disponíveis na literatura dos holótipos das sete subespécies de *Mazama nemorivaga*. Para isto, utilizou-se o programa PAST 3.08 (HAMMER *et al.*, 2001), para a obtenção de análise de componentes principais. Foram consideradas quatro medidas cranianas que se encontram na maioria dos indivíduos analisados. Longitude total (LT), arco zigomático (AZ), comprimento maior do nariz (CMN), série dental superior (SDS) (Figura 2).

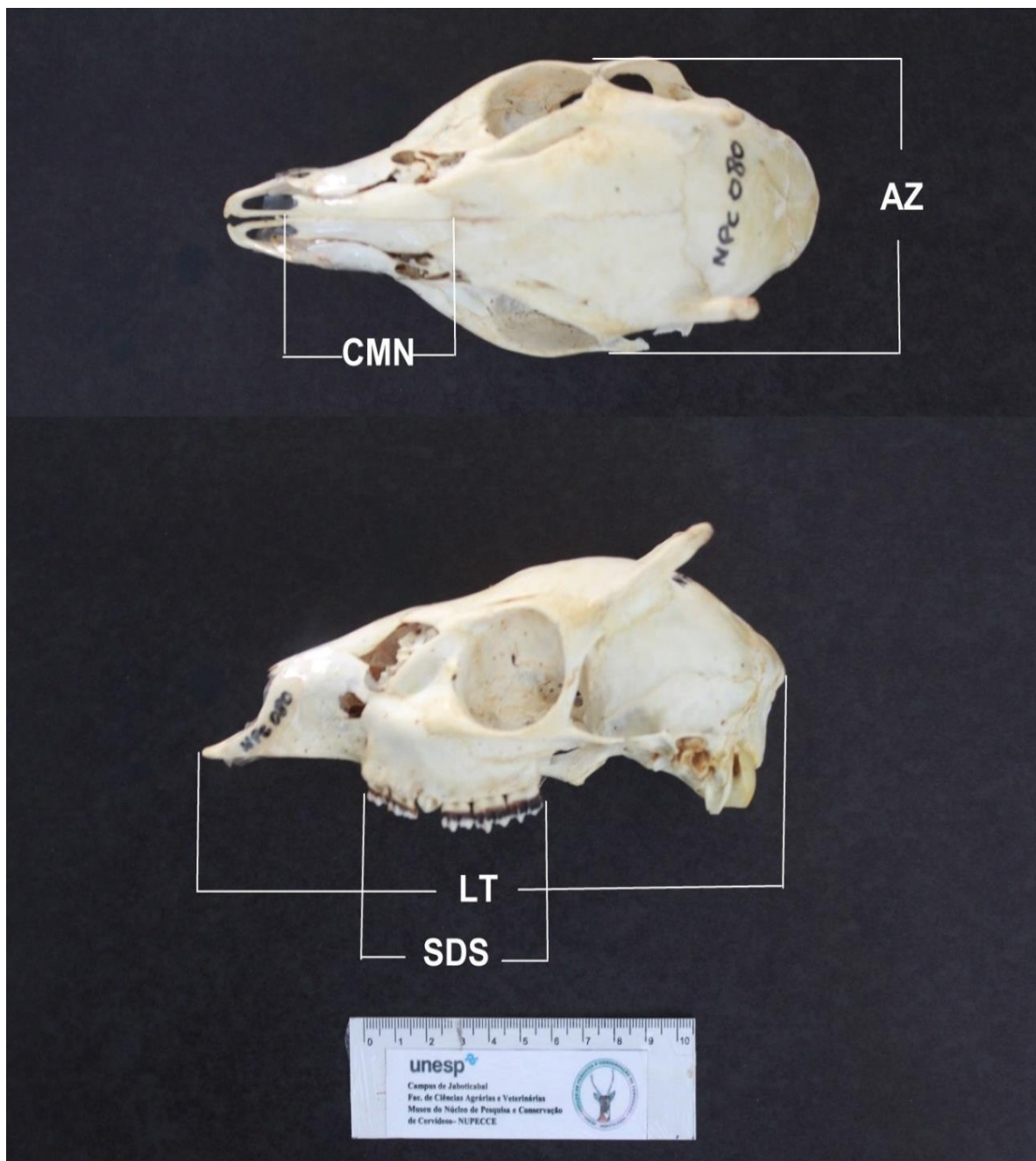


Figura 8: Medidas lineais usadas na estatística multivariada, da comparação do Topótipo de *M. nemorivaga* com holótipos de subespécies.

4.2.1.4 Medidas corporais

Foram comparadas as medidas morfológicas do animal coletado na Guiana Francesa, com 21 animais reconhecidos como *M. nemorivaga*, pertencentes à base de dados do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE). A comparação levou em consideração as seguintes medidas: comprimento da cabeça,

largura da cabeça, mandíbula, distância entre olhos, orelha, altura, metacarpo, tórax, metatarso, corpo e peso. Logo após, essas medidas foram convertidas ao logaritmo em base 10, baseados na matriz de correlação, esses dados foram analisados utilizando o programa PAST 3.08 (HAMMER *et al.*, 2001), para a obtenção de análise de componentes principais e uma análises de cluster (SNEATH & SOKAL, 1973), Foram utilizadas informações biométricas de indivíduos provenientes dos seguintes estados: Rondônia, Acre, Pará, Amapá, e Guiana Francesa (Topótipo). Na análise, foram incluídos tanto indivíduos machos como fêmeas, já que *M. nemorivaga* não apresenta dimorfismo sexual em caracteres morfológicos externos (ROSSI, 2000).

4.2.2 Morfologia geométrica

Foram usados 89 landmarks para descrever o crânio do topotipo coletado na Guiana Francesa, usando landmarks com clara homologia dos tipos 1 e 2, tais como suturas triplas e processos (BOOKSTEIN, 1991). Os landmarks foram digitalizados em três dimensões usando um Microscribe MX 6DOF System (GoMeasure3D; Amherst, VA, USA), com acurácia de 0.0508 mm. A lista de landmark encontrados encontra-se no Anexo Nº 2.

4.3 Caracterização Citogenética

4.3.1 Cultivo celular

O cultivo celular foi realizado segundo a técnica descrita por Verma & Babu (1995), no laboratório de citogenética do NUPECCE, onde as amostras de pele foram descongeladas em banho-maria a 37°C e colocadas em placas de Petri, contendo tampão fosfato ou PBS com um pH de 7,4 (NaCl 187 mM, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄ 10 mM e KH₂PO₄ 10 Mm para 8 L água destilada), sendo então divulsionadas mecanicamente e divididas em fragmentos finos. Estes foram transferidos para os frascos de cultivo T25 com 1mL de meio de cultura DMEM (meio essencial mínimo modificado de Dulbecco, CULTILAB ®), enriquecido com 50% de soro fetal bovino suplementado com 5µL de amicacina para cada 1 mL de meio, e levados a estufa a 37°C com 5% de CO₂. Após a aderência das células no frasco, o meio foi substituído por 5mL de meio de cultura com 10% de soro fetal bovino. Os cultivos foram supervisionados em intervalos de 24 horas, sendo o meio trocado a cada dois dias.

Quando o crescimento da monocamada estava adequado, o meio foi retirado e as células lavadas duas vezes com PBS, tratadas com 2 ml de solução de tripsina durante um minuto, sob monitoramento em microscópio invertido. Posteriormente, as células foram colocadas em tubo de fundo cônico com 10 ml de meio de cultura DMEM + 1 mL de soro fetal bovino, e passado para outro frasco de cultivo onde foram adicionados novamente meio de cultura + soro fetal bovino, até obter um número suficiente de cultivos secundários.

Os cultivos secundários com crescimento celular ótimo, após 24 horas de cultivo, foram tratados com 50µL de colchicina 0,016% durante 15 a 60 minutos antes

da colheita e solução de tripsina 0.05% no momento da colheita. Em seguida, as células foram ressuspensas em 8mL de solução hipotônica (KCl 0,075M) e incubadas em uma temperatura de 37,5°C por 15 minutos. Depois, o material foi centrifugado, e o sobrenadante descartado novamente, onde o sedimento foi restituído a 8mL de solução fixadora de metanol e ácido acético 3:1 (Carnoy) respectivamente, em três ocasiões.

4.3.2 *Biometria Cromossômica*

Para a classificação cromossômica, foram utilizadas 10 metáfases do animal. As referidas medidas foram realizadas a partir do centrômero até a extremidade do cromossomo (telômero) utilizando o programa computacional “KS300”. De acordo com a razão de braços (RB), os cromossomos foram classificados como metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos ou acrocêntricos (Levan *et al.* 1964). Com o comprimento relativo (CR), os cromossomos autossômicos foram classificados como sendo do grupo A (grandes cromossomos de dois braços, com $CR > 6\%$), C (pequenos cromossomos de dois braços, com $CR < 6\%$), D (grandes cromossomos acrocêntricos, com $CR > 5\%$), E (pequenos cromossomos acrocêntricos, com $CR < 5\%$) e B (micro-cromossomos ou cromossomos B, com $CR < 1,5\%$) (Comunicação pessoal, Duarte 2016).

4.3.3 Citogenética

4.3.3.1 *Bandas G* (SEABRIGHT, 1971, modificada)

Foram empregadas lâminas com dez dias de preparação, as quais foram mergulhadas em uma solução de tripsina 0,05% em tampão fosfato (0,06 M; Ph 6,8),

a temperatura 37°C por 2 a 5 segundos. A coloração foi feita com solução Wright 1:2 em tampão fosfato (0,06 M, pH 6,8) por 12 minutos.

4.3.3.2 *Bandas C* (SUMNER 1972)

As lâminas foram mergulhadas em solução de HCl (0,02N) por 20 minutos, sendo em seguida lavadas com água corrente, mergulhando-se em solução de Ba(OH)₂ (0,07N) a 40°C, por 20 a 25 minutos. As lâminas foram lavadas de novo com água corrente e depois mergulhadas em solução 2 x SSC (Solução salina concentrada: NaCl = 17,53g + citrato de sódio = 8.82g) por 1,5 a 2 horas. Após isso, as lâminas foram coradas com Giemsa a 2% em tampão fosfato (0,01 M), por 25 minutos.

4.3.3.3 *Coloração RON* (HOWELL & BLACK 1980)

Em uma lâmina com aproximadamente 30 dias foram pingadas duas gotas de nitrato de prata à 50% e uma gota de solução coloidal (1 g de gelatina P.A. em 50 mL. de água deionizada mais 0,5 mL de ácido fórmico), colocando-se uma lamínula sobre a preparação. A lâmina foi colocada em câmara úmida, sendo aquecida a 56°C em estufa, por 4 a 5 minutos até obter uma cor dourada. Após isso, a lâmina foi mergulhada em água deionizada para retirada da lamínula, sendo depois lavada com água corrente e analisada ao microscópio.

As lâminas submetidas às técnicas de bandeamento cromossômico foram analisadas e fotografadas em um microscópio óptico Olympus CX31 em objetiva de 100x com uma câmera digital Olympus Camedia C5060. Todas as imagens foram editadas com o auxílio do programa Adobe Photoshop CS2.

4.3.3.4 FISH telomérica

Para a identificação dos sítios teloméricos, foram usadas sondas construídas por PCR utilizando-se os iniciadores 1 (TTAGGG) e 2 (CCCTAA) (IJDO et al., 1991). A marcação da sonda foi feita por incorporação da Digoxigenina Roche®, por DOP-PCR. Para a realização da FISH, lâminas contendo as preparações cromossômicas foram pepsinizadas, lavadas em PBS e em 2SSC, desidratadas em serie alcoólica (70°, 90°, 100°) e envelhecidas uma hora a 60°C. A desnaturação cromossômica foi realizada incubando-se as lâminas em formamida 70%/2xSSC e depois foram desidratadas em uma nova serie alcoólica. Concomitante à desnaturação das laminas, foi feita a desnaturação das sondas, as quais foram incubadas nas preparações cromossômicas a 37°C *overnight*. A detecção das sondas marcadas com digoxigenina foi realizada com Anti-Digoxigenina Roche® e a contra-coloração cromossômica foi feita com DAPI e *antifade*.

Todas as preparações cromossômicas foram analisadas e fotografadas no microscópio óptico Olympus BX60 (objetiva 100x) equipado com uma câmara Zeiss AxioCam MRm, por meio do programa AxioVision Release. Entretanto, as preparações submetidas as técnicas de citogenética clássica foram analisadas na microscopia de luz, em quanto as preparações submetidas à FISH foram analisadas na microscopia de fluorescência. As imagens obtidas foram editadas com auxílio do programa Adobe Photoshop CS3.

4.4 Genética molecular

4.4.1 Amostras

Foram analisadas amostras de fígado e pelo da espécie *M. nemorivaga* de diferentes localidades da Amazônia brasileira e da Guiana Francesa, e uma amostra

proveniente de Peru. Algumas das sequências foram geradas a partir de amostras que estão estocadas no Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) e outras obtidas através da base de dados GeneBank do National Center for Biotechnology Information (NCBI) <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>>. (Anexo 3).

4.4.2 Extração de DNA

A extração de DNA genômico a partir das amostras de tecido foram realizadas por meio da digestão com proteinase K e extração com fenol/clorofórmio, utilizando-se um protocolo modificado, a partir da metodologia descrita por Sambrook *et al.* (1989), para extração de DNA genômico:

Foi cortado com uma tesoura limpa um fragmento de tecido, e colocado em um tubo de 1,5 mL. Foi adicionado 500 µl de TE-Tween/amostra; seguido de incubação no banho a 65°C por 1 a 2 horas, com agitação periódica. Posteriormente foi adicionado 5µl de proteinase K/tubo (concentração final de aproximadamente 2.4-3.6 µg de proteinasa K/µl), e em seguida incubado a 55°C por 6 horas, com agitação periódica, foi incubado a 37°C por uma noite e, posteriormente realizado o processo de extração/precipitação do DNA pelo método do fenol:clorofórmio: álcool isomílico (25: 24:1), conforme segue:

Foi adicionado um volume de PCL (fenol-cloroformio- álcool isoamílico) na mesma quantidade da amostra, agitando-se vigorosamente na amostra por 10 segundos, seguido de centrifugação por 10 minutos, então o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. A precipitação do DNA consistiu em adicionar 1/10 do volume da amostra de acetato de sódio 0,3 M (aproximadamente 300 µl), a qual foi misturada cuidadosamente e, em seguida, o volume completado com etanol absoluto

gelado (2,5 x o volume da amostra), misturado por inversão e colocado em freezer a -20°C durante duas horas. Após este período, realizou-se a centrifugação por 20 minutos a 134,4 rcf, sendo que o sobrenadante foi desprezado e o pellet, completamente seco. Por fim, o DNA foi ressuspendido em 100 µl de TE-Tween.

4.4.3 *Quantificação DNA*

As amostras foram quantificadas por espectrofotometria (Eppendorf BioPhotometer®), sendo em seguida diluídas em água ou TE 10:1 na concentração de uso (100µg/µl), após a leitura da concentração, em um espectrofotômetro.

4.4.4 *Amplificação e sequenciamento de genes mitocondriais*

As amostras foram submetidas à técnica de PCR (MULLIS, 1983) em termociclador convencional “Biometra T1 Thermocycler” para amplificação do DNA. Foram amplificados os fragmentos dos genes: citocromo b de 920 pb (Cyt B) (HASSANIN *et al.* 1998, DUARTE *et al.* 2008), a subunidade I da citocromo oxidase de 658 pb (COI) (FOLMER *et al.* 1994; HASSANIN & ROPIQUET 2004) e a região D-loop de 610 pb (VILÁ *et al.*, 1999). As características dos marcadores são exibidos na tabela 3.

Tabela 3. Características gerais dos marcadores moleculares mitocôndrias utilizados neste estudo

Genes	Tamanho (pb)	“Primers” utilizados	Tº anelamento	Referencia	Sequência (5'→3')
Cyt B	480	L14124	54°C	Kocher <i>et al.</i> , 1989	(F) AAAAAAGCTTCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA
	660	H15149 FARH FARL			(R)AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA. (F)TCCAATAGTAATAAAGGGGTGTTCA (R)CCATGAGGACAAATATCATTCTGTA
COI I	658	LCO1490 HCO2198	54º C	Folmer <i>et al.</i> , 1994	(F)GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG (R)TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATA
D- loop	690	DL THR	52°C	Vilá <i>et al.</i> , 1999	(F)CAATTCCCGGTCTTGTAACC (R)CCTGAAGTAGGAACCAGATG

Os fragmentos de DNA foram amplificados utilizando uma reação de PCR que continha: 12,0 µl de dNTP, 2,0 µl de tampão de reação, 0,6 µl de MgCl₂, 0,5 µl de cada “primer” (forward e reverse), 0,4 µl de DNA “Taq polimerase” e 3,0 µl de DNA, para um volume total de 20 µl por amostra. O programa de amplificação utilizado no termociclador foi: ciclo inicial de 5 minutos a 94°C para desnaturar o DNA, 35 ciclos a 94°C por 1 minuto, temperatura de anelamento dos iniciadores (tabela 3) por 1 minuto, e 10 minutos com temperatura de 72°C para extensão final, depois mantido a 4 °C. Em todas as reações foram incluídos controles negativos para verificar a presença ou ausência de contaminação.

Após a PCR, o produto de amplificação foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 2%, e corado com GELRED (Sigma ®), posteriormente analisadas no programa “Image Analysis da Kodak”. O tamanho de cada fragmento, foi confirmado utilizando o marcador “TrackIt™” 50 pb DNA “ladder” (Invitrogen). Todas as amostras foram armazenadas a 4°C.

A purificação do produto amplificado foi realizado seguindo o protocolo etanol sem lavagem (DORADO-PÉREZ, 2012) para os produtos da PCR dos genes Cytb, COI I e D-loop. Os produtos de PCR foram seqüenciados utilizando-se o kit ABI Prism Big Dye Terminator (Applied Biosystems ®), analisando-se o produto final no seqüenciador automático ABI Prism 377 (Applied Biosystems ®).

4.4.5 *Análises filogenéticas e construção das árvores*

As sequências obtidas do sequenciamento, correspondente as fitas senso e antisenso dos fragmentos mitocondriais, foram inspecionadas manualmente mediante o electroferograma para eliminar falsos polimorfismos e possíveis ambiguidades.

Essas sequências foram comparadas com as já existentes no GenBank (Anexo 2) para uma avaliação preliminar da posição deste animal, em relação aos demais já avaliados molecularmente. Para tanto, as sequências foram alinhadas automaticamente mediante a ferramenta MAFFT 6.717 (KATO *et al.*, 2002) disponível no programa SAT “Simultaneous Estimation of Multiple Sequence alignments” V2.2.7 (LIU *et al.*, 2009). Posteriormente, ao alinhamento da matriz foi selecionado o melhor modelo evolutivo que melhor se adequa para cada gene analisado, sendo utilizado o critério AIC (Akaike Information Criterion), mediante o programa MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013). Para todos os genes avaliados (Cyt B, COI I, D-loop) o modelo HKY + G foi selecionado como o mais indicado.

