

**JULIANA MARIA RIBEIRO**

**ANÁLISE DO ESFORÇO AMOSTRAL PARA ECOLOGIA COMPORTAMENTAL:  
onças-pardas como exemplo**

**ASSIS  
2014**

**JULIANA MARIA RIBEIRO**

**ANÁLISE DO ESFORÇO AMOSTRAL PARA ECOLOGIA COMPORTAMENTAL:  
onças-pardas como exemplo**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientador: Prof. Dr. Carlos C. Alberts

**ASSIS  
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca do Instituto Educacional de Assis – I E D A

R484a

Ribeiro, Juliana Maria

Análise do esforço amostral para ecologia comportamental: onças-pardas como exemplo / Juliana Maria Ribeiro. Assis, 2014  
46 f. il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis – Universidade Estadual Paulista.

Orientador: Dr. Carlos C. Alberts

1. Amostras não invasivas. 2. Esforço amostral. 3. Fezes. 4. *Puma concolor*. 5. Conservação da fauna. 6. Ecologia comportamental. I. Título.

CDD 599.75 (23ª)



Dedico esse trabalho aos meus pais,  
M<sup>a</sup> Eunice e Antonio, pelo apoio e  
carinho incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Prof. Dr. Carlos Camargo Alberts pela oportunidade, confiança e orientação para estudar esses animais incríveis, realizando um sonho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e ao PROAP, da UNESP/Assis-SP, pelo auxílio financeiro para a pesquisa de campo, colaborando com o desenvolvimento deste estudo.

Ao proprietário da fazenda Alvorada de Bragança, Léo Steinbruch, por permitir a realização do estudo na área e a todos seus funcionários que sempre nos receberam muito bem e deram total apoio às visitas a campo, em especial ao administrador da fazenda, senhor Junior.

Ao professor Dr. Fernando Frei pelas discussões dos resultados, no auxílio com as análises estatísticas.

Ao professor Dr. Ramon Juliano Rodrigues pela disponibilidade na confecção e elaboração dos mapas e auxílio nas discussões dos resultados.

À Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada de Assis/SP, por fornecer as observações termo-pluviométricas da cidade de Campos Novos Paulista, SP.

Ao Bruno Saranholi por nos receber e acompanhar na saída de campo piloto, instruindo e fornecendo materiais necessários para coleta das amostras.

Aos que me fizeram companhia durante o campo. Em especial ao Willian Cavalcante, a “melhor companhia”, fundamental e indispensável em todas as saídas de campo.

Agradeço a todos os meus amigos, dentro ou fora da faculdade, por estarem sempre dispostos aos ‘papos’ e descontrações necessárias.

À minha “melhor companhia”, Willian, obrigada por sempre estar ao meu lado e por me apoiar. Obrigada, amor.

À toda a minha família, obrigada pelas orações.

Por fim, as pessoas mais importantes da minha vida, meus pais, Nice e Toninho, os maiores responsáveis por este trabalho se realizar, já que sem seu apoio, confiança e carinho isso nunca seria possível. E aos meus irmãos, Fernando e Flavia, pelo incentivo e carinho mútuo. Muito Obrigada!

RIBEIRO, Juliana M. **Análise do esforço amostral para ecologia comportamental: onças-pardas como exemplo**. 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

## RESUMO

A detecção de grandes carnívoros, como as onças-pardas (*Puma concolor*), é dificultada por apresentarem baixa densidade de indivíduos, além dos hábitos elusivos e de difícil observação. A técnica de amostragem através de métodos não invasivos, como as fezes, podem permitir acessar várias informações incluindo a identificação do animal, área de vida e composição da dieta, entre outras, usando técnicas moleculares. A possibilidade de utilizar as fezes como medida indireta para estudos de populações em projetos de gerenciamento e conservação de vida selvagem depende do sucesso da coleta das amostras orgânicas. Frente a isso, foi analisado o esforço amostral para a coleta das fezes de onça-parda com intuito de otimizar o tempo e custos no planejamento das ações em campo. Foram analisadas variáveis de cunho antrópico e abiótico da área de estudo: distâncias entre os locais de coleta de amostras com as lagoas, sedes e estradas; a pluviosidade média do período de coleta; os intervalos de dias da última precipitação; o intervalo entre as visitas e intervalos desde a última amostra encontrada. Em todas as trilhas percorridas houve a presença de pegadas de onças-pardas, porém em apenas algumas delas foram encontradas fezes. Dessa forma a marcação territorial desses animais pode estar relacionada aos fatores autoecológicos da própria onça-parda através das marcações químicas e físicas, além de fatores antrópicos e abióticos indicando preferência por locais próximos às lagoas e mais isolados de grande movimentação humana. Foi possível, também, estimar um intervalo de dias que otimize as visitas a campo, com a média do número de dias do intervalo entre as visitas indicando entre 7 – 9 dias como um intervalo ótimo para visitas ao campo, com fins de encontrar fezes de onças-pardas e com a última amostra encontrada por volta de 20 dias antes.

Palavras-chaves: Amostras não invasivas, esforço amostral, fezes, *Puma concolor*.

RIBEIRO, Juliana M. **Analysing sampling effort for behavioral ecology: pumas as an example.** 2014. 46 f. Dissertation (Master in Bioscience). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

#### ABSTRACT

The detection of large carnivores such as the Puma (*Puma concolor*), is hindered by the fact that they show low density, elusive habits and are hard to be seen. Sampling procedures via noninvasive methods, like using feces, can allow the access to a number of information regarding the behavioral ecology of the species, including the identity of each individual – using DNA extraction- home range and diet. The use of feces as an indirect population measurement in wildlife management and conservation depends on the successful collection of them. Faced with this, we analyzed the sampling effort to collect Pumas' feces in order to optimize time and cost in planning field actions. Anthropogenic and abiotic variables of the study area were analyzed: distances between sampling sites to ponds, farmhouse and roads; the average rainfall in the gathering period; time period from the last rainfall; the period between visits and time interval from the last sample found. In all pathways there were trails of footprints from pumas, but feces were found only in specific spots. Thus, territorial marking by these animals, using chemical and physical patterns, may be due to ecological causes from the species itself, and anthropogenic and abiotic factors. This study indicated puma preference for locations close to ponds and those more isolated from human activity. It was also possible to estimate a range of days that optimizes the field visits, with the average number of days in the period between visits being 7-9 days as the optimal interval for field visits in the aim of finding puma feces. And it was established that is most probable to find a sample when the last one has been found around 20 days before.

Keywords: Noninvasive samples, sampling effort, feces, *Puma concolor*.

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....                                      | <b>10</b> |
| Técnica de amostragem não invasiva.....                            | 10        |
| Análise do método de esforço de coleta de amostras orgânicas ..... | 11        |
| Onça-parda e a biodiversidade .....                                | 13        |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                            | <b>15</b> |
| <b>Capítulo 1 - Artigo</b> .....                                   | <b>19</b> |
| RESUMO .....   | 19        |
| <b>ÁREA DE ESTUDO</b> .....  | <b>22</b> |
| <b>METODOLOGIA</b> .....   | <b>24</b> |
| Obtenção das amostras .....  | 24        |
| Medindo o sucesso de obtenção de amostras .....                    | 25        |
| <b>RESULTADOS</b> .....  | <b>29</b> |
| <b>DISCUSSÃO</b> .....   | <b>38</b> |
| <b>IMPLICAÇÕES PARA O MANEJO DO MEIO AMBIENTE</b> .....            | <b>40</b> |
| <b>AGRADECIMENTOS</b> .....  | <b>40</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                            | <b>40</b> |
| LISTA DE FIGURAS .....   | 44        |
| LISTA DE TABELAS .....   | 45        |
| <b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....                                     | <b>46</b> |

## INTRODUÇÃO GERAL

### Técnica de amostragem não invasiva

Para o desenvolvimento de planos de conservação de espécies de vida selvagem, o primeiro passo deveria ser a determinação da presença e abundância de espécies ameaçadas (PALOMARES et al., 2002). No entanto, a detecção de grandes carnívoros, é dificultada pela baixa densidade de indivíduos, além dos hábitos elusivos, de difícil observação, que apresentam (KOHN e WAYNE, 1997), entre outras razões.

No passado, as técnicas de amostragem utilizadas para estudar a ecologia dos grandes mamíferos eram geralmente mais invasivas como, por exemplo, a captura de indivíduos para retirar amostras e/ou adicionar aparelhos que permitiam seguir o animal (WAITS e PAETKAU, 2005). Atualmente, a tendência é a de reduzir a utilização desses métodos mais invasivos em estudos populacionais de intuito conservacionista (TABERLET e LUIKART, 1999). Uma nova possibilidade para monitorar a demografia de espécies difíceis de serem observadas ou capturadas, bem como informações sobre a estrutura genética das populações e como ela influencia no seu comportamento, é a utilização de materiais orgânicos que os indivíduos deixam (WAYNE e MORIN, 2004). Exemplos destes materiais são fezes, pelos, urina ou penas, restos deixados pelos animais de um modo geral e que podem ser usados para a obtenção de DNA, entre outros materiais.

Estudos não invasivos são métodos promissores para monitorar populações, pois podem evitar alguns dos possíveis problemas causados pela captura (WAYNE e MORIN, 2004). Além disso, esses métodos são uma alternativa atraente por requererem menos habilidade, tempo e dinheiro do que a coleta de amostras de sangue ou biopsia de tecido de animais capturados (GOOSSENS et al., 1998; WAITS e PAETKAU, 2005; DOWNEY et al., 2007).

Dentre os materiais orgânicos, usados por métodos não invasivos, as fezes são particularmente interessantes, uma vez que todos os animais defecam regularmente (FERNANDO et al., 2003), sua presença indica a presença do animal na área (PIRES e FERNANDES, 2003) e pode conter pelos de autolimpeza e das presas, partes não digeridas da dieta (ossos, penas, dentes, garras) e DNA proveniente de células da mucosa intestinal descartadas durante a passagem pelo intestino (ALBAUGH et al.,

1992; WAITS e PAETKAU, 2005; MIOTTO et al., 2012). As fezes são o sinal orgânico mais evidente e facilmente reconhecível (LIEBENBERG, 2000). Através de guias e chaves de identificação, que descrevem a forma e o tamanho das fezes de diversas espécies, tornam possível a identificação da espécie através das fezes coletadas (CHAME, 2003).

As fezes, quando depositadas aleatoriamente, mostram a área de vida individual ou do grupo. Elas são usadas como marcas territoriais quando depositadas em pequenos volumes em lugares de destaque, tais como junções de trilhas, pedras, troncos ou cupinzeiros (CHAME, 2003). São usadas como marcas sensoriais estratégicas por várias espécies da família Carnívora (GORMAN e TROWBRIDGE, 1989; ESTES, 1991; ROMO, 1995; ARAGONA e SETZ, 2001). Nos carnívoros, a secreção produzida pela glândula anal adere às fezes durante a defecação. A secreção de cada espécie tem um odor característico e complexo, que fornece informações intra e interespecíficas do território de um indivíduo, o sexo, estado reprodutivo e os deslocamentos realizados pelo indivíduo (GORMAN e TROWBRIDGE, 1989). O tamanho e a quantidade de fezes produzidas por cada indivíduo variam com a idade, o tipo de alimento ingerido e a sua capacidade de absorção (BANG e DAHLSTRÖM 1975).

