

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/12/2025.

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

GENÉTICA E ESTIMATIVA POPULACIONAL DE UMA NOVA
UNIDADE EVOLUTIVA DE *Mazama* NO PARQUE
ESTADUAL DO RIO DOCE, MINAS GERAIS

Jeferson Lucas Sousa Freitas

Biólogo

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

**GENÉTICA E ESTIMATIVA POPULACIONAL DE UMA NOVA
UNIDADE EVOLUTIVA DE *Mazama* NO PARQUE
ESTADUAL DO RIO DOCE, MINAS GERAIS**

Discente: Jeferson Lucas Sousa Freitas
Orientador: Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte
Coorientador: Dr. Pedro Henrique de Faria Peres

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração Genética e Melhoramento Animal.

F866g

Freitas, Jeferson Lucas Sousa

Genética e estimativa populacional de uma nova unidade evolutiva de Mazama no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais / Jeferson Lucas Sousa Freitas. -- , 2023

106 p. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal,

Orientador: José Maurício Barbanti Duarte

Coorientador: Pedro Henrique de Faria Peres

1. Genética animal. 2. Ecologia populacional. 3. Biodiversidade. 4. Conservação. 5. Cervídeos. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: GENÉTICA E ESTIMATIVA POPULACIONAL DE UMA NOVA UNIDADE EVOLUTIVA DE *Mazama* NO PARQUE ESTADUAL DO RIO DOCE, MINAS GERAIS

AUTOR: JEFERSON LUCAS SOUSA FREITAS

ORIENTADOR: JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE

COORIENTADOR: PEDRO HENRIQUE DE FARIA PERES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Genética e Melhoramento Animal pela Comissão Examinadora:

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

Documento assinado digitalmente
 JOSE MAURICIO BARBANTI DUARTE
Data: 16/12/2023 15:08:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ALEXANDRE VOGLIOTTI (Participação Virtual)
Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) / Foz do Iguaçu/PR

Documento assinado digitalmente
 ALEXANDRE VOGLIOTTI
Data: 18/12/2023 14:06:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. MERCIVAL ROBERTO FRANCISCO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Ambientais / Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Sorocaba/SP

Documento assinado digitalmente
 MERCIVAL ROBERTO FRANCISCO
Data: 18/12/2023 09:06:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 15 de dezembro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Jeferson Lucas Sousa Freitas, natural de Limoeiro do Norte, Ceará, é Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Ceará (2014 – 2019). Durante a graduação, foi beneficiário de três bolsas de Iniciação Científica no Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução (LFCR) pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP; 08/2015 – 07/2016 e 04/2018 – 03/2019) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 01/2017 – 07/2017). Nesse período, participou de projetos de pesquisas envolvendo métodos de biologia molecular aplicados à reprodução e animal e parasitologia. Trabalhou como Analista Ambiental na SETEG – Soluções Geológicas e Ambientais (2019 – 2020), onde realizou atividades de consultoria em meio ambiente como licenciamento, auditoria, controle e monitoramento ambiental, bem como implementação de programas de manejo de fauna silvestre. Ingressou em 2021 no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, curso Mestrado, da Universidade Estadual Paulista, câmpus Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte, ocasião na qual passou a ser membro do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE). Foi bolsista de mestrado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; 01/2021 – 11/2021) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; 12/2021 – 08/2023). Também pela FAPESP, foi beneficiário de uma Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE; 08/2022 – 02/2023), executada na Universidade de Durham, Inglaterra, Reino Unido, sob orientação do Prof. Dr. Philip Andrew Stephens. Nesse estágio, se dedicou a análises de estimativa de densidade populacional de cervídeos florestais neotropicais a partir de amostragem fecal.

Look deep into nature, and then you will understand everything better

Albert Einstein

À minha mãe, Lúcia de Fátima Soares de Sousa,
dedico

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; Processo nº 88887.597519/2021-00) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; Processos nº 2021/02087-2 e 2022/06502-7), pelo financiamento que permitiu a execução deste mestrado, bem como pelo salário que permitiu minha manutenção ao longo de quase três anos.

À Maurício Barbanti, Pesquisador, Professor e Orientador, por ter sido exemplo de profissional compromissado, que não se acovarda frente a desafios que para muitos seria motivo de desistência, por todos os ensinamentos e oportunidades concedidas desde antes de me conhecer.

À Pedro Peres, que teve papel triplo durante minha trajetória como Coorientador, colaborar direto em várias esferas, e sobretudo amigo, pela parceria, trocas, acadêmicas e não acadêmicas, e constante incentivo.

À Philip Stephens, supervisor durante meu intercâmbio na Inglaterra, e demais membros do *Conservation Ecology Group* na Universidade de Durham, pela receptividade, vivências e aprendizados.