A partir das sequências obtidas, foram realizadas análises filogenéticas, utilizando-se os seguintes métodos: (1) máxima parcimônia (FARRIS 1970), com o programa PAUP (SWOFFORD 1999); (2) máxima verossimilhança (FELSENSTEIN 1985) com o programa PhyML 3.0 (GUINDON, S & GASCUEL, O. 2010); (3) e inferência bayesiana através do programa MrBayes 3.2.1 no XSEDE (RONQUIST & HUSLSENBECK, 2003) disponível como webservice na plataforma CIPRES Science Gateway (MILLER, PFEIFFER, & SCHWARTZ, 2010)

O suporte estatístico dos agrupamentos filogenéticos foi estimado através de métodos como o do “bootstrap” (FELSENSTEIN 1985), para a análises de Máxima Parcimônia realizada com uma busca heurística de 1.000 réplicas com adição aleatória de sequências e troca de ramos mediante o algoritmo “nearest-neighbor interchange” (ROBINSON, 1971). O suporte estadístico foi calculado utilizando 2.000 pseudoréplicas com adição aleatória de sequências e busca heurística como 100 réplicas para cada pseudoréplica. As análises de Máxima verossimilhança (Maximum

Likelihood) foi realizada incluído 5.000 pseudoréplicas. A inferência Bayesiana foi realizada utilizando 10.000.000 gerações, com amostragem das arvores a cada 10 gerações e burn in de 25%. Para estimar a distribuição da probabilidade posterior foi utilizado a Metropolis-Coupled MCMC (Markov Chain Monte Carlo). Todas as árvores obtidas foram editadas com auxílio do programa TreeGraph 2.11.1-654 beta (STOVER & MULLER 2010)

V.RESULTADOS

5.1 Caracterização morfológica

5.1.1 Morfologia tradicional

5.1.1.1 Descrição da pelagem

- *Coloração geral da pelagem:* coloração geral castanha brilhante, dorso do corpo castanho escuro uniforme, levemente salpicado de amarelo a laranja claro. Flancos castanhos esmaecidos, salpicados de amarelo claro a pardo bem claro. No ventre, na região do peito, as colorações pardo bem claro a pardo amarelado. Na região inguinal, creme-amarelada a esbranquiçada. No dorso da cauda, castanho escuro uniforme, e na região abdominal, parda bem clara, de coloração distinta dos flancos.

- *Campos cromogénicos da cabeça:* As faixas orbitais, superior e inferior presentes e pouco nítidas, castanho-alaranjadas, com mancha superciliar anterior ausente, e regiões auriculares antero-basal e póstero-basal de cor parda. A faixa rostral castanha apresentou mesma coloração que os pelos do dorso da cabeça, a região mistacial apresentou coloração castanha escura, levemente distinta das regiões laterais posteriores do focinho, com tonalidade mais clara. Na região mentoniana, manchas mais ou menos definidas, esbranquiçadas a pardas bem claras, e mancha mandibular presente, de cor parda escura a castanha, sem limites definidos.

- *Campos cromogénicos do corpo:* região da cabeça e pescoço castanha brilhante, linha mediana dorsal do corpo castanho escuro uniforme salpicado de laranja claro, flancos castanhos esmaecidos, salpicados de amarelo claro a pardo bem claro, dorso da cauda castanho uniforme, região ventral do corpo, na região do peito, pardos bem claros, apresentando limites definidos em relação aos flancos. Região

inguinal creme-amarelada a esbranquiçada, ventre da cauda braço puro e região distal interna dos membros, castanha nos membros posteriores e castanho-alaranjada nos anteriores.

- *Padrão de faixas de pigmentos nos pêlos das diferentes regiões do corpo*: Pêlos com faixas basal e terminal de eumelanina e faixa subterminal de feomelanina. Faixa subterminal ocupou pequena porção dos pêlos em todas as regiões do corpo. Pêlos da linha mediana dorsal do pescoço e do corpo com faixa subterminal apresentou-se reduzida. Pêlos com faixa subterminal presentes apenas na região mais proximal da cauda.

- *Ocorrência de faixas de pelos antevertidos*: Faixa de pelos antevertidos na nuca ausente.

- *Ocorrência de tufo arredondado de pelos na região tarsal*: Tufo de pelos na região tarsal ausente.

5.1.1.2 Comparação crânio-mandibular com holótipos de subespécies:

Foram realizadas as medidas crânio-mandibulares do crânio proveniente da Guiana Francesa (Tabela 1).

Tabela 1. Medidas cranianas do topótipo de *Mazama nemorivaga* representadas em milímetros (mm):

Caracter	Medida	Caracter	Medida	Caracter	Medida	Caracter	Medida
CT	172,15	CLM	27,85	LR	140,80	LFM	82,72
CCB	162,31	CLP	23,51	LP	163,05	MLEO	48,31
CB	149,23	MCIO	31,91	ACR	122,39	LMEO	39,14
CCC	98,71	MAIO	30,86	MCN	70,53	LZ	73,42
PP	50,49	MLM	73,42	CCFL	82,71	MLEM	15,52
EBC	29,80	MLCO	33,09	CPO	63,67	MLPM	27,85
EBF	121,25	MLPP	44,44	CLP	40,92	MLP	24,20
CVC	77,25	MLFM	15,83	DCD	50,04	BCNS	51,42
CFM	105,11	AFM	16,34	LN	92,39	MLNC	42,99

CT= comprimento total, CCB=comprimento condilobasal, CB= comprimento basal, CCC=comprimento curto do crânio, PP=premolar- prostion, EBC= eixo-basecranial, EBF=eixo basefacial, CVC=comprimento viserocraniano, CFM= comprimento frontal mediano, LN=lamba-nasal, LR=lambda – região mais distal do osso nasal, LP=lambda – prostion, ACR=acrocrânio, MCN= maior comprimento dos nasais, CCFL= comprimento curto facial - lateral, CPO= comprimento palatal oral, CLP= comprimento lateral do premaxilar, DCD= distancia corrida de dentes, CLM= comprimento da línea do molar, CLP= comprimento da línea premolar, MCIO= maior comprimento interno da orbita, MAIO= maior altura interna da orbita, MLM=maior largura do mastoide, MLCO= maior largura dos côndilos oxipitais, MLPP= maior largura das bases do processo paraoccipital, MLFM= maior largura do foramen magno, AFM=altura do foramen magno, MLNC= maior largura neurocraniana, LFM= largura frontal menor, MLEO=maior largura entre as orbitas, LMEO= largura mínima entre as orbitas, LZ= largura zigomática, MLEN= Maior largura entre os nasais, MLPN= maior largura entre o premaxilar, MLP= maior largura do palatal, BCNS= basion – ponto mais alto da crista nugal superior.

Para a obtenção de análise de componentes principais foram consideradas quatro medidas cranianas que se encontram na maioria dos indivíduos analisados. Longitude total, arco zigomático, comprimento maior do nariz, série dental superior (Tabela 2).

Tabela 2. Medidas cranianas de espécimes das subespécies de *M. nemorivaga* representadas em milímetros (mm).

Espécime	Longitude total	Arco zigomático	Compr. Maior do nariz	Serie dental superior	Autor da descrição
<i>M. n. topótipo</i>	149,23	73,42	50,41	50,04	Presente trabalho
<i>M. n. citus</i> fêmea adulta	185	81,8	59	58,8	Osgood (1912)
<i>M. n. citus</i> Guiana Francesa	183	76,3	51,5	51,5	Osgood (1912)
<i>M. n. medemi</i>	173,1	78	53,8	50,4	Barriga-Bonilla (1966)
<i>M. n. santamarteeae</i>	183	79	52	59	Allen, J.A (1915-b)
<i>M. n. juvenil</i>	150	75	51	50,5	Allen, J.A (1915-b)
<i>M. n. adulto</i>	189	76	51	50,5	Allen, J.A (1915-b)
<i>M. n. murelia</i>	174	74	46	54	Allen, J.A (1915-b)
<i>M. n. permira</i> holótipo	178	74,7	53,5	51	Kellogg (1946)
<i>M. n. permira</i> parátipo macho	172	68,5	52,3	52,2	Kellogg (1946)
<i>M.n. permira</i> parátipo fêmea	163,3	68,5	51	54	Kellogg (1946)
<i>M. n. rondoni</i>	170	75	50,7	53	Miranda- ribeiro (1914)

5.1.1.2 Comparação crânio-mandibular com holótipos de subespécies:

Com as medidas crânio-mandibulares do crânio proveniente da Guiana Francesa, foi realizado uma análise de componentes principais (PCA), com as medidas presentes na maioria dos indivíduos, para medir a similaridade entre o indivíduo coletado e as descrições morfológicas dos holótipos das subespécies de *M. nemorivaga*, existentes na literatura. Destas medidas, foram extraídos dois fatores que explicam mais de 90% da variação total. O primeiro e segundo componente explicam 58.32% e 34.018% da variância respectivamente (Tabela 4). A longitude total do crânio é a que apresentou maior contribuição na variância do primeiro fator (PC1), e comprimento maior do crânio no segundo fator (PC2), que pode ser interpretado como se o eixo X tenha capturado diferenças na longitude total do crânio e o eixo Y diferenças entre o comprimento maior do nariz dos espécimes analisados. O gráfico de dispersão (Figura 8) mostrou um agrupamento para a medida comprimento maior do crânio, entre o espécime coletado na Guiana Francesa e o espécime descrito como *M. nemorivaga*, macho, juvenil por Allen (1915), a partir de um indivíduo coletado na Guiana em 1913.

Tabela 4. Resultado das Análises de Componentes Principais (PCA), baseado em medidas de holótipos de subespécies.

MEDIDAS	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4
Long. Total	0.85263	-0.51359	-0.0095923	-0.095701
Arco zigomático	0.24683	0.48485	0.69342	-0.4724
Comp. Maior nariz	0.33679	0.61031	-0.68683	-0.20581
Serie dental sup	0.31411	0.35871	0.21757	0.85166
% variância	58.332	34.018	4.7712	2.8794

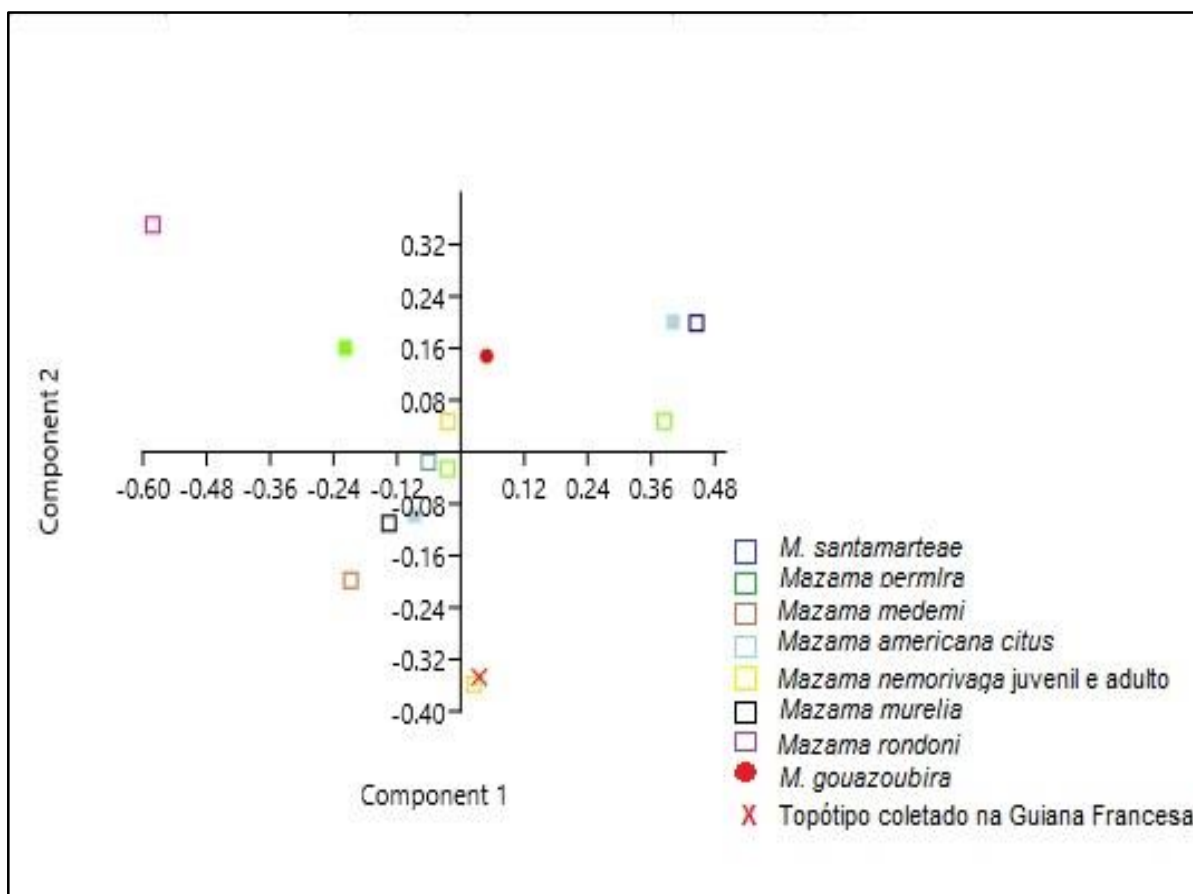


Figura 8: Análise de Componentes Principais (PCA) para as subespécies de *M. nemorivaga*. O primeiro componente encontra-se no eixo X e o segundo componente no eixo Y. Os quadrados preenchidos correspondem a fêmeas e quadrados sem preenchimento aos machos. O quadrado azul claro *Mazama americana citus* (tipo, fêmea adulta, fêmea Guiana), no quadrado marrom a *Mazama medemi*, o quadrado azul a *M. santamartae*, o quadrado amarelo *Mazama nemorivaga* juvenil e adulto, *Mazama murelia*, quadrado cinza, quadrado verde *Mazama permira* (Holotipo, topotipo macho e fêmea), quadrado rosa *Mazama rondoni*, A cruz vermelha (X) indica o topótipo coletado na Guiana Francesa e o círculo vermelho corresponde a espécie *M. gouazoubira*.

5.1.1.3 Comparação de medidas biométricas:

Foram comparadas as medidas corporais do espécimen coletado com dados biométricos obtidos em projetos com animais vivos, utilizando-se medidas de 21 animais reconhecidos como *M. nemorivaga*, entre os anos 1992 a 2016, pertencentes ao plantel do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE). Com esses dados, foi realizada uma análise de componentes principais, para detectar possíveis descontinuidades morfométricas entre eles. O resultado da análise encontra-se descrito na tabela 5.

TABELA 5. Análise de componentes principais com medidas morfológicas.

MEDIDAS	PC 1	PC 2	MEDIDAS	PC 1	PC 2
Comp. Cabeça	-0.0019633	-0.00044903	Metacarpo	0.023975	0.073521
Lar. Cabeça	0.035045	-0.041899	Tórax	0.37086	0.18397
Mandíbula	0.0163131	0.0015374	Metatarso	0.04158	0.038568
Entre Olhos	0.023973	-0.019774	Corpo	0.88851	-0.19479
Orelha	0.02113	0.043344	Cauda	-0.10021	0.576
Altura	0.092576	0.062028	Peso	0.22265	-0.43567

Foram encontrados dois fatores com mais de 5% da variação total, para cada uma das medidas biométricas. Foram retirados os fatores que apresentaram uma variância menor que 5%.

Foram encontrados dois fatores que explicam mais de 70% da variação total. O primeiro e o segundo componentes da análise explicaram 59.417% e 15.628%, respetivamente, da variância total. A medida corpo foi a que apresentou maior contribuição ao primeiro fator (PC1). No segundo fator, a medida que mais contribuiu foi cauda.

Estas observações não revelaram um padrão consistente de variação geográfica entre os indivíduos. O gráfico de dispersão construído com os valores dos espécimes nos dois primeiros componentes mostrou uma sobreposição substancial entre os grupos geográficos em ambos componentes (Figura 10).

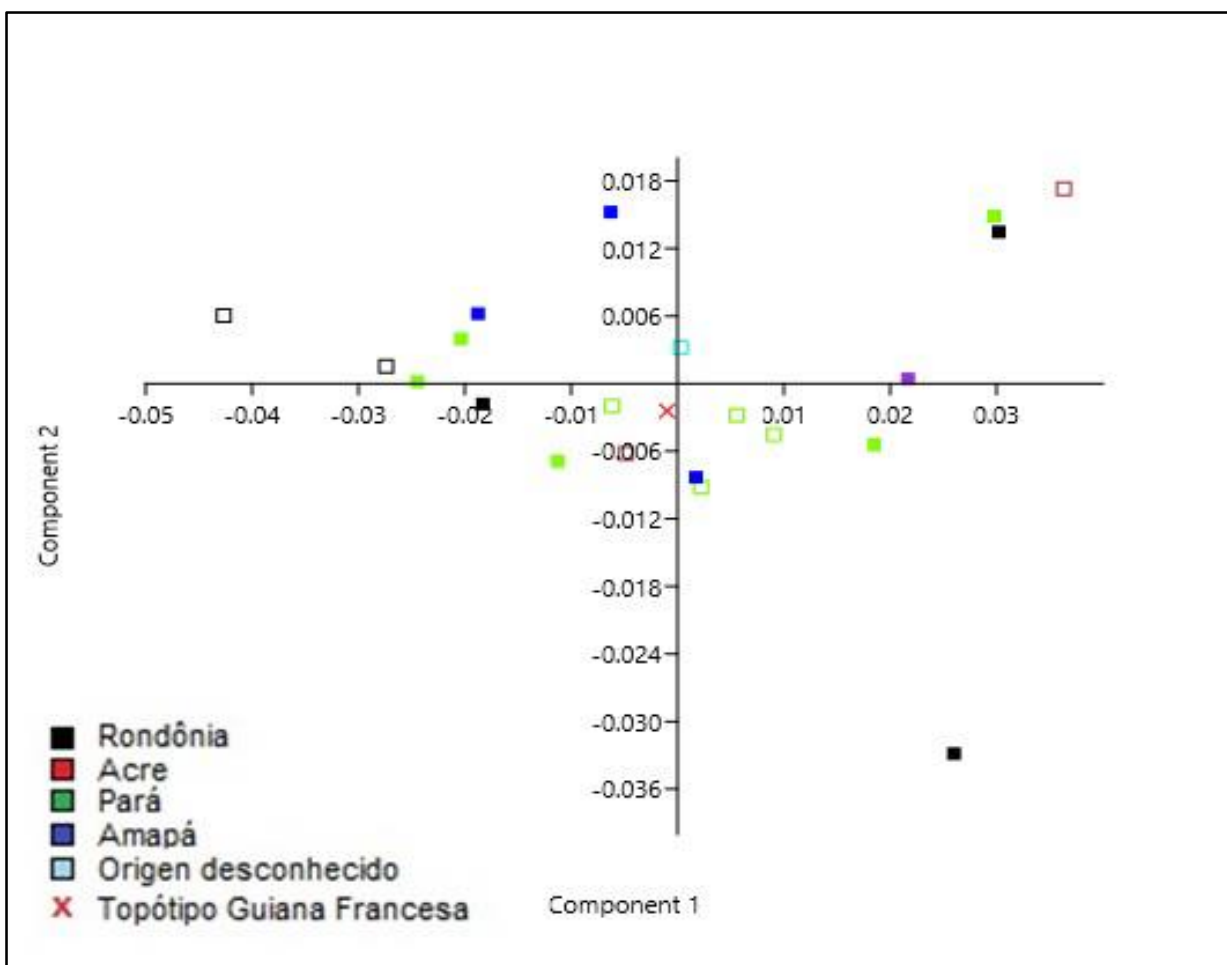


FIGURA 10: Análise de Componentes Principais (PCA) para as medidas biométricas de *M. nemorivaga*. O primeiro componente corresponde ao eixo X e o segundo componente ao eixo Y. Os quadrados preenchidos correspondem a fêmeas e quadrados sem preencher a machos. Quadrado negro: estado de Rondônia (RO); Quadrado vermelho: Acre (AC); Quadrado verde: Pará (PA); Quadrado azul: Amapá (AP); Quadrado azul claro: origem desconhecido; Cruz vermelha (X): Topotipo (Guiana Francesa).