### **Análise do método de esforço de coleta de amostras orgânicas**

A possibilidade de utilizar amostras orgânicas como medida indireta para estudos de populações em projetos de gerenciamento e conservação de vida selvagem depende do sucesso da coleta das mesmas. Frente a isso, o delineamento do esforço amostral torna-se importante no planejamento para que as ações sejam otimizadas em campo.

Geralmente em áreas de estudo extensas e com recursos financeiros limitados para estudos da biodiversidade, os programas de pesquisa exigem que se obtenha o máximo de informação com os menores custos, baseados em amostragens informativas e facilmente replicáveis. A maximização do esforço amostral permite que estudos com a mesma metodologia (coleta de amostras orgânicas), mas em áreas amostrais diferentes, sejam comparáveis facilitando o encontro das amostras.

Para facilitar os trabalhos em campo, é importante realizar um levantamento prévio das características da área a ser estudada, como fatores abióticos (relevo, clima, hidrografia) e as atividades antrópicas que possam ocorrer no local. Este

procedimento facilita a metodologia empregada em campo e auxilia em estudos futuros.

Na literatura geral para essa metodologia, as variáveis incidindo sobre a coleta são consideradas entre aquelas ligadas à biologia e autoecologia da(s) espécie(s) de interesse (BELLEMAIN et al., 2007; GUSCHANSKI et al., 2009; MONDOL et al., 2009). No entanto, é variável a taxa de sucesso dado um determinado esforço de coleta. Por exemplo, no trabalho de Rodriguez (2013) o esforço de coleta em 30 saídas de campo, em uma área com 17,44 quilômetros de trilhas percorridas, indica uma coleta de 42 amostras. Já o trabalho de Saranholi (2013) em 36 saídas de campo, em trilhas com uma extensão de 30 quilômetros, indica um número de 70 amostras. Pode-se argumentar que estes números devam-se, entre as características autoecológicas da espécie, aos diferentes habitats estudados: Rodriguez, 2013, áreas abertas de Cerrado e Saranholi, 2013, vegetação típica do Bioma Mata Ombrófila Semidescídua de Interior. Mas quando comparados trabalhos em ambientes similares, também existem diferenças na taxa de sucesso. Além disso, muitas vezes, a medida do esforço de coleta não segue uma mesma sistemática. Alguns trabalhos medem o esforço amostral comparando quilômetros percorridos, enquanto outros indicam o número de visitas feitas e, outros ainda, indicam o número de coletores (SARANHOLI, 2013; MIOTTO et al., 2007; BELLEMAIN et al., 2007; KINDBERG et al., 2009).

Outras preocupações sobre o esforço amostral na coleta, citada em alguns trabalhos, baseia-se no armazenamento e na quantidade de amostras (TABERLET et al., 1999; FRANTZEN et al., 1998); métodos de conservação das amostras, (WAITS e PAETKAU, 2005); o período de tempo de exposição da amostra às condições no campo e questões de sobre e sub amostragem de material fecal nas diferentes metodologias da técnica de captura-recaptura (LUKACS e BURNHAM, 2005).

Em geral, explicações para o sucesso da coleta de amostras, quando citados, recaem em características biológicas da espécie estudada ou do ambiente escolhido, como nos exemplos acima. Raramente, senão nunca, são levados em conta outros fatores, os abióticos como a pluviosidade; os geográficos como o relevo e distribuição de coleções d'água; ou de origem antrópica, como as distâncias de habitações humanas, estradas e atividade agropecuária.

A simples presença de trilhas ou estradas dentro de propriedades ou em unidades de conservação podem impactar a coleta de amostras orgânicas. Os felinos, por exemplo, tendem a preferir usar trilhas, picadas e/ou estradas para seu

deslocamento (MIOTTO et al., 2007; SARANHOLI, 2013). O cruzamento de tais vias pode ser usado para a marcação por algumas espécies (CHAME, 2003), o que influenciaria no sucesso da coleta.

A coleta de amostras orgânicas, usando métodos pouco invasivos, é o principal esforço a ser despendido no campo para o estudo de populações naturais. Tanto do ponto de vista do custo financeiro, como o custo do tempo e o esforço dos pesquisadores depende muitas vezes o sucesso de um trabalho. Se puderem ser maximizados os esforços para que tal coleta ocorra com o maior sucesso possível, certamente será um grande benefício. Assim, seria importante verificar quais outras características, incidem sobre o sucesso da coleta.

### **Onça-parda e a biodiversidade**

A espécie usada como exemplo de coleta de amostras orgânicas neste trabalho foi a onça-parda (*Puma concolor* – LINNAEUS, 1771), segunda maior espécie de felídeo do Brasil. É um animal de grande porte, podendo pesar mais de 70 kg. É um animal territorialista e costuma marcar seu território depositando suas fezes em lugares proeminentes, como trilhas, pedras e troncos (CHAME, 2003). Geralmente necessitam de áreas maiores que 100 km<sup>2</sup> (SWEANOR et al., 2000), dependendo de diversos fatores, como o tamanho e sexo dos indivíduos e a disponibilidade de presas (GRIGIONE et al., 2002).

As onças-pardas são predadores de topo de praticamente todas as cadeias alimentares a que pertencem e são exemplos típicos no que se refere ao estresse que sofrem suas populações diante da pressão antrópica. As grandes modificações nos sistemas naturais devido à atividade humana estão provocando uma enorme crise na biodiversidade, induzindo espécies e populações locais à extinção, enquanto que outras têm diminuído a sua distribuição e densidade, aumentando assim, o seu risco de extinção a curto, médio e longo prazo (FRANKHAM et al., 2002).

Segundo Primack e Rodrigues (2001), a ameaça à diversidade biológica provém principalmente da destruição do ecossistema, fragmentação e degradação do habitat, poluição ambiental, mudanças globais, super exploração e introdução de espécies exóticas. Alguns estudos mostram que populações de mamíferos carnívoros são os mais vulneráveis à alteração do ambiente, principalmente à sua fragmentação, devido à baixa densidade e à necessidade de uma grande área de vida, entre outros motivos (NOSS et al., 1996; WOODROFFE e GINSBERG, 1998).

Além disso, houve um aumento no número de conflitos entre humanos e grandes felinos, como as onças-pardas, devido à predação de criação doméstica. Isso é especialmente verdade em regiões como o estado de São Paulo (ALBERTS, 1989), uma das áreas mais desenvolvidas do Brasil e, ao mesmo tempo, a que abriga uma das maiores porções de remanescentes da Mata Atlântica (VERDADE e CAMPOS, 2004).

Dentro das comunidades biológicas, é importante salientar que todas as espécies exercem sua importância e as influenciam em graus diferentes, mas algumas são mais influentes que outras. Na prática, o conceito e a identificação de espécies-chave têm papel significativo na conservação, pois mudanças na sua riqueza trazem consequências para outras espécies (BEGON et al., 2007). Essas espécies afetam muitos outros organismos em um ecossistema e ajudam a determinar os tipos e números de várias outras espécies em uma comunidade (POWER et al., 1996). Essas espécies-chave, representadas principalmente por grandes carnívoros, afetam a organização da comunidade com base não apenas na quantidade de indivíduos ou biomassa (JANZEN, 1986), mas são importantes no controle de populações de herbívoros, por exemplo, entre outros motivos (REDFORD, 1992). Para a biologia da conservação, a onça-parda (*Puma concolor*) é um agente ecológico em diferentes sentidos. Entre outros, ela desempenha um papel como predador no topo da cadeia alimentar com impacto nas populações de outros animais e no equilíbrio dos ecossistemas.

A IUCN (2011) enquadra a espécie *Puma concolor* na categoria pouco preocupante (LC), devido à sua ampla distribuição territorial global. No Brasil (BRASIL, 2008), no entanto, bem como no estado de São Paulo (SÃO PAULO, 2009), a onça-parda é classificada como vulnerável (VU), em função da perda e fragmentação do seu hábitat.

Desse modo, a proteção desses animais pode ser considerada uma prioridade para os esforços de conservação, uma vez que a alteração no número de indivíduos em uma população podem influenciar na conservação de muitas espécies de níveis tróficos inferiores (TERBORGH et al., 2001; SIMBERLOFF, 1998).

Neste estudo analisamos o esforço amostral necessário para o sucesso da coleta de amostras orgânicas (fezes), levando em consideração os fatores abióticos e ações antrópicas da área de estudo, usando a onça-parda como exemplo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBAUGH, G.P.; IYENGAR, V.; LOHANI, A. **Isolation of exfoliated colonic epithelial cells, a novel, non-invasive approach to the study of cellular markers.** *International Journal of Cancer*, v.52, 347-350, 1992.

ALBERTS, C. C. **Perigo de Vida! Predadores e presas: um equilíbrio ameaçado.** São Paulo: Atual Editora, 1989.

ARAGONA, M.; SETZ, E.Z. **Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Mammalia: Canidae), during wet and dry seasons at Ibitipoca State Park, Brazil.** *Journal Zoology*, v. 254, 131-136, 2001.

BANG, P.; DAHLSTROM, P. **Huellas y Señales de los Animales de Europa.** Barcelona: Omega, 1975.

BEGON, M.; TOWNSSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas.** 4º ed. Porto Alegre: Artmed. p. 584-585, 2007.

BELLEMAIN, E.; NAWAS, M. A.; VALENTINI, A.; SWENSON, J. E.; TABERLET, P. **Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation.** *Biological Conservation*, v. 134, 537–547, 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção.** Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas. Brasília, DF: MMA, v. 2, 1420p, 2008.

CHAME, M. **Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, 71-94, 2003.

DOWNEY, P. J.; HELLGREN, E. C.; CASO, A.; CARVAJAL, S.; FRANGIOSO, K. **Hair snares for noninvasive sampling of felids in North America: do gray foxes affect success?** *Journal of Wildlife Management*, v. 71, n. 6, p. 2090-2094, 2007.

ESTES, R. D. **The Behaviour Guide to African Mammals: Including Hoofed Mammals, Carnivores, Primates.** University of California Press, California, 1991.

FERNANDO, P.; VIDYA, T. N. C.; RAJAPAKSE, C.; DANGOLLA, A.; MELNICK, D. J. **Reliable Noninvasive Genotyping: Fantasy or Reality?** *Journal of Heredity*, v. 94, n. 2, p. 115–123, 2003.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics.** Cambridge University Press, Cambridge, 617 p., 2002.

FRANTZEN, M. A. J.; SILK, J. B.; FERGUSON, J. W. H.; WAYNE, R. K.; KOHN, M. H. **Empirical evaluation of preservation methods for fecal DNA.** *Molecular Ecology*, v. 7, 1423-1428, 1998.