Ao Parque Estadual do Rio Doce (PERD), seus colaboradores e outros profissionais ligados a projetos na área, pelo acolhimento e colaboração que viabilizaram a coleta de dados.

À Nicks, cadela de faro responsável por ter encontrado as amostras fecais que formam a base deste mestrado, pelo companheirismo e momentos de alegria.

Aos amigos e colegas do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE),

Isabel Lima, conterrânea do Nordeste, meu primeiro contato e quem primeiro me ajudou a navegar nesse lugar desconhecido, pela amizade e parceria, por ter sido um pouco de “casa” para mim e ter me ajudado a compreender melhor minhas raízes.

Francisco Grotta-Neto e Rullian Ribeiro, pela amizade e companheirismo, dentro e fora do NUPECCE, e especialmente pelas vivências de campo que foram parte essencial na minha formação. Márcio Oliveira, sem o qual eu não teria realizado o sonho de estudar no exterior, pelo apoio e generosidade.

Agda Bernegossi, Dolores Vallejo, Eluzai Sandoval, Gabrielle Vacari, Juan Hernández, Liss Moreno, Raquel Bonato e Valdir Nogueira-Neto, amigos e colegas “da genética”, com os quais convivi diariamente, pela companhia agradável e momentos de distração.

Bianca Ferrari, Bruno Ricci, Claudia Ribas, Eduard Guevara, Isabela Trentini, Laís Souza, Lara Gragnanello, Maria Baldini, Thaylane Financi e Vinicius dos Santos, pelos bons momentos de convivência que deixaram a rotina diária mais leve. Eveline Zanetti, João Boer e Nayara de Oliveira, assim como os demais colaboradores, pela solicitude e gentileza.

Aos amigos fora do NUPECCE,

Em particular os que fiz durante meus últimos meses em Jaboticabal, enquanto morava na República Toca Foco, Armando Brito, Breno Santos, Fernanda Lefort, Francisco Amaral, Igor Vieira, Jardel Souza, Lucas Natan e Theodora Totti, pela amizade e pelos momentos de diversão, e, em última instância, por terem sido refúgio.

À Eduardo Triboni, Felipe Marques e Matheus Rocha, amigos brasileiros que fiz durante o intercâmbio, pela amizade e apoio, sobretudo emocional, mais que necessários durante esse período longe de casa – e de tudo que me era familiar.

À Luciana Melo, Orientadora durante minha graduação, responsável por minha base científica, sem a qual esse mestrado certamente teria sido (ainda) mais difícil, e à Vicente Freitas, pelos ensinamentos, oportunidades e amizade.

À Thaís, esposa, amiga, inspiração como pessoa e pesquisadora, com quem espero compartilhar o resto da minha vida, pelos nove anos juntos, preenchidos por carinho e amor, por acreditar e fazer de mim uma pessoa melhor.

À minha família, particularmente minha mãe Lúcia, irmã Paula e irmãos Armando e Mateus, por serem meu lugar no mundo e pelo amor e apoio incondicionais. E às minhas tias Francilúcia, Lucila, Maria, Nila e Socorro, pelo apoio, carinho e contribuição fundamental para minha formação, sobretudo na infância.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	III
ABSTRACT.....	IV
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	01
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	06
2.1 Gênero <i>Mazama</i> Rafinesque, 1817.....	06
2.2 Veado-mateiro-pequeno (<i>Mazama jucunda</i> Thomas, 1913).....	09
2.3 Estimativas populacionais em cervídeos florestais.....	13
3 REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2 – DESCOBERTA DE UMA POPULAÇÃO DO VEADO-MATEIRO PEQUENO (<i>Mazama jucunda</i>) GENETICAMENTE ESTRUTURADA: UNIDADE EVOLUTIVA SIGNIFICATIVA OU NOVA ESPÉCIE?.....	22
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
2.1 Área de estudo.....	26
2.2 Amostras fecais.....	27
2.3 Amostras de animais de referência.....	29
2.4 Extração, amplificação e sequenciamento das amostras.....	34
2.5 Caracterização da matriz de DNA.....	37
2.6 Análise filogenética.....	37
2.7 Delimitação molecular de espécies.....	38
2.8 Rede de haplótipos e distância genética.....	39
3 RESULTADOS.....	40
3.1 Coleta e triagem das amostras fecais.....	40
3.2 Sequenciamento e caracterização da matriz de DNA.....	41
3.3 Filogenia e delimitação molecular de espécies.....	42
3.4 Rede de haplótipos e distância genética.....	44
4 DISCUSSÃO.....	46
5 CONCLUSÃO.....	49
6 REFERÊNCIAS.....	50
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	57
CAPÍTULO 3 – NEOTROPICAL FOREST DEER DENSITY ESTIMATES BASED ON DUNG PILES COUNTS: ANALYTICAL IMPROVEMENTS.....	58
1 INTRODUCTION.....	59
2 MATERIALS AND METHODS.....	61
2.1 Study area.....	61
2.2 Dung pile sampling.....	62
2.3 Dog trial surveys.....	63