5.1.1.4 Análise de cluster:

Foi realizada também uma análise de cluster, utilizando-se de informações biométricas de indivíduos provenientes dos seguintes estados: Rondônia (em negro), Acre (vermelho), Pará (verde), Amapá (azul), origem desconhecido (azul claro), Topotipo (Guiana Francesa, em vermelho) (Figura 11).

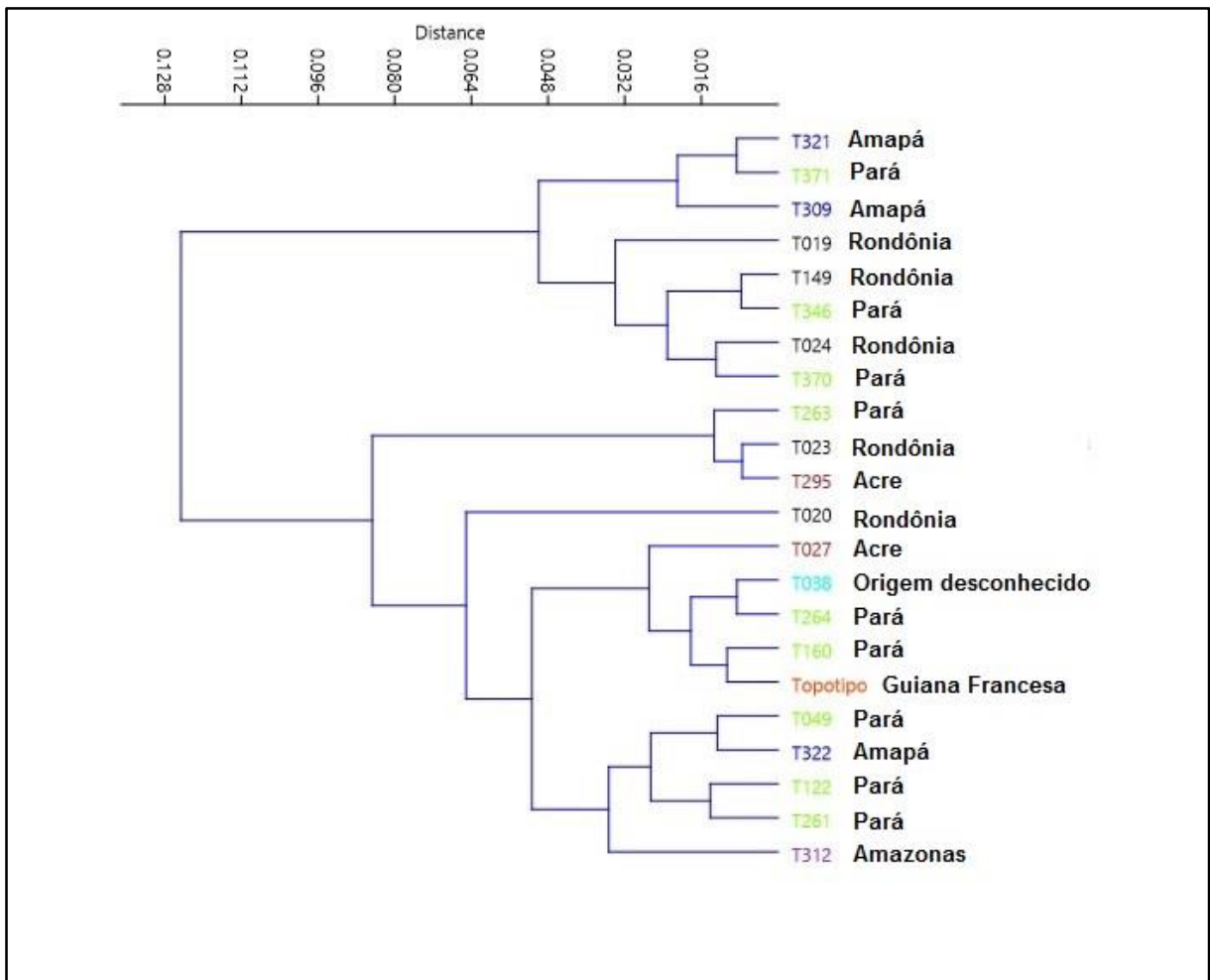


FIGURA 11: Dendrograma de análises de cluster realizado com medidas morfológicas, comparando o Topótipo (em vermelho) com animais usados em projetos com animais vivos. A árvore foi obtida usando distância Euclidiana como medida de dissimilitude.

Portanto, utilizando medidas cranianas e corporais, não foi possível a discriminação, ou identificação de um padrão morfológico para a diferenciação entre as populações.

5.1.2 Morfologia geométrica:

Foi possível a obtenção de um banco de dados com 89 landmarks do crânio topótipo de *M. nemorivaga* (Anexo 2, figura 12), que possibilitam futuras comparações em um campo de três dimensões com outros exemplares do mesmo gênero, possibilitando futuros estudos.

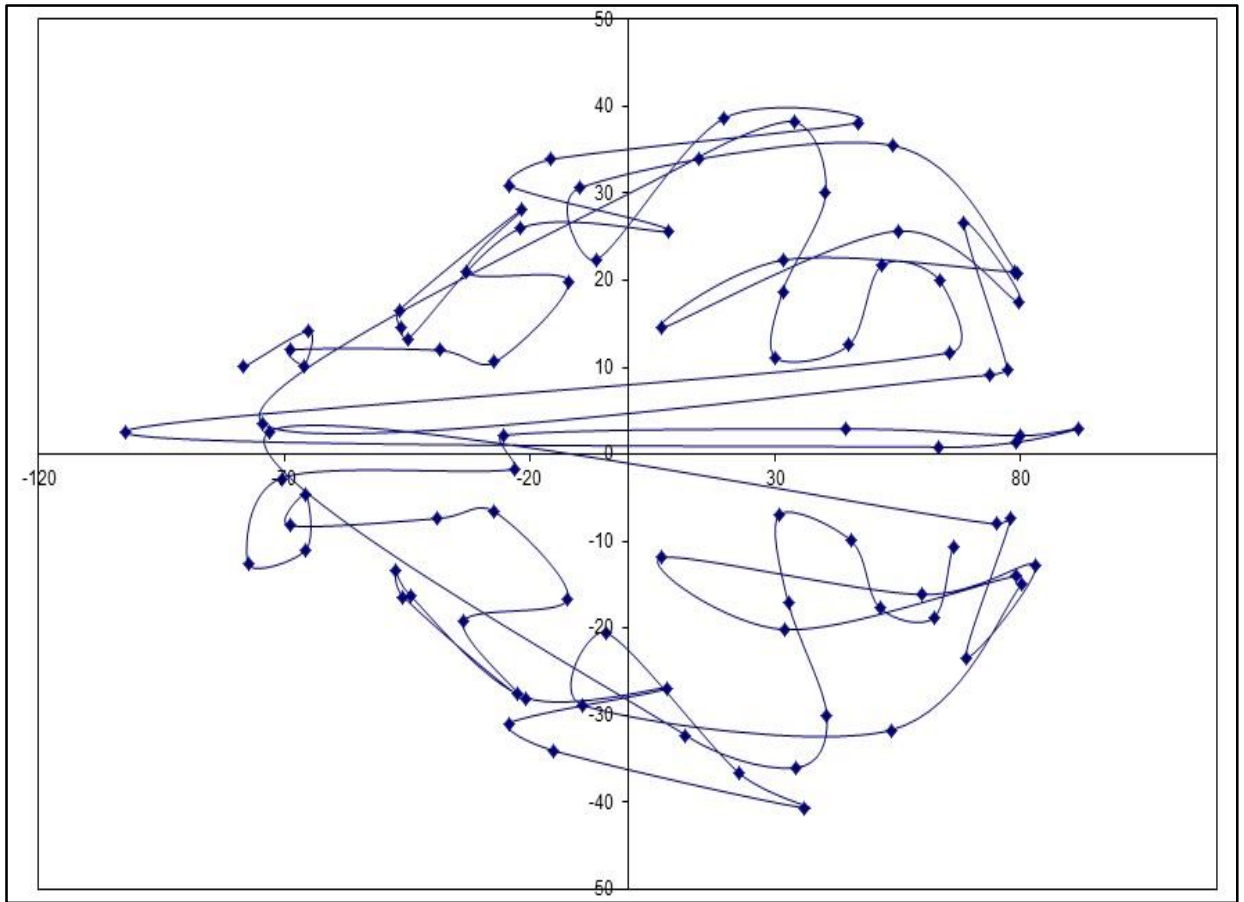


Figura 12: *Mazama nemorivaga* NPC 080. Topótipo (Guiana Francesa). Diagrama de dispersão XY, ilustrando os 89 landmarks cranianos em uma vista dorsal

5.2 Caracterização citogenética

5.2.1 Citogenética clássica

O exemplar coletado apresentou um cariótipo com $2n=69/NF=72 + 03B$, com 34 pares de cromossomos autossômicos (Figura 13).

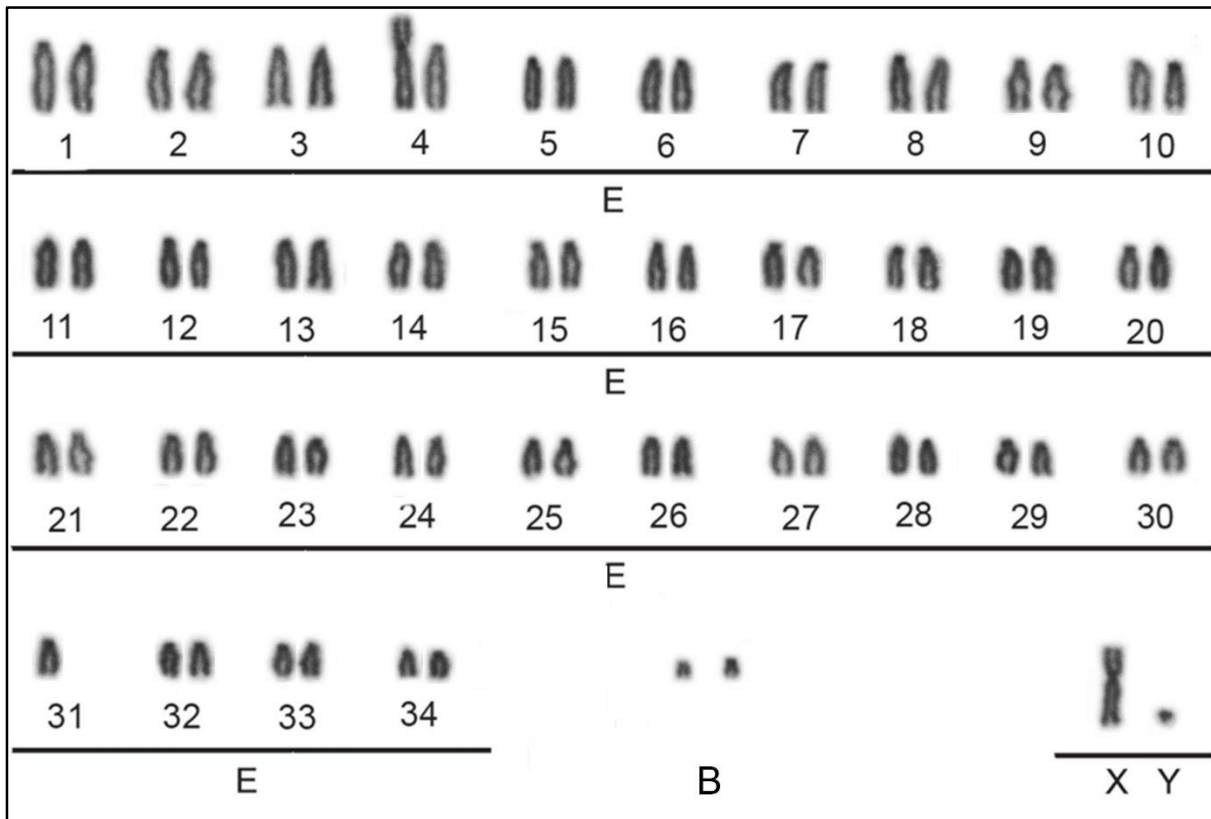


FIGURA 13. Cariótipo de um topótipo macho de *Mazama nemorivaga* sob coloração convencional Giemsa, com $2n=69/NF=72 + 02B$.

No cariótipo analisado, foi encontrada a presença de um cromossomo autossômico submetacêntrico, produto de uma Fusão Robertsoniana, na condição heterozigótica, sendo identificados mediante bandeamento G, os cromossomos envolvidos na translocação como sendo o 4 e 31, após a comparação com o cariótipo de *Mazama gouazoubira* (NIETZEL, 1987) (Figura 14)

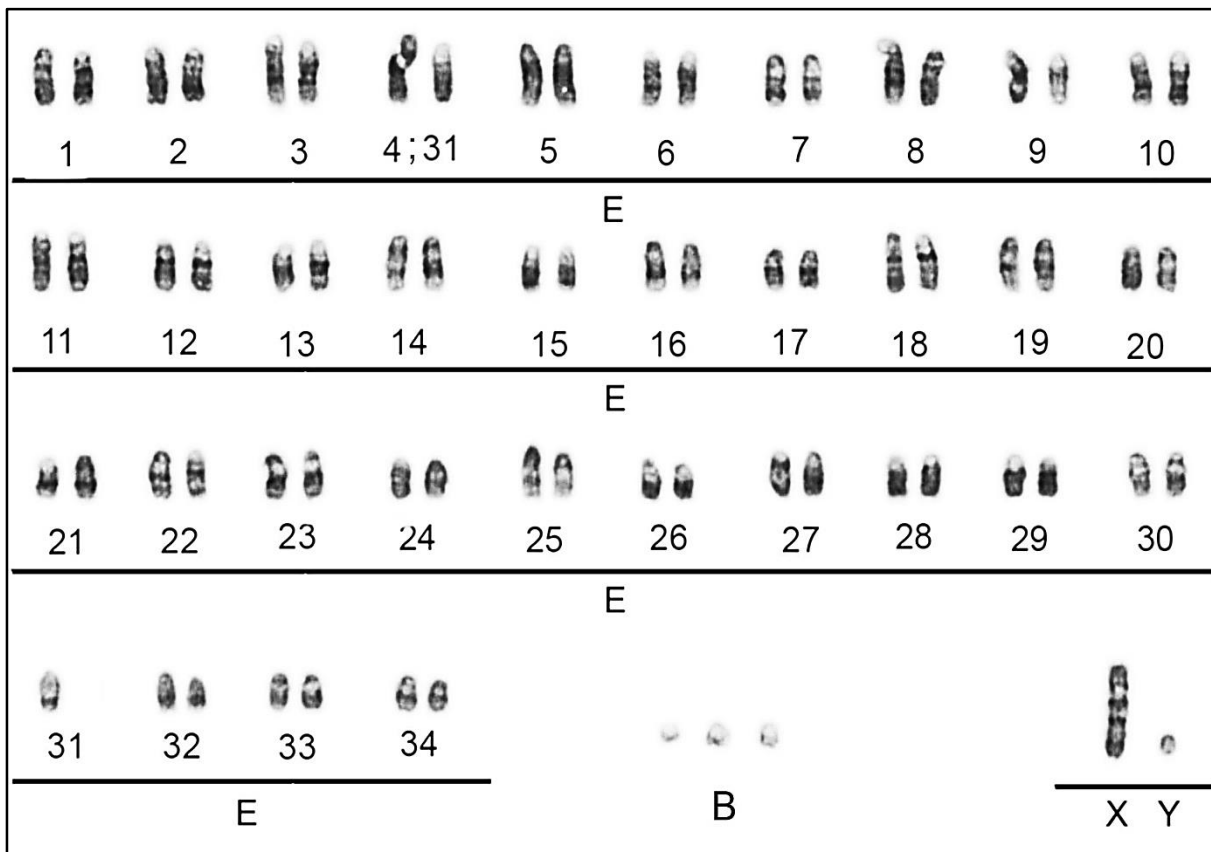


Figura 14. Cariótipo de um topótipo macho de *Mazama nemorivaga* sob bandeamento G evidenciando os cromossomos envolvidos na translocação de tipo Robertsoniana, 4 e 31.

O bandeamento C mostrou que todos os cromossomos autossômicos apresentaram blocos pericentroméricos de heterocromatina constitutiva (Figura 15). Em relação aos cromossomo sexuais, o cromossomo X apresentou um bloco heterocromático na região centromérica. A ausência da banda intersticial sugeriria que nos animais nos quais não ocorre este tipo de rearranjo possuem um sistema sexual do tipo XX/XY. O cromossomo Y mostrou-se eucromático, e os cromossomo B apresentaram-se heterocromáticos.