GOOSSENS, B.; WAITS, L. P.; TABERLET, P. **Plucked hair samples as a source of DNA: reliability of dinucleotide microsatellite genotyping.** *Molecular Ecology*, v. 7, p. 1237-1241, 1998.

GORMAN, M. L.; TROWBRIDGE, B. J. **The role odor in the social lives carnivores.** In: Gittleman, J. L. *Carnivore Behaviour. Ecology and Evolution*, Chapman E Hall Ltd, New York, p. 57-88, 1989.

GRIGIONE, M. M.; BEIER, P.; HOPKINS, R. A.; NEAL, D.; PADLEY, W. D.; SCHONEWALD, C. M.; JOHNSON, M. Ecological and allometric determinants of home-range size for mountain lions (*Puma concolor*). *Animal Conservation*, v. 5, n. 4, p. 317-324, 2002.

GUSCHANSKI, K.; VIGILANT, L.; McNEILAGE, A.; GRAY, M.; KAGODA, E.; ROBBINS, M. M. **Counting elusive animals: Comparing field and genetic census of the entire mountain gorilla population of Bwindi Impenetrable National Park, Uganda.** *Biological Conservation*, v. 142, 290 - 300, 2009.

JANZEN, D.H.. Keystone plant resources in the tropical Forest. In: SOULÉ, M. E. (ed) **Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity.** *Sinauer Associates*, Sunderland. p.330-344, 1986.

KINDBERG, J., ERICSSON, G., SWENSON, J. E. **Monitoring rare or elusive large mammals using effort-corrected voluntary observers.** *Biological Conservation*, v.142, 159-165, 2009.

KOHN, M.H.; WAYNE, R.K. **Facts from feces revisited.** *Trends in Ecology and Evolution*, v. 12, 223-227, 1997.

LIEBENBERG, L. **Tracks and Tracking in Southern Africa.** Struik Publishers, Cape Town, 2000.

LUKACS, P. M. e BURNHAM, K. P. **Review of capture-recapture methods applicable to noninvasive genetic sampling.** *Molecular Ecology*, v. 14, 3909–3919, 2005.

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

MIOTTO, R. A.; CERVINI, M.; BEGOTTI, R. A.; GALETTI JR, P. M. **Monitoring a Puma (*Puma concolor*) population in a fragmented landscape in Southeast Brazil.** *Biotropica*, v. 44, n 1, 98-104, 2012.

MONDOL S.; KARANTH, K. U.; KUMAR, N. S.; GOPALASWAMY, A. M.; ANDHERIA, A.; RAMAKRISHNAN, U. **Evaluation of non-invasive genetic sampling methods for estimating tiger population size.** *Biological Conservation*, v. 142, 2350–2360, 2009.

NOSS, R. F.; QUIGLEY, H. B.; HOMOCKER, M. G.; MERRIL, T.; PAQUET, P. **C. Conservation Biology and carnivore conservation in the Rocky Mountains.** *Conservation Biology*, v. 10, n.4, 949-963, 1996.

PALOMARES, F.; GODOI, J. A.; PIRIZ, A.; O'BRIEN, S. J.; JOHNSON, W. E. **Fecal genetic analysis to determinate the presence and distribution of elusive carnivores: design and feasibility for the Iberian lynx.** *Molecular Ecology*, v. 11, 2171-2182, 2002.

PIRES, A. E.; FERNANDES, M. L. **Last lynxes in Portugal? Molecular approaches in a pre-extinction scenario.** *Conservation Genetics*, v. 4, p. 525-532, 2003.

POWER, M. E.; TILMAN, D.; ESTES, J. A. **Challenges in the quest for keystones.** *Bioscience*, v. 46, 609-620, 1996.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação.** Londrina: Vida, 328 p, 2001.

REDFORD, K. H. The empty forest. *BioScience*, v. 42, 412-422, 1992.

RODRIGUEZ, K. V. C. **Estudo dos aspectos demográficos da onça-parda (*Puma concolor*) na Estação Ecológica de Itirapina no Estado de São Paulo por meio da análise de amostras não invasivas.** Dissertação. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 2013.

ROMO, M. C. **Food habits of the Andean fox (*Pseudalopex culpaeus*) and notes on the mountain cat (*Puma colocolo*) and puma (*Felis concolor*) in the Rio Abiseo National Park, Peru.** *Mammalia*, v. 59, 335-343, 1995.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. **Fauna Ameaçada de Extinção no Estado de São Paulo: Vertebrados.** Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo: SMA, 648p., 2009.

SARANHOLI, B. R. **Demografia e diversidade genética de onça-parda (*Puma concolor*) e jaguatirica (*Leopardus pardalis*) da Estação Ecológica de**

**Caetetus – SP e sua importância para a conservação desses felinos.** Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 2013.

SIMBERLOFF, D. **Flagships, umbrellas, and keystones: Is single-species management passé in the landscape era?** *Biological Conservation*, v. 83, n.3, 247–257, 1998.

SWEANOR, L.; LOGAN, K.; HORNOCKER, M. **Cougar Dispersal Patterns, Metapopulation Dynamics, and Conservation.** *Conservation Biology*, v. 14, n. 3, p. 798-808, 2000.

TABERLET, P.; LUIKART, G. **Non-invasive genetic sampling and individual identification.** *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 68, 41-55, 1999.

TABERLET, P.; WAITS, L. P.; LUIKART, G. **Noninvasive genetic sampling: look before you leap.** *Trends in Ecology and Evolution*, v.14, 323–327, 1999.

TERBORGH, J.; LOPEZ, L.; NUNEZ, P.; RAO, M.; SHAHABUDDIN, G.; ORIHUELA, G., RIVEROS, M.; ASCANIO, R.; ADLER, G. H.; LAMBERT, T. D.; BALBAS, L. **Ecological meltdown in predator-free forest fragments.** *Science*, v. 294, 1923–1926, 2001.

VERDADE, L. M., CAMPOS, C. B. **How much is a puma worth? Economic compensation as an alternative for the conflict between wildlife conservation and livestock production in Brazil.** *Biota Neotropica*, v. 4, n. 2, 1-4, 2004.

WAITS, L. P.; PAETKAU, D. **Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection.** *Journal of Wildlife Management*, v. 69, n. 4, 1419–1433, 2005.

WAYNE, R. K.; MORIN, P. A. **Conservation genetics in the new molecular age.** *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 2, n. 2, p. 89–97, 2004.

WOODROFFE, R.; GINSBERG, J. R. **Edge effects and extinction of populations inside protected areas.** *Science*, v. 280, 2126-2128, 1998.

## Capítulo 1 - Artigo

02 de julho de 2014

Carlos C. Alberts

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário, 19806-900 - Assis, SP

018 3302 5620

[calberts@assis.unesp.br](mailto:calberts@assis.unesp.br)

Ribeiro et al. • Análise do esforço amostral

### **Análise do esforço amostral para ecologia comportamental: onças-pardas como exemplo**

JULIANA M. RIBEIRO, *Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário, 19806-900 - Assis, SP.*

FERNANDO FREI, *Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário, 19806-900 - Assis, SP.*

RAMON J. RODRIGUES, *Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário, 19806-900 - Assis, SP.*

CARLOS C. ALBERTS, *Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário, 19806-900 - Assis, SP.*

**RESUMO** A detecção de grandes carnívoros, como as onças-pardas, é dificultada por apresentarem baixa densidade de indivíduos, além dos hábitos elusivos e de difícil observação.

A técnica de amostragem através de métodos não invasivos, como as fezes, podem permitir

acessar várias informações, usando-se técnicas moleculares, incluindo a identificação do animal, área de vida e composição da dieta, entre outras. A possibilidade de utilizar as fezes como medida indireta para estudos de populações em projetos de gerenciamento e conservação de vida selvagem depende do sucesso da coleta das amostras orgânicas. Frente a isso, foi analisado o esforço amostral para a coleta das fezes de onça-parda com intuito de otimizar o tempo e custos no planejamento das ações em campo. Foram analisadas variáveis de cunho antrópico e abiótico da área de estudo: distâncias entre os locais de coleta de amostras com as lagoas, sedes e estradas; a pluviosidade média do período de coleta; os intervalos de dias da última precipitação; o intervalo entre as visitas e intervalos desde a última amostra encontrada. Em todas as trilhas percorridas houve a presença de pegadas de onças-pardas, porém em apenas algumas delas foram encontradas fezes. Dessa forma a marcação territorial desses animais pode estar relacionada aos fatores autoecológicos da própria onça-parda através das marcações químicas e físicas, além de fatores antrópicos e abióticos indicando preferência por locais próximos às lagoas e mais isolados de grande movimentação humana. Foi possível, também, estimar um intervalo de dias que otimize as visitas a campo, com a média do número de dias do intervalo entre as visitas indicando entre 7 – 9 dias como um intervalo ótimo para visitas ao campo, com fins de encontrar fezes de onças-pardas e com a última amostra encontrada por volta de 20 dias antes.

**PALAVRAS CHAVES** Amostras não invasivas, esforço amostral, fezes, *Puma concolor*

O estudo do comportamento de vida selvagem pode encontrar obstáculos ao depender de medidas diretas para observar o animal de vida livre. A caracterização da presença e abundância de grandes carnívoros, como as onças-pardas (*Puma concolor* – Linnaeus, 1771), é dificultada por apresentar baixa densidade de indivíduos, além dos hábitos elusivos de difícil observação (Kohn e Wayne 1997). Uma possibilidade para monitorar a demografia dessas

espécies difíceis de serem observadas ou capturadas, é a utilização de materiais orgânicos que os indivíduos deixam no ambiente (Wayne e Morin 2004). Exemplos desses materiais são fezes, pelos, urina ou penas, restos deixados pelos animais de um modo geral e que podem ser usados para a obtenção de DNA, entre outros materiais.

As fezes são particularmente interessantes, uma vez que todos os animais defecam regularmente (Fernando et al. 2003). Sua presença indica a presença do animal na área (Pires e Fernandes 2003) e, no caso de se tratar de um mamífero predador, pode conter pelos de autolimpeza e das presas, partes não digeridas da dieta (ossos, penas, dentes, garras) e DNA proveniente de células da mucosa intestinal descartadas durante a passagem pelo intestino (Albaugh et al. 1992, Miotto et al. 2012, Waits e Paetkau 2005). Vários tipos de informação podem ser obtidos por esta via, incluindo a identificação do animal e outros atributos identificáveis pela análise do DNA (Miotto et al. 2007), como a área de vida (Nakano-Oliveira 2002) e composição da dieta (Kauhala e Auniola 2001). As fezes são também o sinal orgânico mais evidente e facilmente reconhecível (Liebenberg 2000). Quando depositadas aleatoriamente mostram a área de vida individual ou do grupo. Elas são usadas como marcas territoriais quando depositadas em pequenos volumes em lugares de destaque, tais como junções de trilhas, rochas, troncos ou cupinzeiros (Chame 2003). As fezes são usadas como marcas sensoriais, a secreção produzida pela glândula anal adere às fezes durante a defecação. A secreção de cada espécie tem um odor característico e complexo, que fornece informações intra e interespecíficas do território de um indivíduo, o sexo, estado reprodutivo e os deslocamentos realizados pelo indivíduo (Gorman e Trowbridge 1989). O tamanho e a quantidade de fezes produzidas por cada indivíduo variam com a idade, o tipo de alimento ingerido e a sua capacidade de absorção (Bang e Dahlström 1975).