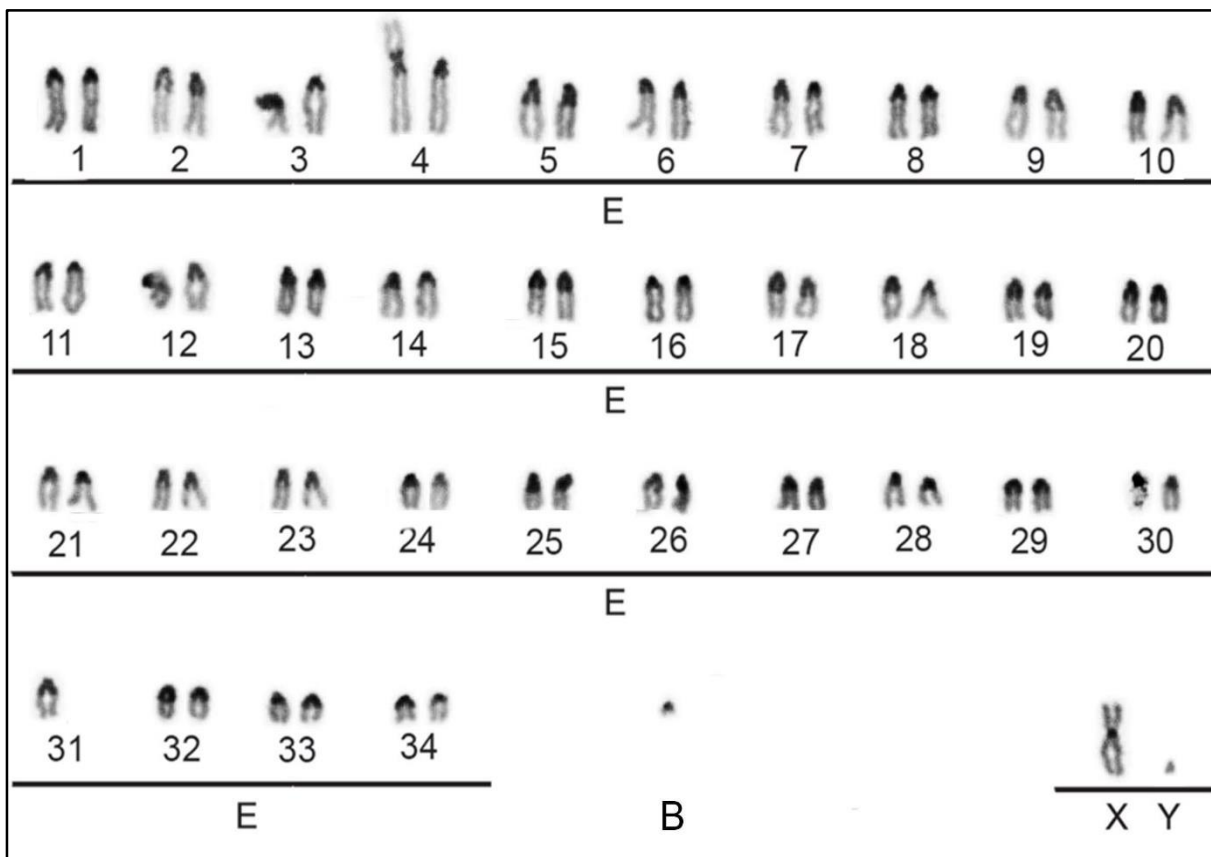


FIGURA 15. Cariótipo de um topótipo macho de *Mazama nemorivaga* sob bandeamento C. Cromossomos autossômicos apresentando blocos pericentroméricos de heterocromatina constitutiva, mostrado também no cromossomo X com um bloco heterocromático na região centromérica sem a marca intersticial no meio do braço q originada pela fusão em tandem X-autossômica, enquanto o cromossomo Y mostrou-se eucromático.

A coloração Ag-RON revelou regiões organizadoras nucleolares ativas nos dois primeiros pares de cromossomos acrocêntricos (FIGURA 16).

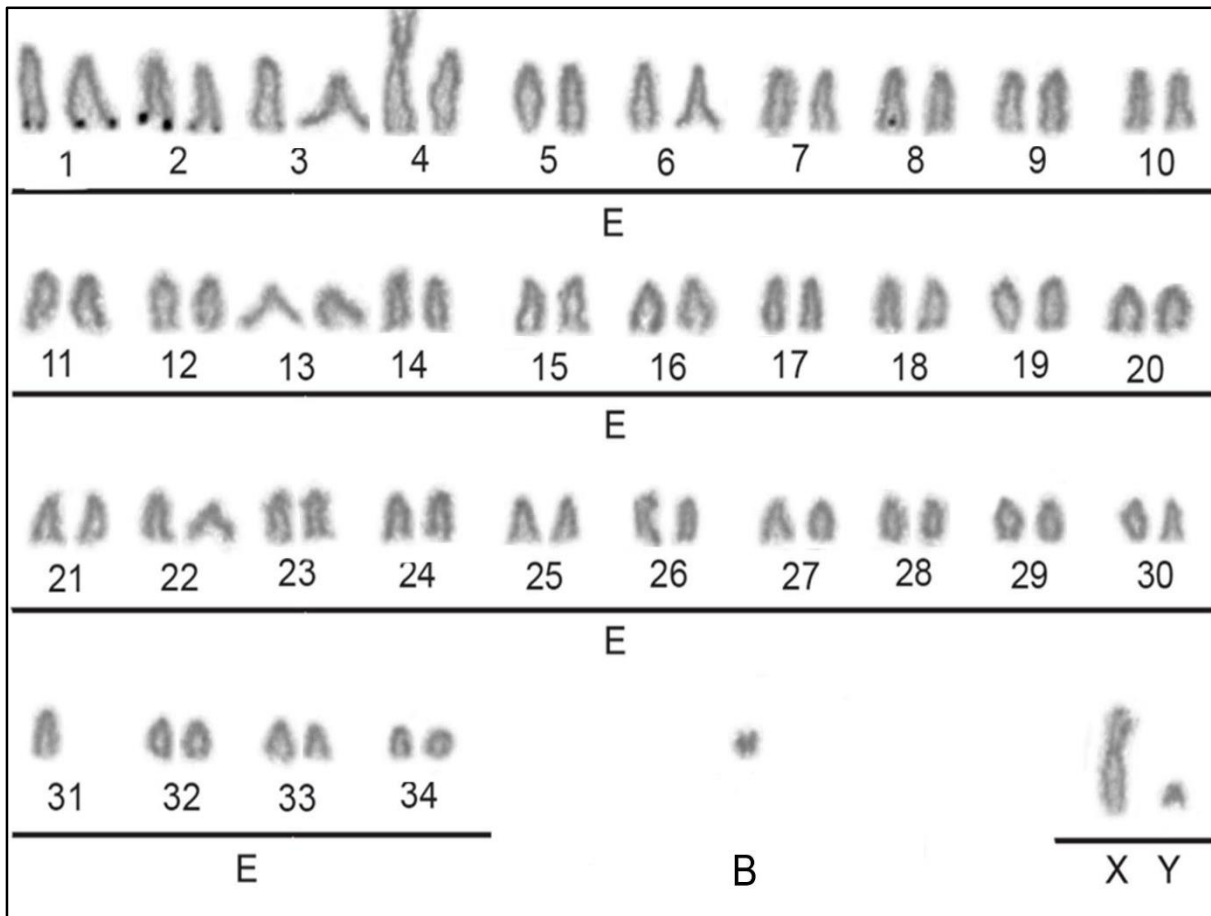


FIGURA 16. Cariótipo de *M. nemorivaga* sob impregnação com nitrato de prata, revelando regiões organizadoras nucleolares ativas nos telômeros do braço q dos pares 01 e 02.

5.2.2 FISH telomérica

Todos os cromossomos autossômicos (acrocêntricos e submetacêntricos) mostraram sinais teloméricos nas extremidades cromossômicas. O cromossomo B apresenta um intenso sinal de hibridização com a sonda telomérica. O cromossomo X não apresenta uma marcação telomérica intersticial na região mediana do braço longo, confirmando a ausência de sistema sexual múltiplo neste espécime. A Figura 17 ilustra a metáfases com hibridização *in situ* fluorescente de sondas teloméricas.

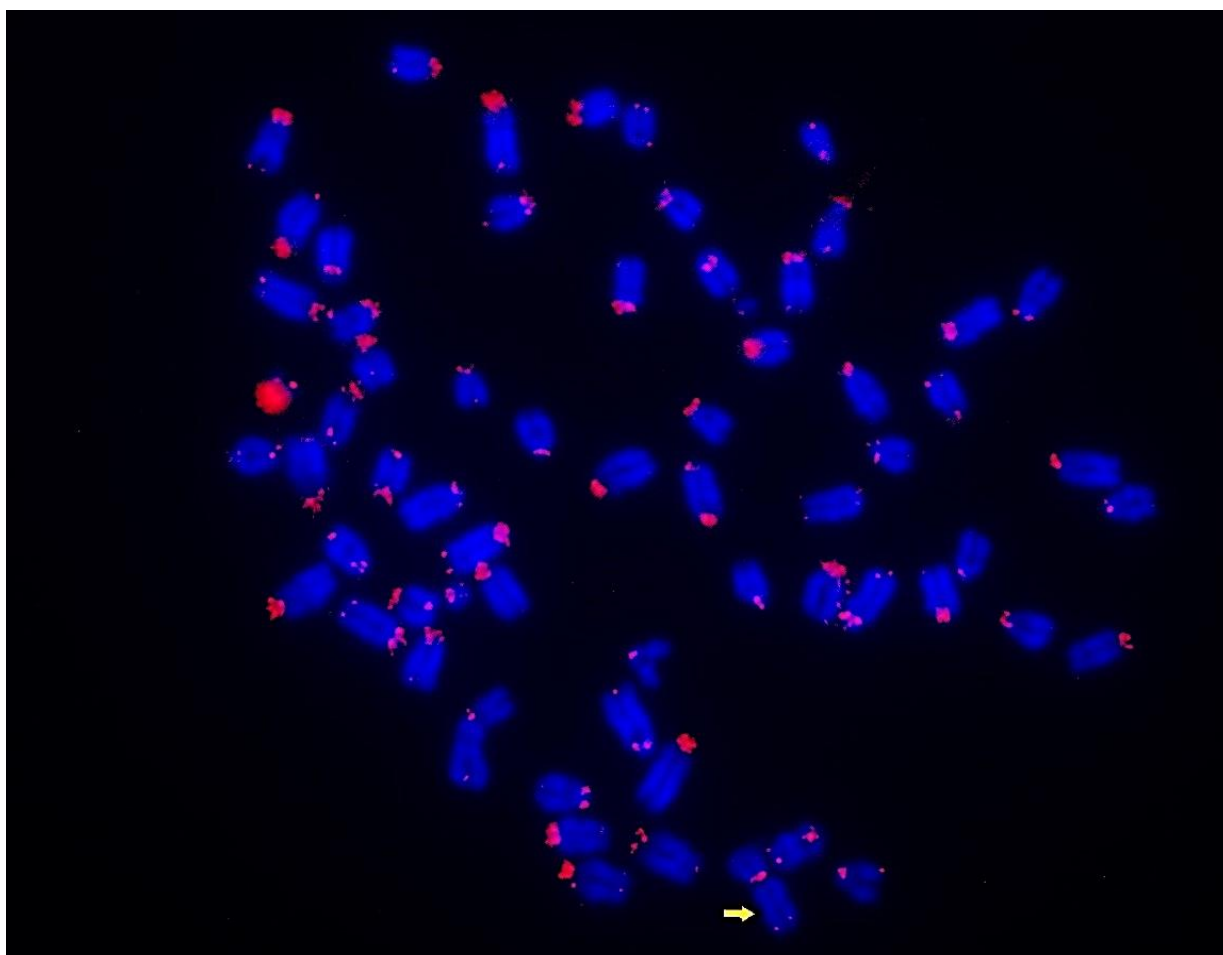


Figura 17. Hibridização *in situ* telomérica em metáfases pertencente ao topotipo de *Mazama nemorivaga*, mostrando a ausência de sitio intersticial telomérico (STI) no braço longo do cromossomo X (seta).

5.3. Caracterização molecular

Neste estudo, utilizando o fragmento do gene do Cyt B (920 pb.) com uma amostra proveniente da Guiana Francesa (Topótipo) e outras 49 obtidas do GeneBank (Anexo 2), foi evidenciado que o topotipo de *M. nemorivaga* encontra-se agrupado dentro da subtribo Blastocerina, separando-se do resto das espécies incluídas na subtribo, por elevada probabilidade posterior (85%) na Inferência Bayesiana, mas com suporte estatístico baixo em relação a Máxima Verossimilhança (51%) (Figura 18).

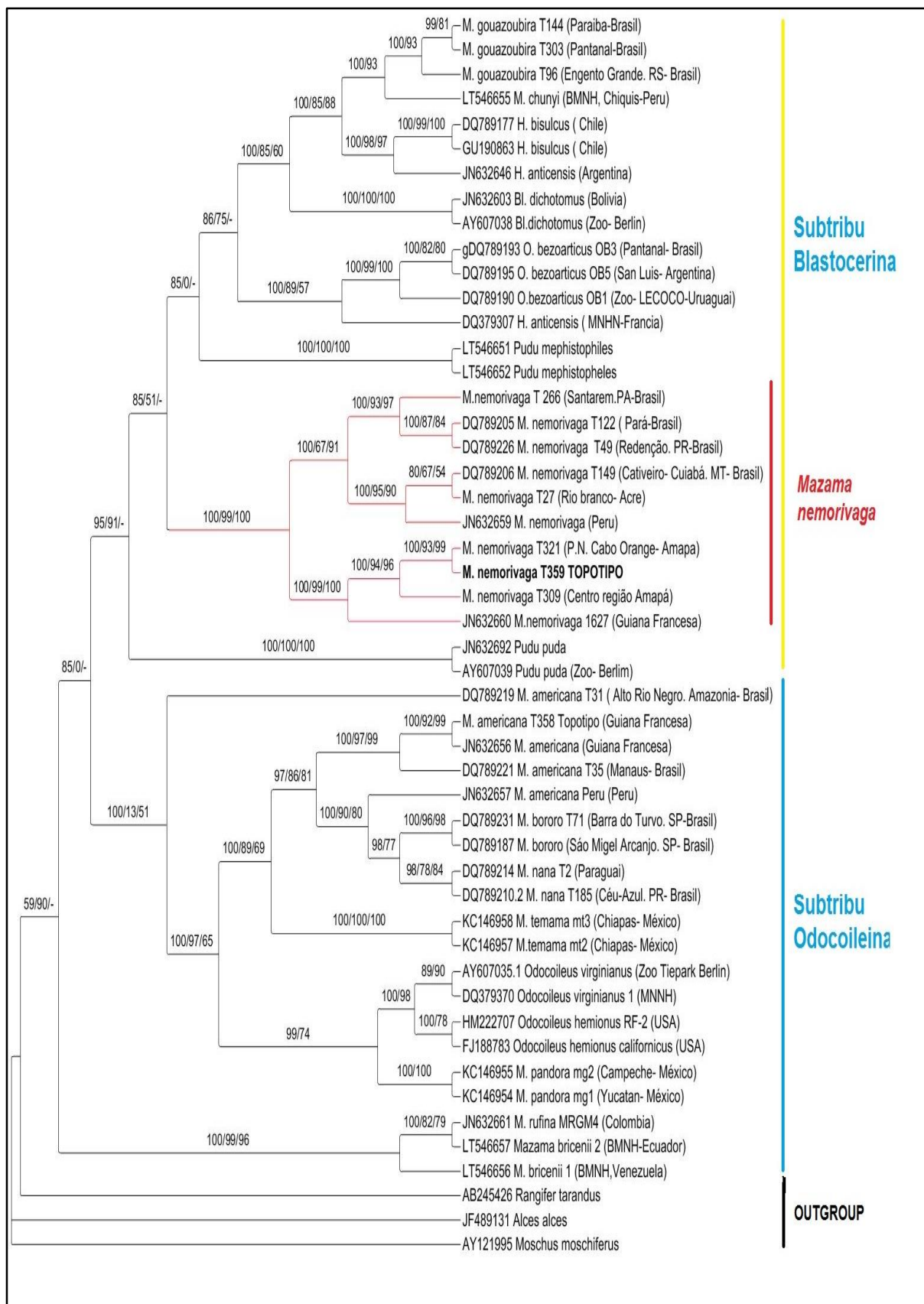


FIGURA 18: Arvore filogenética do fragmento do gene mitocondrial Cyt-B (920 pb), utilizando o modelo evolutivo HKY +G. Esta é a melhor topologia resultante de uma análise da Inferência Bayesiana, máxima verossimilhança e máxima parcimônia. Os valores representam a probabilidade posterior e suporte de “bootstrap”, da Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Máxima parcimônia respectivamente.

As análises dos três fragmentos de genes mitocondriais (Cyt-B; COI I; D-loop) dentro do clado de *Mazama nemorivaga*, teve como resultado a separação da espécie em três clados diferentes, com correlação geográfica: clado norte (Guiana Francesa, Amapá) em vermelho, clado oeste (Acre e Rondônia) em azul e clado leste (Pará) em verde (Figura 19; Figura 20; Figura 21, Figura 22), utilizando diferentes amostras para os fragmentos do gene Cyt-B e COI I. Em ambas análises o Topótipo de *M. nemorivaga* encontra-se agrupado dentro do clado norte (Guiana Francesa e Amapá). A amostra JN632656 proveniente do Peru agrupou-se dentro do clado Oeste.