A possibilidade de utilizar as amostras orgânicas como medida indireta para estudos de populações em projetos de gerenciamento e conservação de vida selvagem depende do sucesso

da coleta das mesmas. Assim, a quantificação do esforço amostral torna-se importante no planejamento para que as ações sejam otimizadas em campo.

Em geral, explicações para o sucesso da coleta de amostras, quando citados, recaem em características biológicas da espécie estudada ou do ambiente escolhido. Raramente, senão nunca, são levados em conta outros fatores, os abióticos, como pluviosidade; geográficos, como relevo e distribuição de coleções d'água; ou de origem antrópica, como distância de habitações humanas, estradas e atividade agropecuária.

Para facilitar os trabalhos em campo, é importante realizar um levantamento prévio das características da área a ser estudada, como fatores abióticos e as atividades antrópicas que possam ocorrer no local. Este procedimento facilita a metodologia empregada em campo e auxilia em estudos futuros.

Neste estudo analisamos o esforço amostral necessário para o sucesso da coleta de amostras orgânicas (fezes), levando em consideração os fatores abióticos e atividades antrópicas da área de estudo.

## **ÁREA DE ESTUDO**

A área de estudo compreende um fragmento de cerrado inserido em uma extensão particular, no município de Campos Novos Paulista, sudeste do Estado de São Paulo, Brasil: 22°30'S, 50°00'W (Fig.1).

Este remanescente foi mapeado pelo Inventário Florestal do Estado de São Paulo (Kronka et al. 1993) e indicado como de prioridade máxima para a conservação segundo o Workshop do Cerrado (1995), em vista de seu tamanho e bom estado de conservação (Bitencourt e Mendonça 2004). O grupo temático de mamíferos do Workshop Biota/FAPESP (São Paulo 2008), entre outros, indicou este remanescente em seu produto final, Mapa de Ações

Prioritárias para a Conservação de Mamíferos, para realização de inventário biológico, criação de unidade de conservação de proteção integral e incremento de conectividade.

Trata-se de um dos maiores remanescentes de cerrado no Estado, com área total de 2.119ha. Constituído predominantemente por cerradão (1,49km<sup>2</sup>) e cerrado sensu stricto (16,62km<sup>2</sup>) (Bitencourt et al. 2007, Martins 2009), com variação em relação à intensidade da cobertura vegetal, sendo subdividido em cerrado sensu stricto denso (13,59km<sup>2</sup>), cerrado sensu stricto típico (3,03km<sup>2</sup>) e fisionomias associadas ao cerrado, tais como campos úmidos (0,96km<sup>2</sup>) e mata ciliar (1,91km<sup>2</sup>) (Durigan et al. 1999, Durigan et al. 2004, Martins 2009). O mesmo encontra-se inserido em uma matriz antrópica constituída por pastagens e culturas agrícolas.

O fragmento está sujeito a uma série de ações antrópicas, como a caça de animais silvestres, que pode acarretar diminuição do tamanho populacional, conseqüentemente à diminuição de diversidade biológica e funções ecológicas (Primack e Rodrigues 2001, Vieira et al. 2003).

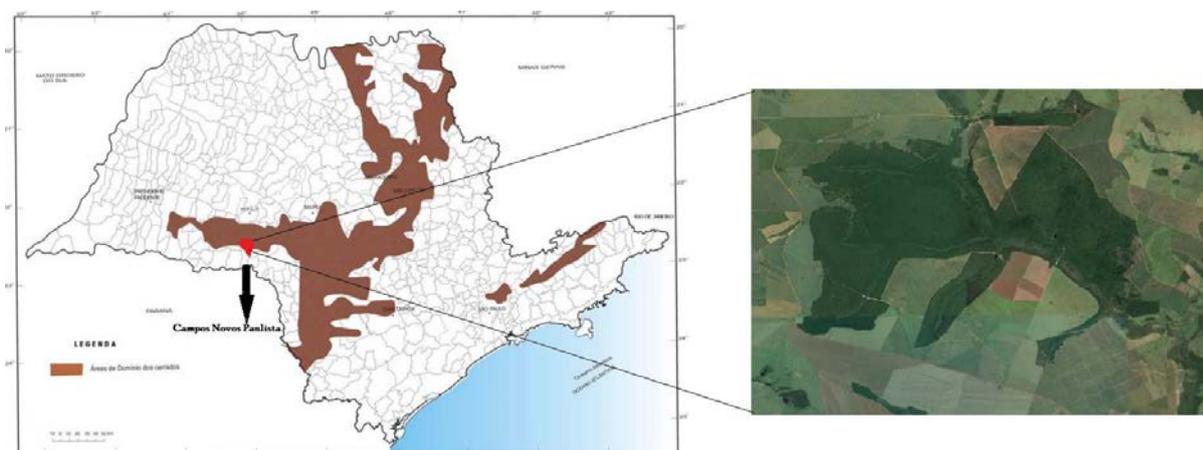


Figura 1. Distribuição do domínio do Cerrado no estado de São Paulo (Centro de Divulgação Científico e Cultural, USP: <http://cdcc.sc.usp.br>). O mapa em destaque apresenta a localização da área de estudo na cidade de Campos Novos Paulista (Google Earth 2014).

## METODOLOGIA

### Obtenção das amostras

As coletas de amostras de fezes foram realizadas em caminhadas sistemáticas por trilhas já abertas e pelas estradas de terra que entrecortam a área de estudo, durante o período de julho de 2013 à fevereiro de 2014. Foi realizada uma saída de campo piloto para determinar as trilhas a serem percorridas. Como evidências para as coletas das amostras foram utilizadas as observações de rastros, como as pegadas no solo (Fig. 2) e a morfologia das fezes que identificam as onças-pardas (*Puma concolor*) (Fig. 3) pois no local podem ser encontrados outros felinos. Portanto, para a exata identificação das fezes de onças-pardas, foi utilizado o guia de descrição e morfometria de fezes de animais terrestres (Chame 2003). No caso das pegadas, também foram utilizados guias de identificação (Carvalho Jr. e Luz 2008, Moro-Rios et al. 2008). Foram registradas as coordenadas dos pontos de coleta com o auxílio do Sistema de Posicionamento Global (GPS) com o aparelho pós-processado GPS Pro XR 12 canais TRIMBLE.



Figura 2. Pegadas de onça-parda (foto: Juliana M. Ribeiro)



As linhas e os pontos marcados foram extraídas através do software GPS Pathfinder office, corrigidas e exportadas para o software AutoCad 2013. Foi utilizado o software TopoEVN Cad 6.0 para obter as imagens do Google Earth Pro, através de um mosaico com 20 fotos em quadrados de 2.000/2.000m compondo toda a área de estudo (Fig. 5A). Dessa forma as linhas de delimitação dos perímetros e os pontos de coleta foram sobrepostos na imagem topográfica da área e através do software AutoCAD 2013 foram feitas as delimitações das áreas de matas (Cerrado), lagoas, várzeas e pastagens. (Fig. 5B).

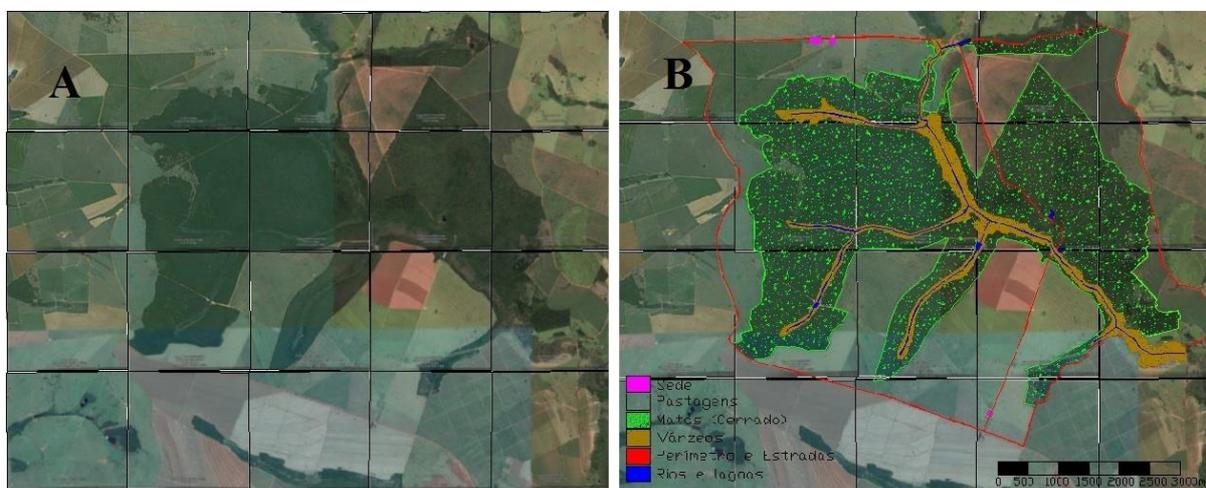


Figura 5. A. Mosaico com 20 fotos compondo a área de estudo. B. Sobreposição das delimitações das áreas de mata (Cerrado), rios e várzeas e pastagens, na imagem topográfica da área de estudo.

As trilhas percorridas foram mensuradas e as lagoas e sedes foram localizados no mapa (Fig. 6).

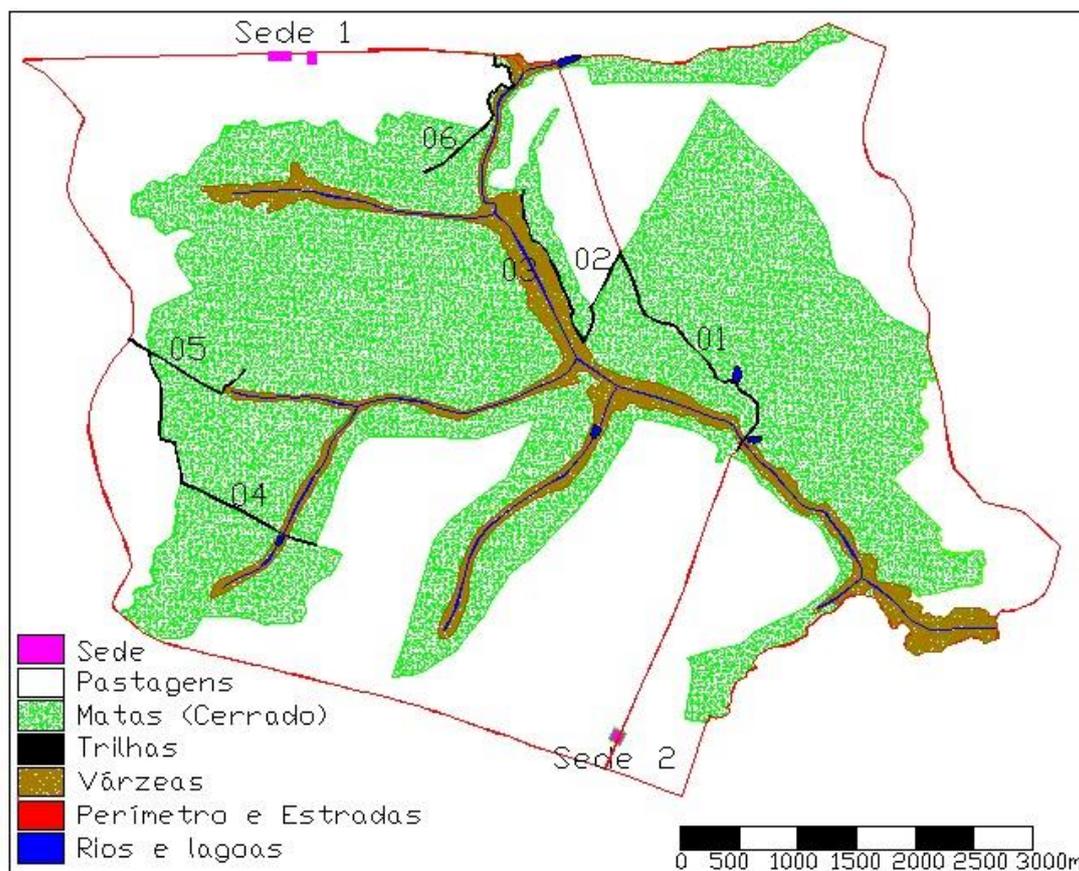


Figura 6. Localização das trilhas (01, 02, 03, 04, 05 e 06) e estradas percorridas para coleta de amostras de fezes de onça-parda

Foram mensuradas as distâncias entre os pontos de coleta e as lagoas, por trilhas e em linha reta; as distâncias entre os pontos de coleta e as sedes; as distâncias entre as trilhas e as sedes; as distâncias entre os pontos de coleta e a estrada externa da fazenda mais próxima ao ponto; as distâncias entre as trilhas e a estrada externa da fazenda mais próxima à trilha. Essas distâncias foram mensuradas com a expectativa de descobrir qual a preferência que as onças-pardas têm relativas aos locais de intensa movimentação antrópica, como as sedes e estradas, e aos locais próximos aos corpos d'água.

As características climáticas da cidade de Campos Novos Paulista, como a pluviosidade diária referente aos meses de coleta de amostras, foram obtidas através das observações termo-

pluviométricas cedidas pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento – Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada, Assis - SP.

Uma série de variáveis de cunho antrópico e fatores abióticos foram mensuradas para cada uma das visitas. Variáveis como pluviosidade, intervalo da última precipitação, intervalo desde a última amostra encontrada e intervalo entre visitas, foram medidas (Tabela 1).

Tabela 1. Quadro com as variáveis utilizadas e a motivação de uso para cada uma delas.

| <b>Variáveis</b>                            | <b>Motivação de uso</b>   |
|---|---|
| Pluviosidade                                | Volume (mm) de chuvas diárias. Os dias de chuva podem influenciar nos sinais deixados pelos animais. As características do solo, a vegetação e clima local podem determinar as condições dos sinais e marcas (Chame 2003). Os ecossistemas secos fornecem melhor preservação de fezes e, assim, é de se esperar que este tipo de marcação visual e química não seja comumente feita em clima chuvoso (Bang e Dahlström 1975).                                     |
| Intervalo da última precipitação            | Quanto mais seco o clima, mais propícia e efetiva é a marcação química proporcionada pelas fezes. Além disso, é possível que fezes porventura deixadas em época de chuva, se dispersem ou desapareçam na enxurrada.   |
| Intervalo entre visitas                     | A presença do observador/pesquisador nas trilhas pode interferir no comportamento das onças-pardas. Além disso, o próprio comportamento territorial do animal, que faz patrulhas em sua área de vida, indica que existe um intervalo mínimo entre a sua passagem por cada local.  |
| Intervalo desde a última amostra encontrada | Quando encontrada uma amostra de fezes e retirada do local encontrado pode influenciar no depósito de outras fezes, pois a onça-parda perde a referência de marcação territorial. Além disso, a contribuição da marcação química das fezes pode diminuir com o passar do tempo, devido à volatilidade de seus componentes (Albone 1984, Soso et al. 2014). Assim, depois de um certo tempo, o animal precisaria depositar nova amostra para renovar a informação. |

Os resultados das medições dessas variáveis antrópicas e abióticas, para cada visita, com ou sem a coleta de amostras, foram analisados em cálculos estatísticos da técnica multivariada Análise de Agrupamentos (Frei 2006), usando o software IBM SPSS Statistics 19. A Análise de Agrupamento busca elaborar critérios para agrupar as variáveis. Dessa forma, os objetos são mensurados nas diversas variáveis de interesse, fornecendo uma matriz de dados a qual será manuseada através de algoritmos para a obtenção dos grupos homogêneos (Frei 2006). Estes cálculos mostraram quais os estados das variáveis eram mais frequentes quando amostras orgânicas foram encontradas e quando não o foram.

## RESULTADOS

Foram realizadas 25 saídas de campo para coleta de amostras. As saídas de campo aconteceram em um período de oito meses, julho/2013-fevereiro/2014 (Tabela 2). Foram localizadas 6 trilhas, percorridas a pé e com bicicleta. Também foram percorridas as estradas internas da fazenda que ligam as trilhas. As trilhas somam 9,60 quilômetros e estradas internas da fazenda 6,40 quilômetros. Ao longo das saídas foram percorridos aproximadamente 298 quilômetros.

Tabela 2. Informações sobre as saídas de campo e coleta de amostras. Intervalos entre as datas (dias) e precipitação (mm) do período de coleta.

| Dia de saída | Amostra | Trilha    | Intervalo da última precipitação | Precipitação | Intervalo desde a última amostra encontrada | Intervalo entre visitas |
|--------------|---------|-----------|----------------------------------|--------------|---|-------------------------|
| 05/Julho     | A01     | Trilha 01 | 4                                | 11           | —   | —                       |
| 16/Julho     | A02     | Trilha 01 | 15                               | 11           | 11  | 11                      |
| 07/Agosto    | —       | —         | 17                               | 05           | 21  | 21                      |

|              |                             |           |    |    |    |    |
|--------------|-----------------------------|-----------|----|----|----|----|
| 16/Agosto    | A03                         | Trilha 01 | 26 | 05 | 31 | 09 |
| 29/Agosto    | _____                       | _____     | 39 | 05 | 13 | 13 |
| 06/Setembro  | _____                       | _____     | 47 | 05 | 19 | 08 |
| 12/Setembro  | _____                       | _____     | 53 | 05 | 25 | 06 |
| 20/Setembro  | _____                       | _____     | 3  | 40 | 32 | 09 |
| 03/Outubro   | _____                       | _____     | 0  | 70 | 44 | 14 |
| 21/Outubro   | _____                       | _____     | 0  | 13 | 62 | 18 |
| 08/Novembro  | A04                         | Trilha 01 | 5  | 12 | 80 | 18 |
| 14/Novembro  | A05                         | Trilha 01 | 11 | 12 | 06 | 06 |
| 20/Novembro  | _____                       | _____     | 4  | 15 | 06 | 06 |
| 27/Novembro  | _____                       | _____     | 2  | 26 | 13 | 07 |
| 29/Novembro  | _____                       | _____     | 0  | 02 | 15 | 02 |
| 04/Dezembro  | _____                       | _____     | 06 | 02 | 20 | 05 |
| 10/Dezembro  | _____                       | _____     | 0  | 70 | 26 | 06 |
| 14/Dezembro  | A06                         | Trilha 01 | 04 | 70 | 30 | 04 |
| 15/Dezembro  | _____                       | _____     | 05 | 70 | 01 | 01 |
| 19/Dezembro  | _____                       | _____     | 09 | 70 | 04 | 04 |
| 23/Janeiro   | _____                       | _____     | 0  | 05 | 39 | 35 |
| 31/Janeiro   | A07                         | Trilha 01 | 04 | 18 | 43 | 08 |
| 07/Fevereiro | A08;<br>A09;<br>A10;<br>A11 | Trilha 02 | 11 | 18 | 07 | 07 |
| 14/Fevereiro | _____                       | _____     | 0  | 08 | 07 | 07 |
| 20/Fevereiro | _____                       | _____     | 06 | 08 | 06 | 06 |

---

Foram encontradas um total de 11 amostras de fezes de onça-parda. As amostras foram localizadas em apenas duas trilhas (trilha 01 e trilha 02), porém em todas as trilhas foi possível visualizar pegadas de onças-pardas.

Nas duas trilhas onde foram encontradas as amostras, os pontos de coleta resumem-se a três locais distintos (Fig. 7). Foram encontradas quatro amostras no Ponto A, duas amostras no Ponto B e cinco amostras no Ponto C, ocorrendo assim a repetição dos pontos de depósito de fezes de onça-parda.

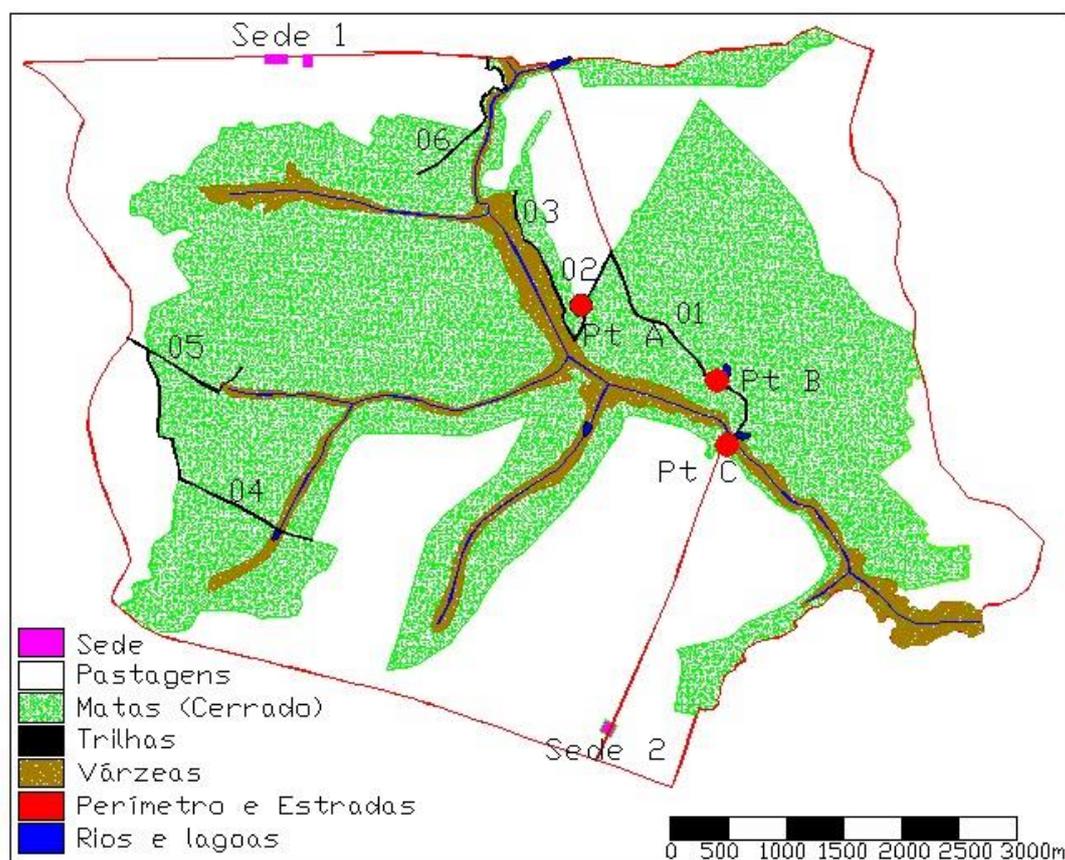


Figura 7. Pontos de coleta de amostras na área de estudo. Ponto A – localizado na trilha 02, Ponto B e C – localizado na trilha 01.