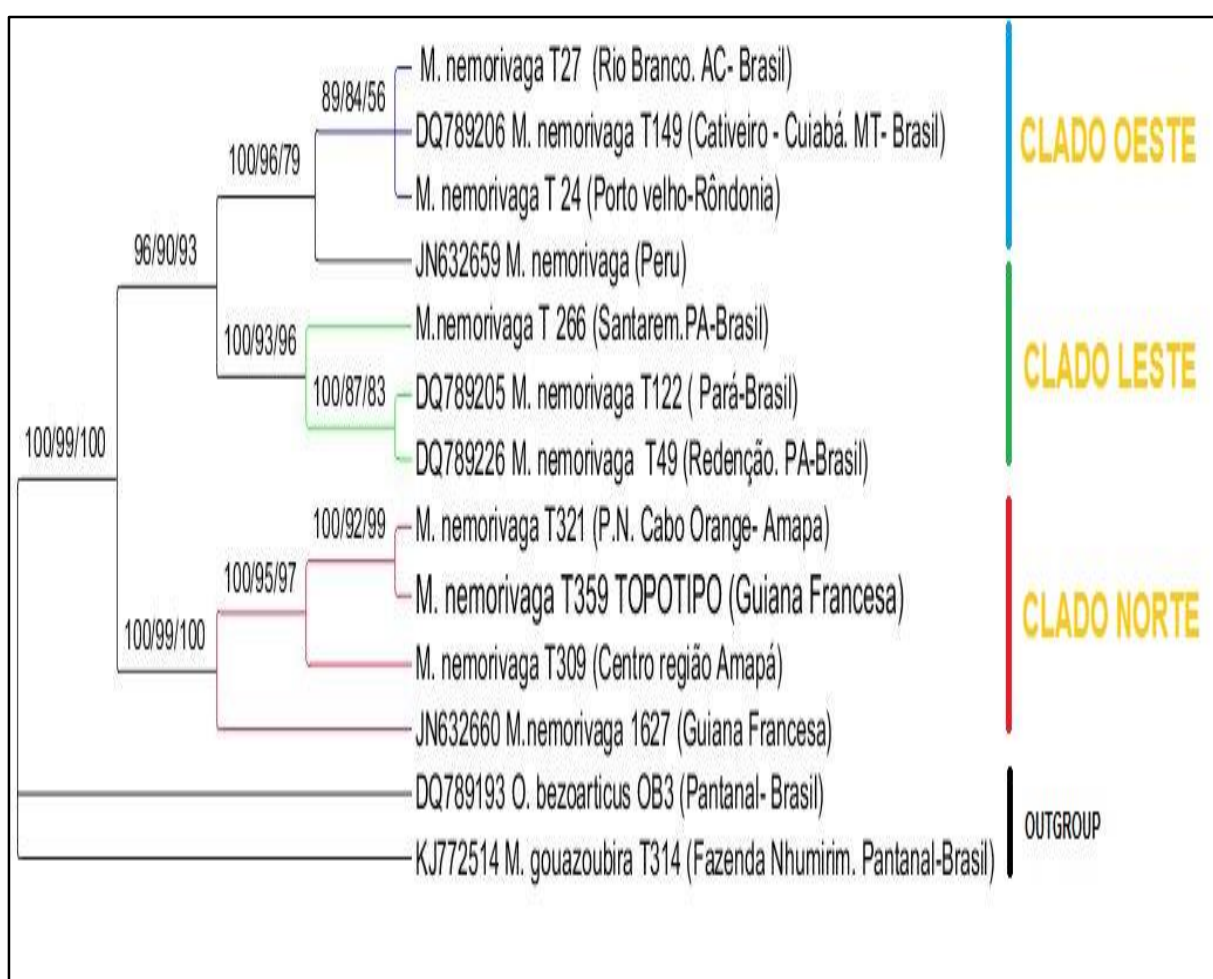


Figura 19: Árvore filogenética do gene mitocondrial Cyt-B (920 pb), utilizando o modelo evolutivo HKY + G, análises Bayesianas, Máxima Verossimilhança, e Parcimônia para o topótipo da espécie *Mazama nemorivaga* proveniente da Guiana Francesa (Vermelho). Os valores representam a probabilidade posterior e “bootstrap”, da Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Parcimônia respectivamente.

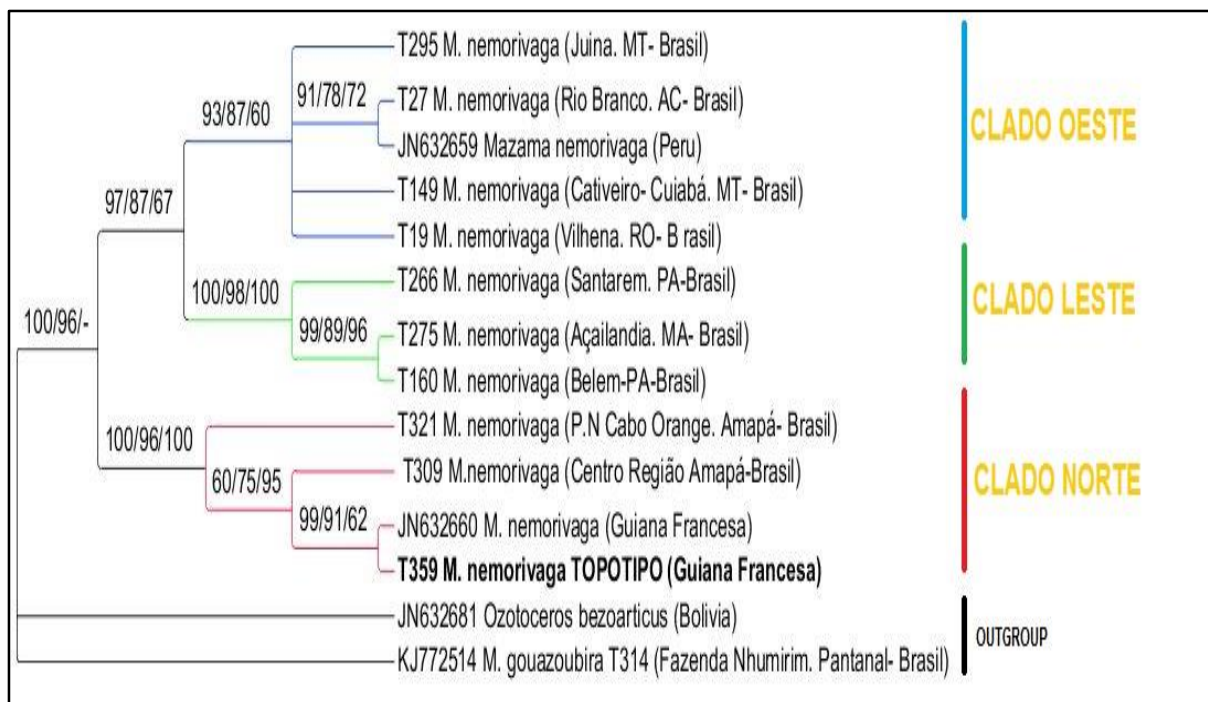


Figura 20: Árvore filogenética do gene mitocondrial COI I (658 pb), utilizando o modelo evolutivo HKY + G, análises Bayesianas, Máxima Verossimilhança, e Parcimônia para o topótipo da espécie *Mazama nemorivaga* proveniente da Guiana Francesa (Vermelho). Os valores representam a probabilidade posterior e bootstrap, da Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Parcimônia respectivamente.

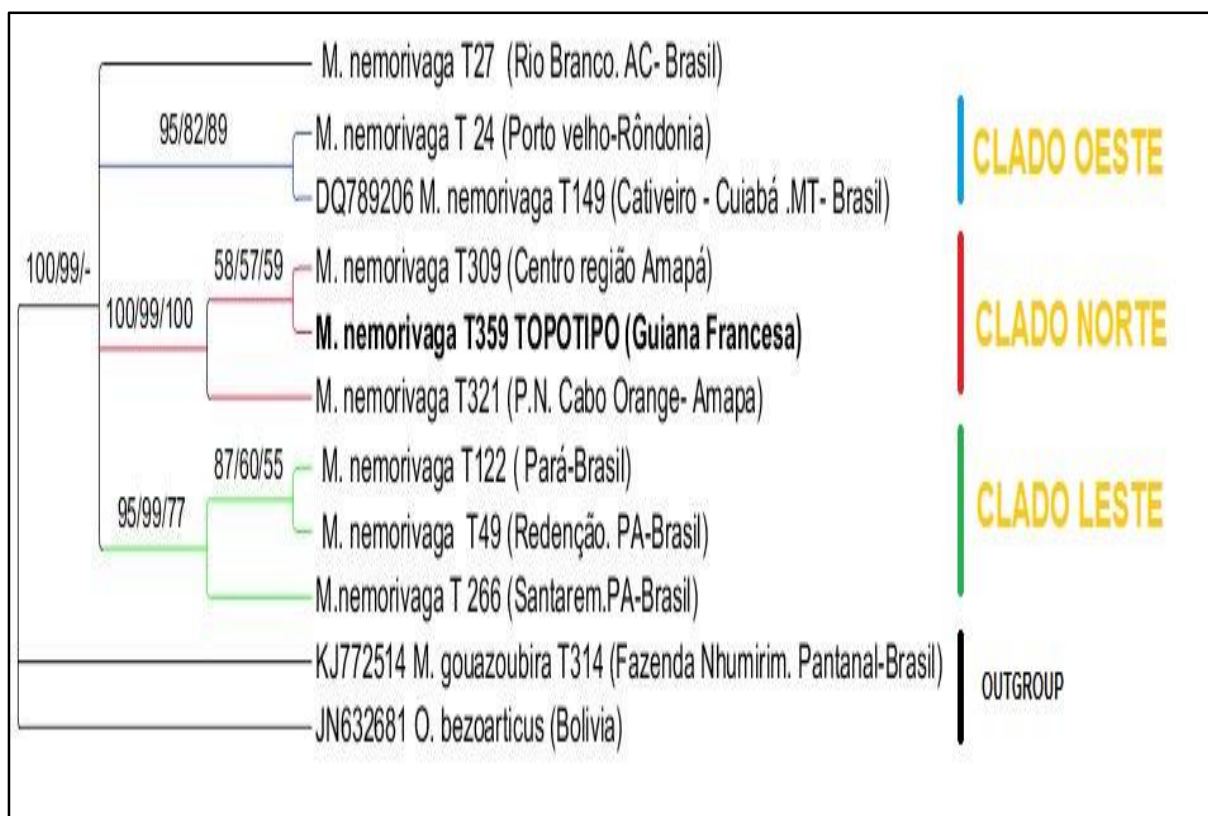


Figura 21: Árvore filogenética do gene mitocondrial D-loop (610 pb), utilizando o modelo evolutivo HKY + G, análises Bayesianas, Máxima Verossimilhança, e Parcimônia para o topótipo da espécie *Mazama nemorivaga* proveniente da Guiana Francesa (Vermelho). Os valores representam a probabilidade posterior e bootstrap, da Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Parcimônia respectivamente.

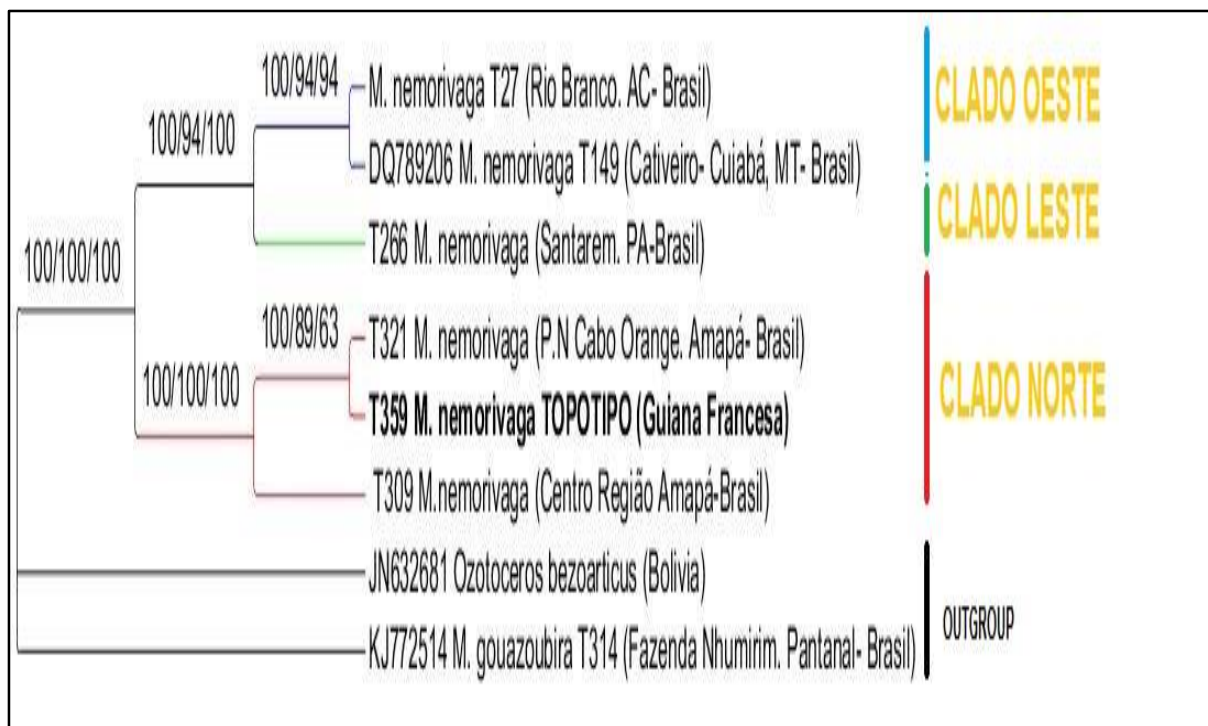


Figura 22: Árvore filogenética utilizando os marcadores mitocôndrias Cyt B, COI I, D-loop (2245 pb), modelo evolutivo utilizado HKY + G, análises Bayesianas, Máxima Verossimilhança, e Parcimônia para o topótipo da espécie *Mazama nemorivaga* proveniente da Guiana Francesa (Vermelho). Os valores representam a probabilidade posterior e bootstrap, da Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Parcimônia respectivamente.

VI. DISCUSSÃO

A grande semelhança entre *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga* levou a serem consideradas por muitos autores como uma única espécie ([referencias](#)). Entretanto, neste trabalho foi possível identificar a partir de caracteres morfológicos de pelagem e coloração, do indivíduo coletado na Guina Francesa como *M. nemorivaga*, segundo os padrões propostos por Rossi (2000) para a espécie.

Rossi (2000) evidenciou que as dimensões cranianas podem ser de utilidade na diagnose de *M. nemorivaga*. Neste trabalho foi realizada a comparação crânio-mandibular entre os holótipos das subespécies de *M. nemorivaga* e o espécime coletado na Guiana Francesa. Os resultados observados mostraram uma sobreposição entre os diferentes exemplares, entretanto houve um agrupamento, entre o espécime coletado neste trabalho e o espécime descrito como *M. nemorivaga*, (macho, juvenil) coletado na Guiana por Allen (1915). Segundo descrito por Tiepolo & Tomas (2011), o comprimento do crânio para a espécie *M. nemorivaga* encontra-se entre 164 a 193 mm; e o comprimento da série dental superior entre 62.2 e 77.9 mm, similares às medidas do topótipo analisado no presente estudo, que apresentou um comprimento total do crânio de 172,15 mm e um comprimento da série dental superior de 50,04 mm.

Assim também, Tiepolo & Tomas (2011) descreveram a espécie como a única do gênero *Mazama* que não possui tufo de pelos na região tarsal. Isso corresponde com a descrição do topótipo de *M. nemorivaga* neste trabalho, que não apresentou presença de pelos na região tarsal, bem como, com a fotografia do holótipo da espécie que também não apresentou tufo de pelos na região tarsal, evidenciando que este carácter morfológico pode ser utilizado na diagnose da espécie *M. nemorivaga* quando comparado com outros membros do gênero.

Por outro lado, Rossi (2000) propôs que a presença da mancha superciliar anterior seria um carácter que apresenta variação populacional, e essa mancha foi encontrada em quatro de oito animais no estado do Amapá referente ao trabalho citado acima. O exemplar coletado neste trabalho por sua vez, não apresentou mancha superciliar anterior, sendo até agora o único exemplar proveniente da Guiana Francesa com descrição morfológica. No museu do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) encontram-se atualmente oito animais classificados como *Mazama nemorivaga*, sendo dois deles provenientes do Amapá e outros quatro do estado do Pará, sendo que nenhum deles apresentou mancha superciliar anterior. Isto dificulta a obtenção de um padrão para a hipótese de Rossi (2000) sobre a presença de variação populacional para este carácter.

Neste estudo, avaliando-se medidas cranianas e corporais, não foi possível a discriminação, ou identificação de um padrão morfológico para a diferenciação entre as populações. Da mesma maneira, no estudo de Rossi (2000), analisando caracteres morfológicos externos das espécies do gênero *Mazama*, observou-se a existência de grande similaridade morfológica, além de uma ampla variação individual de um padrão capaz de discriminar as populações, a partir de caracteres morfológicos. Por consequência, este tipo de análise apresenta um baixo poder de resolução, não sendo possível identificar um padrão morfológico para a diferenciação de populações nesta espécie.

Os resultados das análises citogenéticas e moleculares desenvolvidas neste estudo evidenciaram um padrão de diferenciação geográfica para *M. nemorivaga*. O topótipo coletado na Guiana Francesa apresentou cariótipo de $2n=69$ $NF=72$ +01-03Bs, dados que concordam com Resende (2012) em estudo com quatro animais provenientes dos estados do Amapá e Acre, que apresentaram polimorfismo em

relação ao cariótipo padrão da espécie, devido à ocorrência da fusão Robertsoniana (duas fêmeas apresentaram o cariótipo variante $2n=69/NF=72$, e dois machos variantes com $2n=67/NF=70$ e $2n=69/NF=72$). Fiorillo *et al.* (2013) propuseram que este tipo de rearranjo em algumas populações podem gerar isolamento reprodutivo, indicando algum grau de diferenciação das populações.

Por outro lado, os 34 pares de cromossomos autossômicos encontrados no animal coletado, pode ser explicado por este exemplar não possuir a fusão X-autossômica, entre o último par cromossômico (34) e a parte distal do cromossomo X, que gera o sistema sexual múltiplo. O exemplar proveniente da Guiana Francesa apresentou um sistema sexual do tipo XX/XY, e não o sistema sexual múltiplo descrito por Fiorillo *et al.*, (2013), entretanto, no estudo de Resende (2012) três animais não apresentaram a fusão X-autossômica, sendo que dois desses animais foram originados do estado do Amapá (Amazônia oriental, sobre o rio Amazonas) e um do Acre (Amazônia ocidental, abaixo do rio Amazonas).

Os animais descritos por Fiorillo *et al.*, (2013) com sistema sexual múltiplo tinham suas origens no Mato Grosso, Pará e Maranhão (Amazônia central). A fusão X-autossômica deve gerar uma barreira reprodutiva e pode ser um mecanismo de especiação neste táxon, indicando a presença de mais de uma espécie dentro de *M. nemorivaga*. Uma delas, corresponde à região da Amazônia oriental (Amapá e Guiana Francesa, 34 pares de cromossomos autossômicos), outra na região da Amazônia central (Mato Grosso, Pará e Maranhão, 33 pares de cromossomos autossômicos), e outra na Amazônia ocidental (Acre, 34 pares de cromossomos autossômicos).

Os cromossomos B encontrados neste estudo variam de 1 a 3 no topótipo de *M. nemorivaga*, os quais apresentaram uma banda pericentromérica de heterocromatina constitutiva e os braços cromossômicos foram eucromáticos,

evidenciado mediante bandeamento C. Em estudos anteriores desenvolvidos por Resende (2012) foi encontrada uma variação de 2 a 4 cromossomos B na população do Acre, e uma variação de 4 a 6 cromossomos na população de Amapá, sendo todos classificados como heterocromáticos quando foram submetidos a bandeamento C. Fiorillo *et al.* (2013), trabalhando com animais provenientes de diversas áreas de Amazônia central (Matto Grosso, Pará, Rondônia e Maranhão) encontraram uma variação de 4 a 7 cromossomos B, sendo alguns deles classificados como eucromáticos e outros como heterocromáticos. Camacho (2000) relacionou a natureza heterocromática da maioria desses cromossomos à presença de DNA repetitivo. Portanto, não existem cromossomos B com um padrão heterocromático para esta espécie, pelo tipo de cromatina encontrada sugere-se existência de mais de dois tipos de cromossomos B na espécie *M. nemorivaga*.