Nas Análises de Agrupamento foram utilizadas a distância euclidiana ao quadrado e os algoritmos Complete Linkage e Ward Linkage com padronização pela Normal Z. Somente as

variáveis “Intervalo desde a última amostra encontrada” e “Intervalo entre visitas” foram capazes de agrupar os dados em grupos distintos, formando três grupos usando o algoritmo Complete Linkage (Fig.8) e dois grupos com Ward Linkage (Fig. 9).

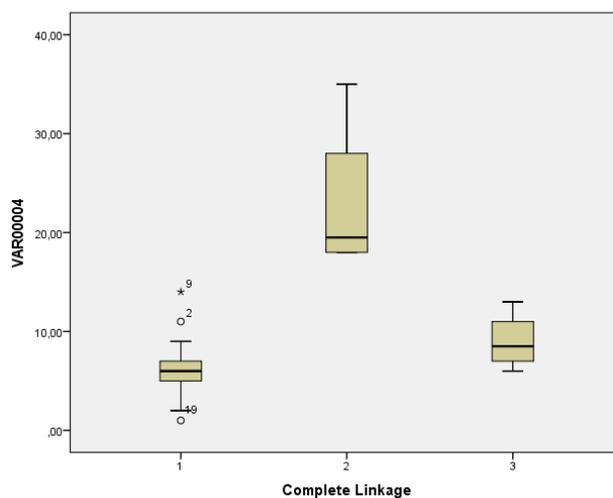


Figura 8. Diagrama de caixa da variável “Intervalo entre visitas”, usando o algoritmo Complete Linkage.

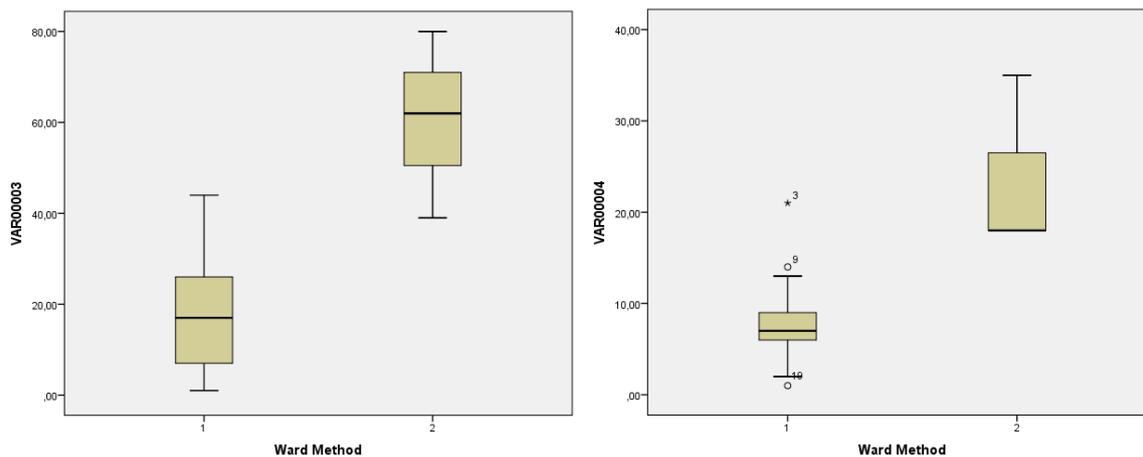


Figura 9. Diagrama de caixa da variável “Intervalos entre visitas” e “Intervalo desde a última amostra encontrada”, usando algoritmo Ward Linkage.

Na análise formando três grupos é possível a distinção entre os grupos apenas na variável “Intervalo entre visitas”. Fazendo-se a média do número de dias do intervalo entre as visitas, pertencentes ao grupo 1, onde foi observada a presença do maior número de dias onde amostras foram encontradas, encontra-se o resultado de 8,7 dias (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de agrupamento em três grupos usando algoritmo Complete Linkage.

| Grupos | Número de dias onde amostras foram encontradas | Média de dias do intervalo entre visitas |
|--------|--|--|
| 1      | 6  | 8,7                                      |
| 2      | 1  | 18                                       |
| 3      | 1  | 9  |

Na análise com a segunda técnica, verificamos dois conglomerados, criados pela influência das duas variáveis citadas, “Intervalo desde a última amostra encontrada” e “Intervalo entre visitas”. Se tomarmos a média de dias do intervalo entre visitas do grupo onde foram mais numerosas as amostras encontradas, desse agrupamento, teremos o resultado de 7,4 dias. Por outro lado, se fizermos a média de dias do intervalo desde a última amostra encontrada, teremos o resultado de 21,1 dias e a uma mediana de 20 dias (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de agrupamento em dois grupos usando algoritmo Ward Linkage.

| Grupos | Número de dias onde amostras foram encontradas | Média de dias do intervalo entre visitas | Média de dias do intervalo onde foram encontradas amostras | Mediana dos dias do intervalo onde foram encontradas as amostras |
|--------|--|--|--|--|
| 1      | 7  | 7,4                                      | 21,1   | 20   |
| 2      | 1  | 18                                       | 80   | 80   |

Na mensuração das distâncias entre os pontos de coleta e lagoas, sedes e estradas externas da fazenda (Fig. 10, 11 e 12) podemos observar que os locais onde foram depositadas

as fezes, trilhas 01 (Ponto B e C) e 02 (Ponto A), estão próximos às lagoas 2, 3 e 4, tanto em linha reta (Tabela 5) quanto por trilhas (Tabela 6) e distantes da sede 1 (> 3000 m) (Tabela 7). O ponto A, localizado na trilha 01, está mais próximo à lagoa 4 (1035 m), já os pontos da trilha 02, o ponto B encontra-se mais próximo à lagoa 2 (42 m) e o Ponto C próximo à lagoa 3 (130 m). O ponto A, B e C estão distantes da sede 1 por 3129 m, 4454 m e 4890 m, respectivamente.

Os pontos de coleta estão distantes das estradas externas da fazenda (>1799 m) (Tabela 8).

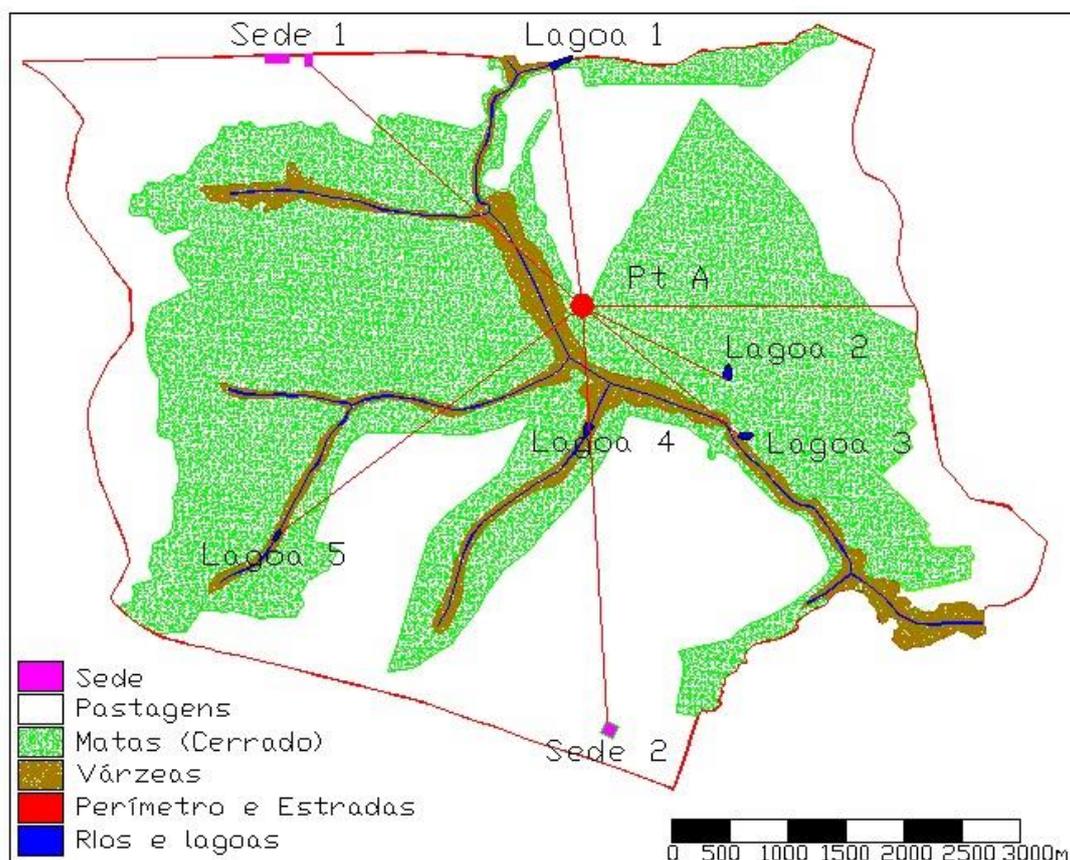


Figura 10. Distâncias do Ponto A para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estrada externa da fazenda.