Em relação à filogenia molecular, neste estudo foi possível confirmar o polifiletismo do gênero *Mazama*, com alta resolução e suportes estatísticos elevados, concordando com os resultados de Heckeberg *et al.*, (2016), que detectaram dois clados, uma subtribo Blastocerina e subtribo Odocoileina, tendo como distinção a posição de *Pudu mephistopheles* (LT546651; LT546652) na topologia resultante, que agrupou-se dentro da subtribo Blastocerina.

As amostras de *M. nemorivaga*, se agrupam como um clado monofilético, a amostra 1612 (JN632660) apresenta uma condição plesiomorfica em relação as demais amostras do clado. São identificados três clados separados com correlação geográfica, amostras do Pará (clado leste) e Rondônia e Acre (clado oeste), exibem uma cladogeneses, encontrando-se separadas das amostras de amapá e Guiana Francesa (clado norte). Foi possível obter um padrão filogeográfico para a espécie *M. nemorivaga* com três abordagens diferentes (Inferência Bayesiana, Máxima

Verossimilhança, Máxima Parcimônia) para três marcadores mitocondriais, concordando com o proposto por Duarte *et al.*, (2008) e Figueiredo (2012).

Duarte *et al.*, (2008) com amostras provenientes de Rondônia e Pará, sugeriram a possibilidade da existência de duas espécies dentro do que hoje é considerado *M. nemorivaga*. Por sua vez, Figueiredo (2012) em uma análise filogenética mais aprofundada e com amostras provenientes da Amazônia oriental, agregou mais um clado à hipótese proposta por Duarte *et al.* (2008).

Finalmente, a espécie *Mazama nemorivaga* se encontraria subdividida, com base na caracterização citogenética e caracterização molecular do topotipo, em três grupos diferentes: Norte (Guiana Francesa e Amapá, com 34 pares de cromossomos autossômicos); Leste (Pará, com 33 pares de cromossomos autossômicos) e Oeste (Acre, com 34 pares de cromossomos autossômicos). Como consequência disto, há necessidade da denominação de um novo gênero para o que hoje corresponde a espécie *Mazama nemorivaga*, pois o gênero *Mazama* é polifilético dentro da subtribo Blastocerina.

Diante do exposto, o topótipo de *M. nemorivaga* apresenta características morfológicas, citogenéticas e moleculares, similares aos indivíduos da população do Amapá, como consequência disso, a real distribuição da espécie se encontraria restrita aos territórios da Guiana Francesa, Suriname, Guiana, e norte do Brasil, pelo fato de não existir uma barreira geográfica importante que possa isolar as populações. Entretanto já nas populações do norte da Venezuela, se espera uma separação em relação aos demais indivíduos da região norte amazônica, por possuir um padrão morfológico diferente, nesta hipóteses o rio Orinoco poderia atuar como um fator importante na diferenciação da espécie.

VII. CONCLUSÕES

O presente trabalho caracterizou um topótipo da espécie *M. nemorivaga*, o qual apresentou características morfológicas de acordo com o padrão da espécie. Adicionalmente, corroboramos a identificação do caractere diagnóstico, ausência de tufo de pelos na região tarsal, exclusivo para *Mazama nemorivaga*.

Com relação aos resultados citogenéticos, há diferença cariotípica do topótipo coletado proveniente da Guiana Francesa e citótipos da Amazônia Central (Mato Grosso, Pará, Maranhão), porém semelhante a amostras da Amazônia ocidental (Acre e Rondônia). Concomitantemente, os resultados filogenéticos revelam clados particulares, correspondentes aos padrões citogenéticos e com a distribuição geográfica.

Neste estudo, ficou evidenciado que existem diferenças entre amostras da Amazônia oriental (Guiana Francesa e Amapá), Amazônia central e Amazônia Ocidental, como unidades evolutiva significativa (ESU), indicando possivelmente a existência de três espécies distintas pertencentes ao complexo *Mazama nemorivaga* no Brasil.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRIL, V.V., DUARTE, J.M.B. Chromosome polymorphism in the Brazilian dwarf brocket deer, *Mazama nana* (Mammalia, Cervidae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 53-57, 2008.

ABRIL, V.V., DUARTE, J.M.B. **Evolução cromossômica no veado-mateiro- *Mazama americana* (MAMMALIA; CERVIDAE)**. 2009. 108 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

ALLEN, A. Notes on American deer of the genus *Mazama*. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. New York, v. 34, p.521-553, 1915.

AVILA-PIRES, F. D. As formas sul-americanas do “veado-virá”. **Anais da academia Brasileira de Ciências**, v. 31, n 4, p. 547-556, 1959.

AZEVEDO, A. D. K. **Análise comparativa do período de atividade entre duas populações de *Mazama americana* (Veadão-mateiro)**. 2008. 44 f. Tese (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Universidade de São Paulo, Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2008.

BARRIGA-BONILLA, E. Estudios mastozoológicos colombianos, II. **Caldasia**, v. 9, n 45, p. 491-502. 1966.

BICKFORD, D., LOHMAN, D. J., SODHI, N. S., NG, P. K., MEIER, R., WINKER, K., DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 3, p. 148-155, 2007.

BISBAL, F.J. Distribución y taxonomía del venado matacán (*Mazama* sp) en Venezuela. **Acta Biológica Venezolana**, v. 13, n. 1-2, p. 89-104, 1991.

BOOKSTEIN, F. L. **Morphometric tools for landmark data**. Cambridge University Press. New York. 1991.

BROOKE, V. On the classification of the Cervidae, with a synopsis of the existing species. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v.1, p. 883-928, 1878.

CABRERA, A. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. **Revista Museo Argentino Bernardino Rivadavia**. Argentina. v. 4. p. 309-732. 1961.

CAMACHO, J.P.M., SHARBEL, T.F., BEUKEBOOM, L.W. B-chromosome evolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B**, London, v. 355, p. 163-178, 2000.

CAPANNA, E; CIVITELLI, M. V.; CRISTALDI, M. Chromosomal rearrangement, reproductive isolation and speciation in mammals. The case of *Mus musculus*. **Bolletino di zoologia**, London, v.44, p.213-246, 1977.

COOKE, G. M., CHAO, N. L., BEHEREGARAY, L., Marine incursions, cryptic species and ecological diversification in Amazonia: The biogeographic history of the croaker genus *Plagioscion* (Sciaenidae) **Journal of Biogeography**, v. 39, n. 4, p. 724-738, 2012.

CROITOR, R. Deer from Late Miocene to Pleistocene of Western Palearctic: Matching fossil record and molecular phylogeny data. **Zitteliana**, 2014, p115-153.

CURSINO, M, S., DUARTE, J.M.B. Using sperm morphometry and multivariate analysis to differentiate species of gray *Mazama*. **Royal Society Open Science**, v. 3, n. 11, p. 160345, 2016.

CUVIER, G.L.C.F.D. Dictionnaire des Sciences Naturelles. **Zoologie. Mammiferes**. F.G. Levrault, Paris, v.7, n.1, p. 534, 1817.

CUVIER, G.L.C.F.D. Recherches sur les ossemens fossiles de quadrupèdes, ou l'on rétablit les caracteres des plusieurs espèces. **D'animaux que les révolutions du Globe ont paroissent avoir détruites**. 2nd edition. Edmond D'Ocagne, Paris 4. 1821.

CZERNAY, S. Die Spiesshirsche und Pudus: die Gattungen *Mazama* und *Pudu* A. **Ziensen, Wittenberg Lutherstadt. Die Neue Brehm-Bucherei Heft**, v. 581, p. 84, 1987.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. Biology. **Biological Journal of the Linnaean Society**, v. 85, n. 3, p. 407-415, 2005.

DE QUEIROZ, K. Species concepts and species delimitation. **Systematics Biology**, v 56, p. 879-886, 2007.

DE OLIVEIRA, M. L. DE FARIA PERES, P. H., VOGLIOTTI, A., GROTTA-NETO, F., DE AZEVEDO, A. D. K., CERVEIRA, J. F., DUARTE, J. M. B. Phylogenetic signal in the circadian rhythm of morphologically convergent species of the Neotropical deer. **Mammalian Biology-Zeitschrift fur Saugetierkunde**, v. 81, n. 3, p. 281-289, 2016.

DORADO-PÉREZ, G. Prácticas generales de bioquímica y biología molecular. Departamento de bioquímica y biología molecular. **Universidad de Córdoba**, España. Disponível em: <<http://www.uco.es/dptos/bioquimicabiomol/pdfs/47%20SEQUANCIACI%C3%93N%20DNA.pdf>>. 2012.

DUARTE, J.M.B. **Aspectos taxonômicos e citogenéticos de algumas espécies de cervídeos brasileiros**: Dissertação (Mestrado Melhoramento Genético Animal). Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal. p.153. 1992.

DUARTE, J.M.B., VOGLIOTTI, A., ZANETTI, E.S., OLIVEIRA, M.L., TIEPOLO, L.M., RODRIGUES, L.M., ALMEIDA, L.B. Avaliação do risco de Extinção do Veado-roxo *Mazama nemorivaga* Cuvier, 1817, no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 3, p. 68-73, 2012.

DUARTE, J.M.B & JORGE, W. Chromosomal polymorphism in several populations of deer (genus *Mazama*) from Brazil. **Archivos de Zootecnia**, v. 45, n. 170, p. 281-287, 1996.

DUARTE, J.M.B & JORGE, W. **Análise citotaxonômica dos *Mazama* cinzas do Brasil (*Mazama gouazoubira* e *Mazama rondoni*)**. In: Análise citogenética e taxonômica do gênero *Mazama* (Cervidae; Artiodactyla) no Brasil (J.M.B. Duarte, author) **Dissertação** (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brasil. 1998.

DUARTE, J.M.B. & JORGE, W. Morphologic and cytogenetic description of the small red brocket (*Mazama bororo* Duarte, 1996) in Brazil. **Mammalia**, v. 67, p.403-410, 2003.

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

DUARTE, J.M.B., GONZALEZ, S. **Neotropical Cervidology. Biology and Medicine of Latin American Deer**. Jaboticabal: FUNEP e IUCN, 2010, 394p.

DUARTE, J.M.B., MERINO, M.L. Taxonomia e Evolução, in: Duarte, J.M.B (Ed.), **Biologia e conservação de Cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama***. FUNEP, Jaboticabal. p. 1-21, 1997.

DUARTE, J. M. B., RAMALHO, M. F. D. T., LIMA, V. F.H, JORGE, W. A leukocyte cryopreservation technique for cytogenetic studies. **Genetics and Molecular Biology**. Ribeirão Preto, v. 22, n.3, p.399-400, 1999.

EISENBERG, J.F. The contemporary Cervidae of Central and South America. In: E.S. Vrba and G.B. Schaller (eds.). **Antelopes, deer, and relatives. Fossil record behavioral ecology, systematic, and conservation**. Yale University Press, New Haven and London, 2000, p 189-202.

EISENBERG, J.F. **Mammals of the neotropics. The northern Neotropics. Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana**. University of Chicago, 1989, 449 p.

EISENBERG, J. F., REDFORD, K. M. **Mammals of the neotropics: the Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil**. University of Chicago Press, Chicago, v. 3, 1999, 609 p.

FIORILLO, B.F., SARRIA-PEREA, J.A., ABRIL, V.V., DUARTE, J.M.B. Cytogenetic description of the Amazonian brown brocket *Mazama nemorivaga* (Artiodactyla; Cervidae). **Comparative cytogenetics**, v. 7, n. 1, p. 25-31, 2013.

FIGUEIREDO, M. **Filogenia e taxonomia dos veados cinzas (*Mazama gouazoubira* e *M. nemorivaga*)**. 108 f. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014

FISHER, G. Tabulis Synopticus Illustrata. **Zoognosia**. Typis Nicolai Segeidis Vsevolosky, Mosque, v. 3, n. 1, p. 465, 1814.

FONSECA, G., DERYEKE, S., MOENS, T. Integrative taxonomy in two free-living nematode species complexes. **Biological Journal of Linnean Society**, v. 94, p. 737-753, 2008.

FONTANA, F., RUBINI, M. Chromosomal evolution in Cervidae. **BioSystems**, Amsterdam, v. 34, p, 157-174, 1990.

GILBERT, C., ROPIQUET, A., HASSANIN, A. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia; Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. **Molecular. Phylogenetic and Evolution**, v. 40, p. 101-117, 2006.

GOLFUSS, A. **Handbuch deer zoologie**. Scharg, v, 2, 1820.

GONZALEZ, S., MALDONADO, J.E., ORTEGA, J., TALARICO, A.C., BIDEGARAY-BATISTA, L., Duarte, J.M.B. Identification of the endangered small red brocket deer (*Mazama bororo*) using noninvasive genetic technique (Mammalia: Cervidae). **Molecular Ecology Resources**, v. 9, n. 3, p 754- 758, 2009.

GROOVES, C.P. & GRUBB, P. Relationships of living deer. in: Wemmer, C.M. **Biology and Management of the Cervidae**. Washington: Smithsonian Institution Press, v. 1, p .21-59, 1987.

GRUBB, P. Order Artiodactyla. in: **Mammal species of the World. A taxonomic and Geographic reference** (D.E. Wilson and D.M. Reeder, eds) The Jonhs Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. USA, v. 1, p. 637-722, 2005.

GUTIERREZ, E., MALDONADO, J.E., RADOSAVLJEVIC, A., MOLINARI, J., PATTERSON, B.D., MARTINEZ-C, J.M, HELGEN, K.M. The taxonomic status of *Mazama bricenii* and the significance of the Táchira depression for mammalian endemism in the Cordillera de Merida, Venezuela. **PloS one**, v. 10, n. 6, p e0129113, 2015.

GUINDON, S., DUFAYARD, J. F., LEFORT, V., ANISIMOVA, M., HORDJIK, W., GASCUEL, O. PhyML*. New algorithms and methods to estimate Maximum-Likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. **Systematics Biology**, v.59, n. 3, p. 307-321, 2010.

GUSTAVSSON, I., SUNDT, C. O. Three polymorphic chromosome systems of centric fusion type in a population of Manchurian Sika deer (*Cervus Nippon hortulorum* Swinhoe). **Chromosoma**, Berlin, v. 28, p. 245-254, 1969.

HAMMER Ø., HARPER, D. A. T., RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. 4(1): 9pp. Disponivel em: <http://palaeo-eletronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>, **Paleontologia Electronica**, 2001.

HASSANIN, A., DELSUC, F., ROPIQUET, A., HAMMER, C., VAN VUUREN, B.J., MATTHEE, C., RUIZ-GARCIA, M., CATZEFLIS, F., ARESKOU, V., NGUYEN, T.T., COULOX, A. Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia; Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. **Comptes Rendus Biology**, v.335, p. 32-50. 2012.

HECKEBERG, N.S., ERPENBECK, D., WORHEIDE, G., ROSSNER, G.E. Systematic relationship of five newly sequenced cervid species. **PEERJ**, v 4, p. e2307, 2016.

HERSHKOVITZ, P. Mammals from British Honduras, Mexico, Jamaica and Haiti. **Fieldiana Zoology**, v. 31, p 547-569, 1951.

HEY, J. On the failure of modern species concepts. **Trends in Ecology and Evolution**, v 21, p. 447-450, 2006.

IUCN. IUCN Red List Threatened Species. IUCN Red List Unit, **International Union for Conservation of Nature and Natural Resources**, Cambridge, United Kingdom, 2017. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>.

JANIS, C. M. A climatic explanation for pattern of evolutionary diversity in ungulates mammals. **Paleontology**, v. 32, n. 3, p. 463-481, 1989.

JORGE, W., BENIRSCHKE, K. Centromeric heterocromatin and G-banding of the red brocket deer *Mazama Americana temama* (Cervidae: Artiodactyla) with probable non-Robertsonian translocation. **Cytologia**, v.42, p.711-721, 1977.

KASAHARA, S. **Introdução a Pesquisa em Citogenética de Vertebrados**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2009, 160p.

KELLOGG, R. Three new mammals from the Pearl Islands, Panama. **Proceeding of the Biological Society of Washington**, v. 59, p 57-62, 1946.

KNOWLES, L.L. & CARSTENS, B.C. Delimiting species without monophyletic gene tree. **Systematic Biology**, v 56, p. 887-895, 2007.

LEVAN, A., FREDGA, K., SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position of chromosome. **Hereditas**, v.52, p. 201-219, 1964.

LIU, K., RAGHAVEN, S., NELESEN, C., LINDER, R., WARNOW, T. SATé* Rapid and accurate large scale coestimation of sequence alignment and phylogenetic tree. **Science**, v 328, n. 5934, p. 1561-1564. 2009.

MARTINS, G.S. Avaliação da existencia de isolamento reprodutivo entre duas espécies de veado cinzas (*Mazama gouazoubira* e *Mazama nemorivaga*) por meio de machos híbridos. 2015. 57 f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)**. Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho”, Jaboticabal, Brasil, 2015.

MAKUNIN, A.I., KICHINGIN, I.G., LARKIN, D.M., O'BRIEN, P.C., FERGUSON-SMITH, M.A., YANG, F., GRAPHODATSKY, A.S. Contrasting origin of B chromosome in two cervids (Siberian roe deer and grey brocket deer) unravelled by chromosome-specific DNA sequencing. **BCM genomics**, v. 17, n. 1, p. 618, 2016.

MATTIOLI, S. Family Cervidae (Deer). **Handbook of the mammals of the world**. v. 2, p. 350-443, 2011.

MEDELLIN, R., GARDNER, A., ARANDA, M. The taxonomic status of the Yucatán brown brocket, *Mazama pandora* (Mammalia: Cervidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 111, n. 11, p.1-14, 1998.

MERINO, M.L., ROSSI, R.V. Origin, Systematics, and Morphological Radiation. in: Duarte, J.M.B., González, S. (eds): **Neotropical Cervidology, Biology and Medicine of Latin American Deer**, Jaboticabal, Brazil: Funep and Gland, Switzerland, IUCN. p. 393. 2010.

MIRANDA-RIBEIRO. História natural. Zoologia. Mamíferos. Anexo nº5. **Comissão de linhas Telegraficas Estrategicas de Mato Grosso ao Amazonas**, Rio de Janeiro. 1914.

MIRANDA-RIBEIRO. Os veados do Brasil segundo as coleções de Rondon e de vários museus nacionais e estrangeiros. **Revista do Museu Paulista**, v. 11, p.308. 1919

NEITZEL, H. Chromosome evolution of Cervidae: Karyotypic and molecular aspects. In: OBE, G.; BASLER, A. (eds.). **Cytogenetic, basic and applied aspects**, Berlin: Springer Verlag, 1987, p.90-112.

OSGOOD, W.H. Mammals from western Venezuela and eastern Colombia. **Field Museum of Natural History, Zoology**, v. 10, n 5, p. 33-68. 1912.

PINDER, L.; LEEUWENBERG, F. Veado-catingueiro. in: Duarte, J.M.B. (Ed.), **Biologia e conservação de Cervídeos sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama***. Jaboticabal. Funep. 1997, p. 59–68.

PITRA, C.; FICKEL, J.; MEIJAARD, E.; GROVES, P.C. Evolution and phylogeny of old world deer. **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v.33, 2004, p 880-895.

REES, J. W. Morphologic variation in the mandible of the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): A study of populational skeletal variation by principal component and canonical analysis. **Journal of Morphology**, v. 128, n. 1, p. 113-130, 1969.

RESENDE, J. P. A.. **Comparação cariotípica entre Mazama cinzas do Brasil (Mazama gouazoubira e Mazama nemorivaga, Artiodactyla; Cervidae)**. Dissertação (Mestrado Melhoramento Genético Animal) Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal. p.153, 2012

ROSSI, R. V. Taxonomia de *Mazama* Rafinesque, 1817 do Brasil (Artiodactyla, Cervidae). Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo. 147 p. 2000.

ROSSI, R.V. & DUARTE, J.M.B. 2008. *Mazama nemorivaga*. in: IUCN 2008. **IUCN Red List of Threatened Species**. <www.iucnredlist.org>.

ROSSI, R. V., BODMER, R., DUARTE, J.M.B., TROVATI, R. G. Amazonian Brown Brocket Deer. *Mazama nemorivaga* (Cuvier 1817). in: Duarte, J.M.B., González, S. (eds): **Neotropical Cervidology, Biology and Medicine of Latin American Deer**, Jaboticabal, Brazil: Funep and Gland, Switzerland, IUCN. 2010. 393p.

RUBINOFF, D., CAMERON, S., WILL, K. A genomic perspective on the shortcoming of mitochondrial DNA for “bardcoding” identification. **Journal of Heredity**, v. 97, p. 581-594, 2006.

SARIA-PEREA, J. A. Comparação entre alguns citótipos de *Mazama americana* (Artiodactyla; Cervidae): Quão grande é a diferença entre eles? 2004. 41 f. **Dissertação (Mestrado em genética é melhoramento animal)**. Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho”, Jaboticabal, Brasil, 2004.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E., MANIATIS, T. Molecular cloning: A Laboratory Manual. **Cold Spring Harbor Press**, New York, 1989.

SEABRIGHT, M. A. A rapid banding technique for human chromosomes. **TheLancet**, v. 1, p. 9971-972, 1971.

SEBERG, O., HUMPHRIES, C. J., KNAPP, S., STEVENSON, D. W., PETERSEN, G., SCHARFF, N., ANDERSEN, N. M. Shortcuts in systematics? A commentary on DNA-based taxonomy. **Trends in Ecology & Evolution**, v.18, n. 2, p. 63-65, 2003.

SNEATH, P., SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical taxonomy**. San Francisco, W. H. Freeman and Company. USA. 1973

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p.304-306, 1972.

SWOFFORD, D. L. PAUP*. Phylogentic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4.0b10. **Sinauer Associates**, Sunderland, 1999.

TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., KUNAR, S. MEGA6*: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v.30, p. 2725-2729. 2013.

TATE, G. ,H.H. The mammals of the Guiana region. **Bulletin Americano Museum Natural History**, LXXVI, p. 151-229. 1939

TAYLOR, K.M., HUNGERFORD, D.A., SNYDER, R.L. Artiodactyl mammals: their chromosome cytology in relation to patterns of evolution. In: BENIRSCHKE, K. (ed.) **Comparative Manalian Cytogenetics**, Berlin: Springer-Verlag, 1969, p. 346-356.

TIEPOLO, L.M., TOMAS, W, M. Ordem Artiodactyla, in: **Mamíferos do Brasil**, Nelio R. dos Reis (eds). Londrina: Nelio R. dos Reis, 2006. 437 p.

VARGAS-MUNAR, D.S.F., SARRIA-PEREA, J.A., DUARTE, J.M.B. Different responses to doxorubicin-induced chromosome aberrations in Brazilian deer species. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 3, p 1545-1549, 2010.

VERMA, R. S., BABU, A. **Human chromosomes: principles and techniques**. McGraw Hill, New York, 2. Ed., 1995, 419p.

VON DEN DRIESCH, A. A guide to the measurement of animal bones from archeological sites, as developed by the Institut fur Palaeoanatomie, Domestikations for schung und Geschichte der Tiermediz in of the University of Munich. **Peabody Museum Bulletin**. Cambridge, Massachusetts, v 1, p. 35-37, 1976.

WAGNER, J.A. Die Saugthiere in Abbildungen nach der natur, mit beschreibungen/ von D. Johan Cristian Daniel von Schreber; fort gesetzt von D. August Goldfuss Johann Andreas Wagner. Erlangen, W. Walter. **Supplementband**. 1855.

WEBB, S. D. Evolutionary history of new world deer. In: Vrba, E.S., Shaller, G.B. (Eds.), **Antelopes, Deer, and Relatives**. London: Yale University Press. 2000. p. 38–64.

WIENS, J. J. Species delimitation: A new approaches for discovering biodiversity. **Sistematic Biology**, v 56, n. 6, p. 875-878. 2007.

WILL, K. W., MISHLER, B.D., WHEELER, Q. D. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. **Systematics Biology**, v. 54, p. 844-851, 2005.

WILSON, D.E & Reeder, .D.M. **Mammal species of the World. A taxonomic and geographic reference** (3rd ed), Johns Hopkins University Press, 2005, v 2, p 142.

ANEXO 1

09/01/2017

Gmail - M. nemorivagus stockée Musée



jorge Alfonso Morales Donoso <jorgemoralesdonoso@gmail.com>

M. nemorivagus stockée Musée

3 mensajes

Cécile Callou <callou@mnhn.fr>

24 de junio de 2015, 13:27

Para: jorgemoralesdonoso@gmail.com

CC: Cuisin Jacques <cuisin@mnhn.fr>, patrimoinedbd@mnhn.fr, Joséphine Lesur <jolesur@mnhn.fr>

Cher Monsieur,

Je me présente, Cécile Callou, chargée de conservation de la collection des types de Mammifères (et des Lagomorphes).

Je vous confirme la présence de spécimens de *Cervus nemorivagus*/ décrits par Frédéric Cuvier dans les collections du Muséum.

Cependant il est difficile d'indiquer précisément quels spécimens ont été effectivement vus par l'auteur, sachant qu'il indique seulement dans sa description : "les caractères que je lui donne ont été pris sur plusieurs têtes de cariacou que possède le Muséum"

Le plus probable est donc :

MNH-ZM-2014-45 : spécimen naturalisé, Mâle, Juvenile. Coll. Poiteau, Cayenne

Trois spécimens naturalisés figurent dans le catalogue de la galerie de zoologie (daté de 1864). Il ne reste aujourd'hui que celui de Poiteau.

Trois crânes appartenant à cette espèce sont également présents dans les collections :

MNHN-ZM-AC-1933-203 : Mâle, Adulte. Cayenne

MNHN-ZM-AC-1933-204 : Mâle, Adulte. Coll. Roulin, Colombie

MNHN-ZM-A2339 : juvénile. Coll. St Hilaire, Brésil

En espérant que ces informations vous aideront dans vos recherches.

Bien cordialement

Cécile Callou

PS :

La Direction des collections du MNHN a mis en place depuis avril 2007 une interface Internet de demande d'accès aux collections. Vous pouvez passer par cette interface pour toutes demandes concernant les collections (emprunts, visites courtes ou de longue durée).

Tout emprunteur/demandeur doit d'abord s'enregistrer (la première fois seulement), pour cela connectez vous sur le site <http://colhelper.mnhn.fr/> <<http://colhelper.mnhn.fr/>>

Pour s'enregistrer:

- 1 - créer un compte
- 2 - valider
- 3 - vous recevrez aussitôt un mail avec votre mot de passe

Pour déposer une demande

- 4 - retournez sur <http://colhelper.mnhn.fr/> <<http://colhelper.mnhn.fr/>>
 - 5 - remplissez les champs
 - 6 - "envoyer"
 - 7 - créez une "nouvelle demande"
 - 8 - déroulez « collections » en appuyant sur la flèche
 - 9 - allez vers "Vertébrés" puis « Mammifères, Oiseaux & Anat. Comp. »
 - 9 - remplissez le formulaire de demande
- (pour changer votre mot de passe aller à "éditer votre compte" et "changer votre mot de passe")

--

<https://mail.google.com/mail/u/0/?ui=2&ik=d42ff84c56&view=pt&q=call&search=query&th=14e262eb6365e181&siml=14e262eb6365e181&siml=14e2bbf5a63bb...> 1/3

ANEXO 2: Definição de Landmarks utilizados na morfologia geométrica.

Cráneo	Mazama	nemorivaga	NPC 080		
Landmark	X	Y	Z	Definición Landmark	LADO
1	-68,88178942	-8,063739823	9,557569729	sutura maxiloincisiva sobre el margo interalveolaris	Izquierdo
2	-56,89096278	-25,6283216	9,457320475	punto más dorsocaudal de la sutura maxiloincisiva	Izquierdo
3	-59,99008992	-28,5193399	6,270953463	insisura nasoincisiva	Izquierdo
4	-61,71791966	-27,24239352	7,760199688	sutura maxiloincisiva sobre el borde anterior de la abertura nasal	Izquierdo
5	-41,17021517	-28,91671219	8,77356778	sutura nasal maxilar	Izquierdo
6	-26,93640681	-36,11573185	8,961747779	punto tripartito entre los os nasale, frontale y maxillar	Izquierdo
7	-15,28682377	-32,2496255	17,6501442	sutura frontolacimalis sobre el borde de la fenestra antorbital	Izquierdo
8	-31,77430882	-19,66971188	17,1965266	sutura maxilolacimalis sobre el borde de la fenestra antorbital	Izquierdo
9	-21,5912116	-14,40475275	24,27032061	punto mas anterior de la sutura zygomaticolacimalis	Izquierdo
10	-39,42761585	-10,77575946	14,9082687	margo dorsal del foramen infraorbitale	Izquierdo
11	-40,41018022	-5,293026447	12,67093415	margo ventral del foramen infraorbitale	Izquierdo
12	-40,77958038	1,961828685	11,78313069	margo alveolare mesial del P2	Izquierdo
13	-18,2043078	9,199648183	23,41556941	margo interalveolaris entre P4 y M1	Izquierdo
14	8,512004015	7,28575547	24,1280799	margo alveolare distal del M3	Izquierdo
15	-25,21783239	-5,349614189	25,44545563	origen m. masseter	Izquierdo
16	-15,75728153	-8,887127447	31,7692559	sutura zygomaticomaxillaris sobre la crista facialis	Izquierdo
17	40,71784739	-3,341582329	35,62446779	borde caudal lateral de la crista facialis sobre la sutura zygomaticotemporale	Izquierdo
18	19,64915551	-18,48278264	34,61205529	sutura zygomaticofrontalis sobre el borde de la orbita	Izquierdo
19	-6,402407578	-31,66375115	20,00490566	sutura frontolacimalis sobre el borde de la orbita	Izquierdo
20	-12,02626765	-16,98276452	25,69707882	Dacryon (sutura zygomaticolacimalis sobre el borde de la orbita)	Izquierdo
21	46,4770233	-0,193781815	29,2402507	Insisura timpánica	Izquierdo
22	72,02554225	6,267664393	17,15246045	sutura temporooccipitalis sobre la crista supramastoidea	Izquierdo
23	72,8704704	-11,08483995	16,86121287	punto tripartito entre los os Parietale, Temporal y occipital	Izquierdo
24	27,91715046	-6,693699725	18,31951397	punto tripartito entre los os Parietale, Temporal y alisfeoides	Izquierdo
25	6,353067329	-36,19058683	15,26159	foramen frontal	Izquierdo
26	44,36276653	-31,02680741	25,67871931	Stephanion (intersección entre la Sutura coronalis y la linea temporalis)	Izquierdo
27	74,65021162	-14,9424965	15,34096779	intersección entre la sutura occipitoparietalis y la linea temporalis	Izquierdo
28	61,54961581	11,85996979	22,39270294	borde dorso-caudal del proceso paraoccipitalis	Izquierdo
29	71,32964345	11,60728722	8,250997146	borde ventral del cóndilo sobre el foramen magnum	Izquierdo
30	67,79574375	21,16379168	7,386615232	borde dorsal del cóndilo sobre el foramen magnum	Izquierdo
31	-68,66213997	-28,79881494	-0,095232275	Punto más rostral sobre del os Nasale	Izquierdo
32	12,83991417	-0,643879882	29,55539587	sutura zygomaticopalatina sobre el borde de la fosa maseterica	Izquierdo
33	31,45413399	-2,397009617	34,54339187	sutura zygomaticopalatina sobre el borde de la fosa maseterica	Izquierdo
34	37,74894337	-1,05582989	30,63481177	borde caudal medial de la crista facialis sobre la sutura zygomaticotemporale	Izquierdo
35	28,47900199	-0,969739518	16,01898404	sutura temporal alisfeoides sobre la cavidad glenoidea	Izquierdo
36	26,06535993	-9,2200901	9,968806791	foramen rotundum	Izquierdo
37	41,7575564	3,388355485	13,97421329	foramen ovale posterior	Izquierdo
38	46,9832688	5,069952655	20,53896904	Borde ventral del proceso retroarticular	Izquierdo
39	56,06022871	21,10744112	18,1271934	punta ventral del proceso paraoccipital	Izquierdo
40	61,2757427	10,98478645	9,481126501	foramen hipoglosso	Izquierdo
41	-88,82596751	-7,999053215	0,430479349	Prosthion (sutura interincisiva sobre linea media)	Línea media
42	57,31453685	16,57954222	0,617302642	margo dorsal foramen magnum sobre línea media	Línea media
43	73,52285226	10,04666686	0,46554673	margo ventral foramen magnum sobre línea media	Línea media
44	82,50137788	-8,989382273	0,574076287	Opistocranium	Línea media
45	72,80544898	-24,56784983	-0,042640676	Lambda (sutura occipitoparietalis sobre el plano sagital)	Línea media
46	42,19328153	-43,48098846	0,35372074	Bregma (sutura coronalis sobre el plano sagital.)	Línea media
47	-19,38019708	-38,64577886	0,925178418	Nasion (sutura frontonasalis sobre el plano sagital)	Línea media
48	-25,65518189	-0,695256253	-0,403780349	sutura palatino-maxilar sobre el plano sagital del paladar	Línea media
49	-61,67352196	-7,856275686	-1,654255561	sutura maxiloincisiva sobre el paladar	Línea media
50	-67,79206808	-10,03483355	-10,88305345	sutura maxiloincisiva sobre el margo interalveolaris	Derecho
51	-56,83564516	-25,35067733	-10,2933099	punto más dorsocaudal de la sutura maxiloincisiva	Derecho
52	-59,78401979	-28,98412654	-5,892333202	insisura nasoincisiva	Derecho
53	-62,40392014	-28,32380385	-7,578323397	sutura maxiloincisiva sobre el borde anterior de la abertura nasal	Derecho
54	-38,66791105	-28,94524371	-8,605303862	sutura nasal maxilar	Derecho
55	-26,62991241	-35,7474671	-7,274194279	punto tripartito entre los os nasale, frontale y maxillar	Derecho
56	-14,52224413	-32,71021385	-15,32718313	sutura frontolacimalis sobre el borde de la fenestra antorbital	Derecho
57	-31,5189438	-20,09420904	-16,11614626	sutura maxilolacimalis sobre el borde de la fenestra antorbital	Derecho
58	-22,27683875	-15,8780553	-21,82473976	punto mas anterior de la sutura zygomaticolacimalis	Derecho
59	-39,4820231	-10,60999057	-14,94569524	margo dorsal del foramen infraorbitale	Derecho
60	-41,16866724	-5,894602512	-14,42975706	margo ventral del foramen infraorbitale	Derecho
61	-41,3236682	1,91061889	-14,61134167	margo alveolare mesial del P2	Derecho
62	-17,47301462	7,786928223	-24,61969013	margo interalveolaris entre P4 y M1	Derecho
63	8,853033992	5,843213159	-22,86345029	margo alveolare distal del M3	Derecho
64	-24,72336653	-6,170496859	-25,50556118	origen m. masseter	Derecho
65	-16,44173693	-10,86465085	-30,57520057	sutura zygomaticomaxillaris sobre la crista facialis	Derecho
66	33,64100682	-4,909305268	-35,83535963	borde caudal lateral de la crista facialis sobre la sutura zygomaticotemporale	Derecho
67	18,60170201	-18,1952427	-32,90079738	sutura zygomaticofrontalis sobre el borde de la orbita	Derecho
68	-6,502659983	-32,88824402	-17,29800815	sutura frontolacimalis sobre el borde de la orbita	Derecho
69	-11,71118499	-19,23390721	-23,80156631	Dacryon (sutura zygomaticolacimalis sobre el borde de la orbita)	Derecho
70	45,80084493	-2,479414662	-28,62372578	Insisura timpánica	Derecho
71	69,16030476	-7,976733052	-16,10961562	sutura temporooccipitalis sobre la crista supramastoidea	Derecho
72	71,36204303	-12,20696082	-15,71802944	punto tripartito entre los os Parietale, Temporal y occipital	Derecho
73	27,31388684	-7,234679892	-16,38367792	punto tripartito entre los os Parietale, Temporal y alisfeoides	Derecho
74	9,796612273	-37,42832665	-14,23929195	foramen frontal	Derecho
75	42,6498424	-32,55133993	-21,87874448	Stephanion (intersección entre la Sutura coronalis y la linea temporalis)	Derecho
76	72,11606799	-13,44888577	-15,37005739	intersección entre la sutura occipitoparietalis y la linea temporalis	Derecho
77	59,50218903	10,21832792	-21,79458517	borde dorso-caudal del proceso paraoccipitalis	Derecho
78	70,36294952	10,50785444	-8,978784195	borde ventral del cóndilo sobre el foramen magnum	Izquierdo
79	66,85334669	19,85921099	-7,993155407	borde dorsal del cóndilo sobre el foramen magnum	Izquierdo
80	-68,13240746	-28,24761961	-1,255098102	Punto más rostral sobre del os Nasale	Derecho
81	12,46026715	-2,44032087	-27,82691416	sutura zygomaticopalatina sobre el borde de la fosa maseterica	Derecho
82	32,2964703	-5,336648066	-32,48278486	sutura zygomaticopalatina sobre el borde de la fosa maseterica	Derecho
83	37,07443457	-3,290866985	-28,33656229	borde caudal medial de la crista facialis sobre la sutura zygomaticotemporale	Derecho
84	28,10449313	-1,78008661	-13,6660881	sutura temporal alisfeoides sobre la cavidad glenoidea	Derecho
85	27,252768	-9,33508516	-5,987035576	foramen rotundum	Derecho
86	41,53690867	1,443614762	-11,11635834	foramen ovale posterior	Derecho
87	46,07258351	3,131673578	-19,07452195	Borde ventral del proceso retroarticular	Derecho
88	56,36019281	21,93829073	-16,52787356	punta ventral del proceso paraoccipital	Derecho
89	59,59392517	9,929652813	-9,849985188	foramen hipoglosso	Derecho