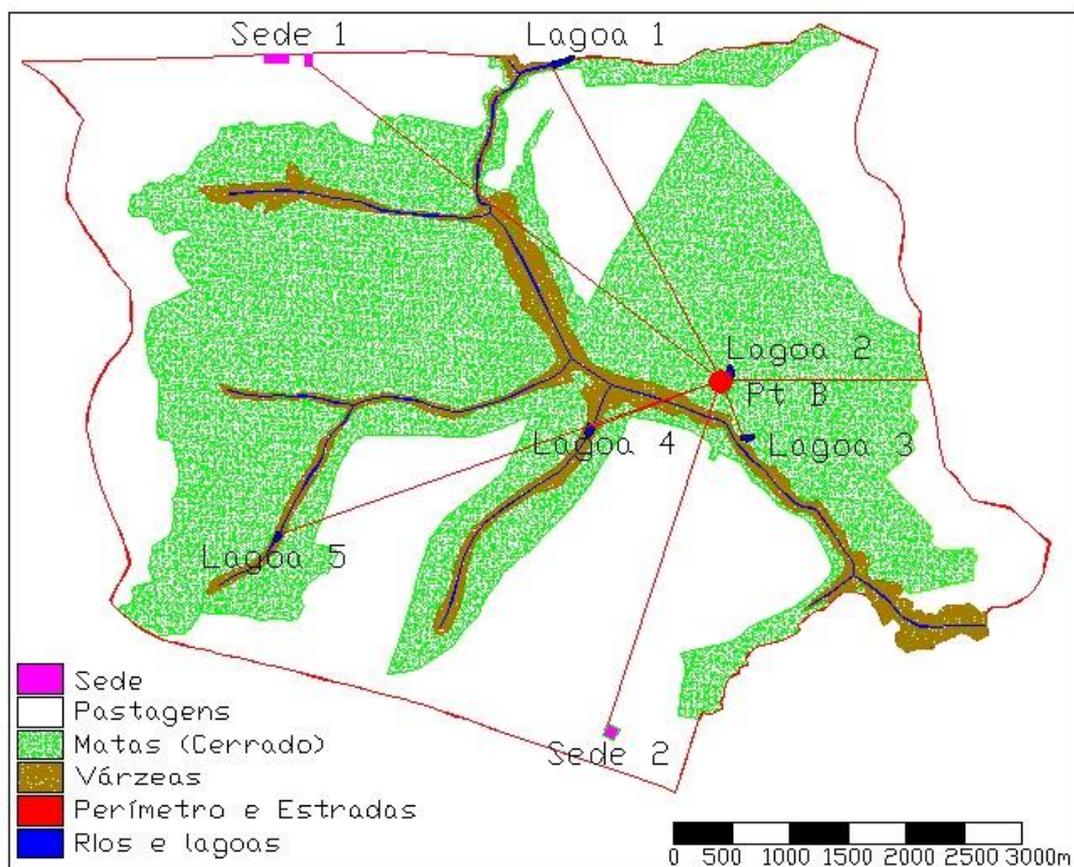


Figura 11. Distâncias do Ponto B para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estrada externa da fazenda.

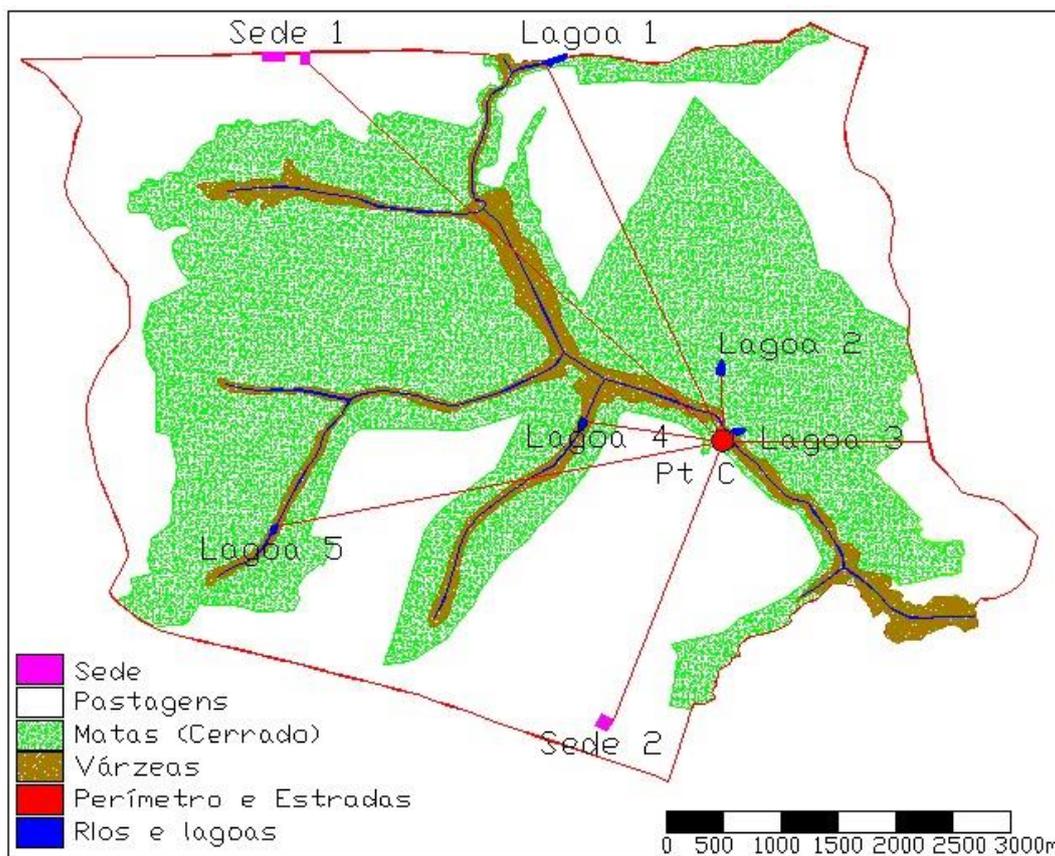


Figura 12. Distâncias do Ponto C para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estrada externa da fazenda.

Tabela 5. Distâncias entre os pontos de coleta e as lagoas, em linha reta (m).

| Lagoas | Pontos de coleta |      |      |
|--------|------------------|------|------|
|        | A                | B    | C    |
| 1      | 2082             | 3074 | 3625 |
| 2      | 1396             | 42   | 578  |
| 3      | 1753             | 501  | 129  |
| 4      | 1035             | 1151 | 1178 |
| 5      | 3255             | 3998 | 3931 |

Tabela 6. Distâncias entre os pontos de coleta e as lagoas, por trilhas (m).

| Lagoas | Pontos de coleta |      |      |
|--------|------------------|------|------|
|        | A                | B    | C    |
| 1      | 2276             | 3246 | 3997 |
| 2      | 2125             | 42   | 704  |
| 3      | 2707             | 632  | 129  |
| 4      |                  | 2324 | 1685 |
| 5      |                  | 5665 | 5064 |

Tabela 7. Distâncias entre os pontos de coleta e as sedes (m).

| Sedes | Pontos de coleta |      |      |
|-------|------------------|------|------|
|       | A                | B    | C    |
| 1     | 3129             | 4454 | 4890 |
| 2     | 3626             | 3121 | 2627 |

Tabela 8. Distâncias entre os pontos de coleta e as estradas externas da fazenda (m).

| Ponto de coleta | A    | B    | C    |
|-----------------|------|------|------|
|                 | 2863 | 1785 | 1799 |

Não foram encontradas amostras nas trilhas 04, 05 e 06. As trilhas 04 e 05 estão próximas à estrada externa da fazenda (<300 m) (Tabela 9) e a trilha 06 está próxima à sede 1 (1312 m) (Tabela 10).

Tabela 9. Distâncias entre as trilhas e as estradas externas da fazenda (m).

| Trilhas | 1    | 2    | 3    | 4   | 5 | 6    |
|---------|------|------|------|-----|---|------|
|         | 1569 | 2468 | 3211 | 248 | 0 | 3016 |

Tabela 10. Distâncias entre as trilhas e as sedes (m).

| Sedes | Trilhas |      |      |      |      |      |
|-------|---------|------|------|------|------|------|
|       | 01      | 02   | 03   | 04   | 05   | 06   |
| 1     | 3061    | 3061 | 2071 | 2695 | 2695 | 1312 |
| 2     | 2615    | 3329 | 3329 | 2999 | 4413 | 5042 |

## DISCUSSÃO

Com os dados encontrados nesse trabalho pudemos comprovar a presença de onças-pardas na área de estudo, através das fezes depositadas e pegadas encontradas. No entanto, a marcação individual através das fezes pode ocorrer ou não em determinadas trilhas. É possível que a distância de locais com determinadas características naturais, como local úmido e/ou próximo de água e a uma maior distância de locais com atividade antrópica (sede e estradas) seja determinante para o depósito de amostras e marcação territorial. Para a discussão foram analisadas as distancias apenas da sede 1, desconsiderando-se a sede 2, pois é na sede 1 onde ocorre o maior número de ações antrópicas e atividades de manejo pecuário. Por um lado, foram encontradas fezes em apenas duas trilhas, as trilhas mais distantes das sedes, mais distantes de estradas externas à fazenda e mais próximas às lagoas. Já as trilhas próximas à estradas e sede não foram encontradas amostras de fezes. Apesar da trilha 04 e 05 ter uma lagoa próxima (lagoa 5), estas trilhas estão próximas à estrada externa da fazenda. Já a trilha 06, apesar de distante da estrada externa da fazenda está próxima à sede 1. Como já observado, em todas as trilhas houve a presença de pegadas de onças-pardas, porém em apenas algumas delas foram encontradas fezes. Dessa forma a marcação territorial desses animais pode estar relacionada aos fatores autoecológicos da própria onça-parda, indicando a comunicação social entre as espécies e indivíduos através das marcações químicas e físicas, preferencialmente em lugares mais isolados de movimentação antrópica. Sendo assim, é possível que a trilha usada para o depósito de fezes possa servir de definição de limite de território para cada indivíduo, entre duas áreas próximas.

Além disso, notamos também que as onças-pardas depositam fezes em momentos específicos, pois houve observação de pegadas em todas as visitas, mas foram encontradas fezes somente em algumas datas.

Com base nas informações pluviométricas do período de coleta, pode-se constatar a possível relação da ausência ou presença de fezes aos fatores abióticos, uma vez que em nenhum dia chuvoso foi encontrado amostras de fezes. Isso pode ser devido às fezes serem facilmente perdidas durante períodos chuvosos, ocasionados por enxurradas.

Um dado importante apresentado nesse trabalho, de acordo com as análises de agrupamento, foi a estimativa de um intervalo de dias que otimize as visitas a campo. Analisando os grupos onde ocorreu presença do maior número de amostras encontradas, com a média do número de dias do intervalo entre as visitas de 8,7 dias para o agrupamento em três grupos e 7,4 para dois grupos, nos mostra que 7 – 9 dias é um intervalo ótimo para uma visita ao campo, com fins de encontrar fezes de onças-pardas. Sendo assim, podemos dizer que em visitas a campo realizadas a cada 7-9 dias poderíamos encontrar um número aproximado ou, até, o mesmo número de amostras (11) em apenas 6 ou 7 visitas, ao invés de 25 visitas como foram feitas. Por outro lado, ao analisar a média de dias no intervalo desde a última amostra encontrada, poderíamos dizer que foi mais provável encontrarmos amostras com intervalo de visitas a 7-9 dias e com a última amostra encontrada por volta de 20 dias.

Os resultados mostram, ainda, o caminho para um maior esclarecimento sobre variáveis influenciando a presença de amostras deixadas por onças-pardas, em trabalhos futuros. Certamente as características dos fatores abióticos e atividades antrópicas devem ser consideradas para uma determinada área. De acordo com as características da área podemos observar uma maior frequência do encontro de fezes em locais próximos a corpos d'água e distantes da sede onde ocorre atividade antrópica intensa.