ANEXO 3

Sequências utilizadas na inferência bayesiana utilizando um fragmento do gene Cyt b (920pb)

ESPÉCIE	Nº ACESSO	LOCALIDADE	PUBLICADA EM
Nome científico	GeneBank	País	Artigo
<i>Blastocerus dichotomus</i>	AY607038	ZOO Berlin	Pitra et al., 2004
<i>Blastocerus dichotomus</i>	JN632603	Bolívia	Hassanin et al., 2012
<i>Hippocamelus anticensis</i>	JN632646	Argentina	Hassanin et al., 2012
<i>Hippocamelus anticensis</i>	DQ379307	MNHN Francia	– Gilbert et al., 2006
<i>Hippocamelus bisulcus</i>	DQ789177	Chile	Duarte et al., 2008
<i>Hippocamelus bisulcus</i>	GU190863	Chile	Fuentes-Huertado et al., 2011
<i>Mazama americana G.F</i>	JN632656	Guiana Francesa	Hassanin et al., 2012
<i>Mazama americana Peru</i>	JN632657	Peru	Hassanin et al., 2012
<i>Mazama americana T35</i>	DQ789221	Manaus- Amazonas. Brasil	Duarte et al., 2008
<i>Mazama americana T31</i>	DQ789219	Alto Rio Negro- Amazonas	Duarte et al., 2008
<i>Mazama americana T358</i>		Guiana Francesa	
<i>Mazama bororo MSg54mBo</i>	DQ789187	San Miguel Arcanjo-SP.- Brasil	Duarte et al., 2008
<i>Mazama bororo T71</i>	DQ789231	Barra do Turvo- PR	Duarte et al., 2008

<i>Mazama bricenii</i> 1	LT546656	BMNH. Venezuela.	Heckeberg <i>et al</i> 2016
<i>Mazama bricenii</i> holotipo	LT546657	BMNH. Venezuela.	Heckeberg <i>et al.</i> , 2016
<i>Mazama rufina</i>	JN632661	Colômbia	Hassanin <i>et al.</i> , 2012
<i>Mazama chunyi</i>	LT546655	BMNH. Chiquis, Peru	Heckeberg <i>et al.</i> , 2016
<i>Mazama nana</i> T185	DQ789210	Céu Azul- PR. Brasil	Duarte <i>et al.</i> , 2008
<i>Mazama nana</i> T2	DQ789214	Paraguai	Duarte <i>et al.</i> , 2008
<i>Mazama pandora</i> mg1	KC146954	Yucatán, México	Escobedo- Morales <i>et al.</i> , 2016
<i>Mazama pandora</i> mg2	KC146955	Campeche, México	Escobedo- Morales <i>et al.</i> , 2016
<i>Mazama rufina</i> MRGM4	JN632661	Colômbia	Hassanin <i>et al.</i> , 2012
<i>Mazama temama</i> mt2	KC146957	Chiapas, México	Escobedo- Morales <i>et al.</i> , 2016
<i>Mazama temama</i> mt3	KC146958	Chiapas, México	Escobedo- Morales <i>et al.</i> , 2016
<i>Odocoileus hemionus</i> RF-2	HM222707	USA	Naidu <i>et al.</i> , 2012
<i>Odocoileus hemionus</i>	FJ188783	Fresno, County, California. USA	Latch <i>et al.</i> , 2009
<i>Odocoileus virginianus</i> 1	DQ379370	Museu Historia Natural de Paris .MNNH	Gilbert <i>et al.</i> , 2006

<i>Odocoileus virginianus</i>	AY607035	Zoo Tiepark Berlin Dinamarca	Pitra et al., 2004
<i>Ozotoceros bezoarticus OB1</i>	DQ789190	Zoologico LECOCQ. Uruguai	Duarte et al., 2008
<i>Ozotoceros bezoarticus OB3</i>	DQ789193	Pantanal. Brasil	Duarte et al., 2008
<i>Ozotoceros bezorticus OB5</i>	DQ789195	San Luis. Argentina	Daurte et al., 2008
<i>Pudu mephistophles 20</i>	LT546651	BMNH, Ecuador	Heckeberg et al., 2016
<i>Pudu mephistopheles 21</i>	LT546653	BMNH, Equador	Heckeberg et al., 2016
<i>Pudu puda m92144</i>	JN632692		Hassanin et al., 2012
<i>Pudu puda</i>	AY607039	Zoológico de Berlim	Pitra et al., 2004
<i>Mazama gouazoubira T144</i>		Paraíba, Brasil	
<i>Mazama gouazoubira T303</i>		Pantanal, Brasil	
<i>Mazama gouazoubira T96</i>		Engento Grande, RS, Brasil	
<i>Mazama nemorivaga T1627</i>	JN632660	Guiana Francesa	Hassanin et al., 2012
<i>Mazama nemorivaga T122</i>	DQ789205	Belém- Pará. Brasil	Duarte et al.,2008
<i>Mazama nemorivaga T149</i>	DQ789206	Rondônia. Brasil	Duarte et al., 2008
<i>Mazama nemorivaga T49</i>	DQ789226	Redenção- Pará. Brasil	Duarte et al., 2008
<i>Mazama nemorivaga MRGM36</i>	JN632659	Peru	Hassanin et al., 2012
<i>Mazama nemorivaga T309</i>		Amapá, Brasil	

<i>Mazama neomorivaga</i> Topotipo		Guiana Francesa	
<i>Mazama nemorivaga</i> T266		Santarem-PR. Brasil	
<i>Mazama nemorivaga</i> T321		P.N Cabo Orange Amapá. Brasil	
<i>Mazama nemorivaga</i> T27		Rio Branco , Acre. Brasil	
<i>Rangifer tarandus</i>	AB245426		Não publicado
<i>Alces alces</i>	JF489131		Naidu et al., 2012
<i>Moschus moschiferus</i>	ay121995		hassanin & douzery 2003

Fonte: GeneBank <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

ANEXO 4

Holotipo *Mazama nemorivaga*, estocado no Museu de História Natural de Paris, França.

Nº MNHN-ZM-2014-45.



ANEXO 5

Permissão de coleta do governo da França, região Guiana.



PREFET DE LA REGION GUYANE

Direction
de l'Environnement,
de l'Aménagement
et du Logement

Service Milieux
Naturels, Biodiversité,
Sites et Paysages

Pôle Biodiversité,
Sites et Paysages

ARRETE n° 2014328-0018
portant autorisation de naturalisation et de transport de spécimens d'espèces animales protégées –
BARBANTI DUARTE José Mauricio - NUPECCE

LE PREFET DE LA REGION GUYANE
CHEVALIER DE LA LEGION D'HONNEUR
CHEVALIER DE L'ORDRE NATIONAL DU MERITE

- VU le Code de l'environnement, notamment ses articles L.411-1 à L.412-1, R.411-1 à R.411-14, et R.412-1 à R.412-7 ;
- VU le Code rural et de la pêche maritime et ses articles R. 214-87 à R. 214-137 ;
- VU la loi n° 46-451 du 19 mars 1946 érigeant en départements la Guadeloupe, la Martinique, la Guyane Française et La Réunion ;
- VU le décret n° 47-1018 du 7 juin 1947 relatif à l'organisation départementale et à l'institution préfectorale dans les nouveaux départements de la Guadeloupe, de la Martinique, de la Guyane et de La Réunion ;
- VU le décret n° 2010-146 du 16 février 2010 modifiant le décret n°2004-374 du 29 avril 2004 modifié relatif aux pouvoirs des préfets, à l'organisation et à l'action des services de l'État dans les régions et départements ;
- VU le décret n° 97-1204 du 19 décembre 1997 pris pour l'application au ministre chargé de l'environnement du 1° de l'article 2 du décret n° 97-34 du 15 janvier 1997 relatif à la déconcentration des décisions administratives individuelles ;
- VU le décret du 5 juin 2013 portant nomination du préfet de la région Guyane, préfet de la Guyane – M. Eric SPITZ ;
- VU l'arrêté ministériel du 15 mai 1986 fixant sur tout ou partie du territoire national des mesures de protection des mammifères représentés dans le département de la Guyane ;
- VU l'arrêté ministériel du 19 février 2007 fixant les conditions de demande et d'instruction des dérogations définies au 4° de l'article L.411-2 du code de l'environnement portant sur des espèces de faune et flore sauvages protégées ;
- VU l'arrêté ministériel du 26 novembre 2013 fixant les conditions et limites dans lesquelles des dérogations à l'interdiction de naturalisation de spécimens d'espèces animales protégées peuvent être accordées par les préfets ;
- VU l'arrêté ministériel du 30 janvier 2013 nommant Monsieur Denis GIROU, directeur de la Direction de l'Environnement, de l'Aménagement, et du Logement de Guyane ;
- VU l'arrêté préfectoral n°1025-2013 du 25 juin 2013 portant délégation de signature administrative et financière à Monsieur Denis GIROU, directeur de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement ;
- VU l'arrêté préfectoral n°2014134-0001 du 14 mai 2014 portant délégation de signature administrative et

financière à Monsieur ANSELIN chef du service Milieux naturels, Biodiversité, Sites et Paysages et à Madame DEBRIS Myriam adjointe au chef de service Milieux Naturels, Biodiversité, Sites et Paysages ;

VU la demande présentée par José Mauricio BARBANTI DUARTE pour le NUPECCE en date du 4 septembre 2014 ;

VU l'avis favorable émis par le Conseil scientifique régional du patrimoine naturel de Guyane consulté par courriel le 4 septembre 2014 ;

VU l'avis favorable émis par le Conseil national de protection de la nature le 8 octobre 2014 ;

VU l'absence d'observation à l'issue de la mise en ligne pour la participation du public au sujet de la demande sur le site Internet de la DEAL Guyane du 15 au 28 septembre 2014 inclus ;

CONSIDERANT que l'autorisation ne nuit pas au maintien des populations des espèces concernées dans leur aire de répartition naturelle ;

CONSIDERANT que la naturalisation est pratiquée à des fins de recherches scientifiques et de constitution de collections destinées à l'éducation du public sur les animaux de la faune sauvage ;

SUR proposition de Monsieur le Directeur de l'environnement, de l'aménagement et du logement de la Guyane.

ARRETE

Article 1 : terminologie

Au sens du présent arrêté, on entend par « spécimen » tout ou partie des espèces mentionnées à l'article 4.

Article 2 : objet de l'autorisation

Le présent arrêté constitue une autorisation pour réaliser le transport et la naturalisation.

Le transport sera effectué du point de capture en Guyane vers : **UNESP – NUPECCE, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, 14884-900 JABOTICABAL, Brésil.**

Les spécimens seront capturés en dehors de tout espace protégé en respectant une zone franche d'un kilomètre autour de ces espaces.

L'autorisation pour le transport est valable pour l'année 2015.

L'autorisation de naturalisation et d'exposition est valable sans limite de durée si les conditions particulières énoncées à l'article 5 sont respectées.

Article 3 : personnes autorisées

Dr. José Mauricio BARBANTI DUARTE, NUPECCE (Núcleo Pesquisa e Conservação de Cervídeos), FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Dra. Susana GONZALES, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable Facultad de Ciencias, UDELAR – Uruguay.

Dra. Vanessa VELTRINI ABRIL, NUPECCE, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Dr. José Eduardo GARCIA, Centro Acadêmico Vitoria, Universidade Fed. Pernambuco, Brésil.

Aline MEIRA BONFIM MANTELATTO, doctorante, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Iara MALUF TOMAZELLA, doctorante, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Louise Helena MARTINS MARAN, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Janaina COSTA PERES, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Mirela PELIZARO VALERI, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Thais COELHO THOMAZINI, FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brésil.

Article 4 : spécimens

NOM LATIN	QUANTITE	DESCRIPTION
<i>Mazama americana</i> Daguet rouge, Cariacou	1	Spécimen entier pour étude scientifique et naturalisation, comprenant des échantillons biologiques (tissus, os, peau, organes)
<i>Mazama nemorivaga</i> Petit daguet brun d'Amazonie	1	Spécimen entier pour étude scientifique et naturalisation, comprenant des échantillons biologiques (tissus, os, peau, organes)

Article 5 : conditions particulières

L'obtention des autorisations nécessaires de la part des propriétaires et/ou gestionnaires de terrain sur lesquels seront réalisés les captures.

Un rapport de mission devra être adressé au Directeur de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Guyane précisant les dates de capture, son origine géographique et les dates de naturalisation.

Les résultats d'études et l'ensemble des publications scientifiques ou parutions devront être transmis au Directeur de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Guyane qui transmettra au Conseil National du Patrimoine Naturel.

Dans le cadre de la mise en œuvre du Système d'Information sur la Nature et les Paysages (SINP) en Guyane, le titulaire s'engage à renseigner l'Inventaire des Dispositifs de Collecte sur la Nature et les Paysages (IDCNP) en collaboration avec le chargé de mission compétent à la DEAL Guyane.

Conditions particulières de naturalisation :

La naturalisation des spécimens doit être réalisée conformément aux prescriptions techniques suivantes :

- les procédés de tannage et de mannequinage doivent garantir la conservation pérenne du spécimen. A cette fin il convient de procéder à un tannage réel et non pas à un mégissage et le mannequin doit être réalisé selon la technique traditionnelle ou par sculpture d'un matériau polymère. L'armature doit être réalisée avec des matériaux et des procédés pérennes et correctement mis en œuvre ;
- le choix des matériaux de second œuvre tels que les yeux artificiels, les pâtes de comblement, les pigments et les peintures doivent également garantir la conservation pérenne du spécimen ;
- il doit y avoir une bonne adaptation entre le mannequin et la peau ;
- les proportions du spécimen doivent être respectées ;
- les caractéristiques biologiques de l'espèce à laquelle appartient le spécimen doivent être respectées y compris dans la scénographie ;
- les attitudes de l'animal, en particulier dans ses appuis, doivent être respectées ;
- les différentes étapes du travail de naturalisation et en particulier le tannage et le mannequinage à l'aide de matériaux polymères doivent être réalisées dans le respect de l'environnement avec mise en œuvre d'une filière d'évacuation des déchets biologiques et chimiques clairement identifiée ;
- les sous-produits animaux doivent être utilisés et détruits, après leur utilisation, dans les conditions prévues par la réglementation.

Les pièces naturalisées doivent être placées sur un socle indissociable sur lequel figure :

- de façon apparente, les noms vernaculaire et scientifique de l'espèce et la forme de protection juridique dont elle bénéficie ;
- sous le socle :
 - le nom du bénéficiaire de la dérogation à l'interdiction de naturalisation et la date de la dérogation ;
 - le lieu, la date de découverte du spécimen et, si elle est connue, la cause de la mort ;
 - le nom du taxidermiste ayant effectué la naturalisation et le numéro d'inscription de celui-ci au répertoire des métiers ou au registre du commerce ou à tout autre registre officiel dans le cas de pays étrangers ;
 - le numéro d'inventaire qui doit être reporté sur un registre d'inventaire de la collection où doivent figurer,

en face de chaque numéro, les noms vernaculaire et scientifique de l'espèce ainsi que l'origine du spécimen.

Lorsque les spécimens naturalisés sont inclus dans une collection destinée à l'éducation du public, ils doivent être présentés dans des conditions de scénographie respectant la biologie des espèces dans leur milieu et la réalité de la cohabitation des espèces entre elles, ou destinée à donner une information scientifique cohérente.

Les expositions permanentes de spécimens naturalisés doivent disposer de systèmes de protection des spécimens contre le vol, la destruction et les effets des rayonnements solaires et ultraviolets ainsi que de systèmes permettant le maintien de conditions de température et d'hygrométrie ambiantes compatibles avec leur conservation de longue durée.

Article 6 : sanctions

Sans préjudice des sanctions de toute nature prévues par les règlements en vigueur, toute infraction aux dispositions du présent arrêté peut entraîner la suspension ou la révocation, les bénéficiaires entendus, de la présente autorisation.

Article 7 : publicité

Le présent arrêté est notifié intégralement aux personnes listées à l'article 3 du présent arrêté.

Article 8 : voies de recours

Dans les deux mois à compter de sa notification – pour le tiers intéressé – ou, de sa publication – pour les personnes ayant intérêt à agir – au recueil des actes administratifs de la préfecture de la Guyane, le présent arrêté peut faire l'objet de recours amiable et contentieux :

- un recours gracieux est à adresser à M. le préfet de la région Guyane – Rue Fiedmond – BP 7008 – 97307 Cayenne Cedex.

- un recours hiérarchique est à adresser à Mme la ministre de l'Écologie du Développement Durable et de l'Énergie – Bureau des Contentieux – Arche Sud – 92055 La Défense CEDEX

- un recours contentieux est à adresser à M. le président du tribunal administratif – 7 rue Schoelcher – BP 5030 – 97305 Cayenne Cedex.

Tout recours amiable (recours gracieux et/ou hiérarchique) doit être adressé en recommandé avec accusé de réception.

L'exercice d'un recours amiable a pour effet d'interrompre le délai de recours contentieux. Le délai recommence à courir à compter de la réception du rejet explicite ou implicite (en l'absence de réponse de l'Administration au terme du même délai de deux mois, la décision est juridiquement qualifiée de rejet implicite).

Article 9 : exécution

Le secrétaire général de la Préfecture de la Guyane, le Commandant de Gendarmerie de la Guyane, le directeur de l'environnement, de l'aménagement et du logement de la Guyane, le délégué régional à l'outremer de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, le Directeur de l'agriculture et de la forêt de la Guyane, le Directeur Régional des Douanes, sont chargés chacun en ce qui le concerne de l'exécution du présent arrêté, qui est publié au recueil des actes administratifs de la préfecture de la Guyane.

Fait à Cayenne le 24 NOV. 2014

Pour le Préfet, et par délégation
Le chef du Service Milieux Naturels,
Biodiversité, Sites et Paysages,

Arnaud ANSELIN