A presença de onças pardas, que requer grandes extensões de terras como área de vida, pode estar relacionada aos diferentes graus de qualidade das fitofisionomias deste fragmento, e principalmente a grande diversidade de presas encontradas. Somando-se a isto, este remanescente parece não estar isolado, podendo estar ligado com outros fragmentos por meio

de corredores de mata ciliar. Portanto, tais corredores podem estar sendo utilizados pelos animais para se movimentarem entre os fragmentos (Martins 2009). Assim, a frequência dessa espécie encontrada em todo o remanescente, pode estar associada por se mover muito, em busca de alimento ou devido à sua área de vida (Dickson e Beier 2002).

## **IMPLICAÇÕES PARA O MANEJO DO MEIO AMBIENTE**

As ações antrópicas, os fatores bióticos e/ou abióticos podem influenciar o sucesso de coleta de amostras em campo, importantes para o estudo das espécies e populações locais onde têm diminuído a sua distribuição e densidade, aumentando assim, o risco de extinção a curto, médio e longo prazos. As informações de campo, em estudos com coleta de amostras não invasivas, favorecem o desvendar da vida natural das espécies e monitorar populações de vida livre, importantes agentes ecológicos no equilíbrio dos ecossistemas.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biociências, da UNESP/Assis-SP e ao PROAP pela auxílio na pesquisa de campo. À CATI – Assis/SP, por fornecer as observações termo-pluviométricas da cidade de Campos Novos Paulista, SP. Ao proprietário da fazenda Alvorada de Bragança, Léo Steinbruch, por permitir a realização do estudo na área e ao administrador, senhor Junior, por auxiliar no campo.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Albaugh, G. P., Iyengar, V., Lohani, A. 1992. Isolation of exfoliated colonic epithelial cells, a novel, non-invasive approach to the study of cellular markers. *International Journal of Cancer* 52: 347-350.

- Albone, E. S. 1984. *Mammalian Semiochemistry: The Investigation of Chemical Signals Between Mammals*; Wiley: New York, NY, USA.
- Bang, P., Dahlstrom, P. 1975. *Huellas y Señales de los Animales de Europa*. Barcelona: Omega.
- Bitencourt, M. D. e Mendonça, R. R. 2004. Viabilidade de conservação dos remanescentes de cerrado do Estado de São Paulo. *Annablume/FAPESP*, São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Bitencourt, M. D., Mesquita Jr., H. N., Kuntschik, G., Rocha, H. R. e Furley, P. A. 2007. Cerrado vegetation study using optical and radar remote sensing: two Brazilian case studies. *Canadian Journal of Remote Sensing* 33: 468-480.
- Carvalho, O. Jr., Luz, N. C. 2008. *Pegadas: Series Boas Praticas*. EDUFPA, Belém, PA.
- Centro de Divulgação Científica e Cultural (CDCC). 2014. Página inicial USP <<http://cdcc.sc.usp.br>>. acesso 20 jun 2014.
- Chame, M. 2003 Terrestrial mammal feces: a morphometric summary and description. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98: 71-94.
- Dickson, B. G. e Beier, P. 2002. Home range and habitat selection by adults cougars in southern California. *Journal of Wildlife Management* 66: 1235-1245.
- Durigan, G., Bacic, M. C., Franco, G. A. D. C. e Siqueira, M. F. 1999. Inventário florístico na Estação ecológica de Assis. *Hoehnea* 26: 149-172.
- Durigan, G., Franco, G. A. D. C. e Siqueira, M. F. 2004. A vegetação remanescente de cerrado no Estado de São Paulo. In: Bitencourt, M. D.; Mendonça. R. R. (Eds.). Viabilidade de conservação dos remanescentes de cerrado do estado de São Paulo. São Paulo: Annablume/FAPESP 17-28.
- Fernando, P., Vidya, T. N. C., Rajapakse, C., Dangolla, A. e Melnick, D. J. 2003. Reliable Noninvasive Genotyping: Fantasy or Reality? *Journal of Heredity* 94: 115–123.
- Frei, F. 2006. *Análise de Agrupamentos: Teoria e Prática*. Editora Unesp, São Paulo, Brasil.

- Gorman, M. L e Trowbridge, B. J. 1989. The role odor in the social lives carnivores. In JL Gittleman, Carnivore Behaviour, Ecology and Evolution, Chapman e Hall Ltd, New York, 57-88.
- Kauhala, K.; Auniola, M. 2001. Diet of raccoon dogs in summer in the Finnish archipelago. *Ecography* 24: 151-156.
- Kohn, M. H., Wayne, R. K. 1997. Facts from feces revisited. *Trends in Ecology and Evolution* 12: 223-227.
- Kronka, F., Matsukuma, C. K. Nalon, M. A., Del Cali, I. H., Rossi, M., Mattos, I. F. A., Shin-Ike\_Ywane, M. S. e Pontinhas, A. A. S. 1993. Inventário florestal do Estado de São Paulo. SMA, São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Liebenberg, L. 2000. Tracks and Tracking in Southern Africa. Struik Publishers, Cape Town.
- Martins, I. A. 2009. Análise geográfica computadorizada na estimativa de qualidade ambiental para mamíferos de médio e grande porte. Dissertação, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Miotto, R. A., Rodrigues, F. P., Ciocheti, G., Galetti Jr, P. M. 2007. Determination of the minimum population size of pumas (*Puma concolor*) through faecal DNA analysis in two protected cerrado areas in the Brazilian Southeast. *Biotropica* 39: 647-654.
- Miotto, R. A., Cervini, M., Begotti, R. A., Galetti Jr, P. M. 2012. Monitoring a Puma (*Puma concolor*) population in a fragmented landscape in Southeast Brazil. *Biotropica* 44: 98-104.
- Moro-Rios, R. F., Silva-Pereira, J. E., Silva, P. W., Moura-Britto, M., Patrocínio, D. N. M. 2008. Manual de Rastros da Fauna Paranaense. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

- Nakano-Oliveira, E. 2002. Ecologia alimentar e área de vida de carnívoros da Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, SP (Carnivora: Mammalia). Dissertação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Pires, A. E. e Fernandes, M. L. 2003. Last lynxes in Portugal? Molecular approaches in a pre-extinction scenario. *Conservation Genetics* 4: 525-532.
- Primack, R. B.; Rodrigues, E. 2001. *Biologia da conservação*. Vida, Londrina, Parana, Brasil.
- São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. 2008. *Diretrizes para a conservação e restauração da biodiversidade no Estado de São Paulo*. SMA, São Paulo, Brasil.
- Soso, S. B., Koziel, J. A., Johnson, A., Young, J. L., Fairbanks, W. S. 2014. Analytical Methods for Chemical and Sensory Characterization of Scent-Markings in Large Wild Mammals: A Review. *Sensors* 14: 4428-4465.
- Vieira, M. V., Faria, D. M., Fernandez, F. A. S., Ferrari, S. F., Freitas, S. R. Gaspar, D. A., Moura, R. T.; Olifiers, N., Oliveira, P. P., Pardini, R., Pires, A. S., Ravetta, A., Mello, M. A. R., Ruiz, C. R., Setz, E. Z. F. 2003. Mamíferos. In: *Mamíferos do Meio Ambiente – Secretaria de Biodiversidade e Floresta. Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas*. Brasília: MMA/SBF, 125-151.
- Waits, L. P., Paetkau, D. 2005. Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management* 69:1419–1433.
- Wayne, R. K., Morin, P. A. 2004. Conservation genetics in the new molecular age. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2: 89–97.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição do domínio do Cerrado no estado de São Paulo (Centro de Divulgação Científico e Cultural, USP: <http://cdcc.sc.usp.br>). O mapa em destaque apresenta a localização da área de estudo na cidade de Campos Novos Paulista (Google Earth, 2014).

Figura 2. Pegadas de onça-parda

Figura 3. Fezes de onça-parda

Figura 4. Delimitação das estradas e trilha da área de estudo, e marcação, dos pontos de coleta gerada, pelo aparelho pós-processado GPS Pro XR 12 canais TRIMBLE.

Figura 5. A. Mosaico com 20 fotos compondo a área de estudo. B. Sobreposição das delimitações das áreas de mata (Cerrado), rios e várzeas e pastagens, na imagem topográfica da área de estudo.

Figura 6. Trilhas (numeradas) e estradas percorridas para coleta de amostras de fezes de onça-parda

Figura 7. Pontos de coleta de amostras na área de estudo. Ponto A – localizado na trilha 2, Ponto B e C – localizado na trilha 1.

Figura 8. Diagrama de caixa da variável “Intervalo entre visitas”, usando o algoritmo Complete Linkage.

Figura 9. Diagrama de caixa da variável “Intervalos entre visitas” e “Intervalo desde a última amostra encontrada”, usando algoritmo Ward Linkage.

Figura 10. Distâncias do Ponto A para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estrada externa da fazenda.

Figura 11. Distâncias do Ponto B para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estradas externas da fazenda.

Figura 12. Distâncias do Ponto C para as sedes (1 e 2), as lagoas (1, 2, 3, 4 e 5) e estradas externas da fazenda.

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Quadro com as variáveis utilizadas e a motivação de uso para cada uma delas.

Tabela 2. Informações sobre as saídas de campo e coleta de amostras. Intervalos entre as datas (dias) e precipitação (mm) do período de coleta.

Tabela 3. Análise de agrupamento em três grupos usando algoritmo Complete Linkage.

Tabela 4. Análise de agrupamento em dois grupos usando algoritmo Ward Linkage.

Tabela 5. Distâncias entre os pontos de coleta e as lagoas, em linha reta (m).

Tabela 6. Distâncias entre os pontos de coleta e as lagoas, por trilhas (m).

Tabela 7. Distâncias entre os pontos de coleta e as sedes (m).

Tabela 8. Distâncias entre os pontos de coleta e as estradas externas da fazenda (m).

Tabela 9. Distâncias entre as trilhas e as estradas externas da fazenda (m).

Tabela 10. Distâncias entre as trilhas e as sedes (m).

## **CONCLUSÕES GERAIS**

Nosso trabalho indica que existem outras variáveis, além da autoecologia da espécie de interesse, no caso, variáveis abióticas e de cunho antrópico, que influenciam na capacidade de coleta de fezes para estudos de ecologia comportamental de grandes felinos. É possível indicar que levando-se em conta essas variáveis nos projetos de estudo, que se poderá maximizar o esforço amostral, economizando em recursos e tempo utilizados na pesquisa. Tais pesquisas são importantes para o estudo das espécies e populações locais onde tem diminuído a sua distribuição e densidade, aumentando assim, o risco de extinção a curto, médio e longo prazos. As informações de campo, em estudos com coleta de amostras não invasivas, favorecem o desvendar a vida natural das espécies e monitorar populações de vida livre, importantes agentes ecológicos no equilíbrio dos ecossistemas.