2.4 Parameters estimates.....	64
2.5 Density estimates.....	67
3 RESULTS.....	70
3.1 Dung pile sampling.....	70
3.2 Parameters estimates.....	71
3.3 Density estimates.....	73
4 DISCUSSION.....	77
5 CONCLUSION.....	84
6 REFERENCES.....	84
SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	90

GENÉTICA E ESTIMATIVA POPULACIONAL DE UMA NOVA UNIDADE EVOLUTIVA DE *Mazama* NO PARQUE ESTADUAL DO RIO DOCE, MINAS GERAIS

RESUMO – A taxonomia do gênero *Mazama* apresenta lacunas devido a elevados níveis de divergência genética entre espécies morfologicamente muito semelhantes, além de serem elusivas, o que dificulta estudos como mapeamento da distribuição geográfica e estimativas populacionais. Recentemente foi descoberta uma população de *Mazama* no Parque Estadual do Rio Doce (PERD), Minas Gerais, entretanto, não foi possível realizar sua identificação ao nível de espécie. Além de identificar a espécie, dados demográficos são essenciais para conservação dessa população, posto que valores de densidade populacional são parâmetros-chave na avaliação de risco de extinção. Uma vez que métodos de estimativa populacional baseados em observação direta são pouco efetivos em espécies elusivas, abordagens indiretas são uma alternativa, por exemplo a coleta de amostras fecais seguida da identificação em nível de espécie. Entretanto, por se tratar de um método indireto, alguns parâmetros precisam ser estimados, requerendo tratamento estatístico minucioso. Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivos identificar a espécie de *Mazama* que ocorre no PERD e estimar a densidade populacional na área, servindo como estudo de caso para aperfeiçoar a abordagem analítica de estimativa populacional de cervídeos florestais a partir de amostragem fecal. Para identificação da espécie, amostras de referência e fecais, coletadas no PERD e de outras áreas, foram sequenciadas para seis fragmentos de regiões mitocondriais. Foram realizadas análises filogenéticas por Inferência Bayesiana e implementados métodos coalescentes de delimitação molecular de espécies (GMYC e bPTP) para identificar unidades taxonômicas operacionais moleculares (MOTUs). Ainda, foi construída uma rede de haplótipos e gerada uma matriz de distância genética. Para estimativa populacional, as amostras fecais coletadas foram usadas em dois métodos diferentes, Amostragem por Distância Indireta e o *Faecal Standing Crop* (FSC). Os parâmetros necessários para implementar esses métodos foram estimados por modelagem estatística específica para cada parâmetro. A hipótese filogenética recuperou as amostras do PERD e de *M. jucunda* no mesmo clado, porém de modo reciprocamente monofilético, correspondendo a duas MOTUs exclusivas. O PERD possui haplótipos exclusivos e sua distância genética com *M. jucunda* equipara-se àquela entre *M. jucunda* e *M. nana*. Os valores de densidade populacional variaram de $1,2 \pm 0,42$ a $2,03 \pm 0,69$ ind./km² (média $\pm$ erro padrão). Assim, considerando a área do PERD de aproximadamente 306 km², a população é composta de 367 a 621 indivíduos. Neste trabalho nós reportamos uma nova população de *M. jucunda*, representando uma Unidade Evolutiva Significativa na espécie. Entretanto, a estruturação genética observada e o contexto de isolamento do PERD evidenciam a possibilidade de serem espécies distintas. Os valores de densidade estão dentro da faixa relatada na literatura, e as análises implementadas representam um importante avanço nas abordagens de estimativa populacional de cervídeos florestais a partir de amostragem fecal.

Palavras-chave: *Mazama*, Unidade Evolutiva Significativa, Estimativa populacional

GENETICS AND POPULATION ESTIMATE OF A NEW *Mazama* EVOLUTIONARY UNIT IN THE RIO DOCE STATE PARK, MINAS GERAIS

ABSTRACT – The taxonomy of the genus *Mazama* presents gaps due to high levels of genetic divergence among morphologically very similar species, as well as their elusive nature, which pose challenges for studies such as geographical distribution mapping and population estimates. Recently, a *Mazama* population was discovered in the Rio Doce State Park (PERD), Minas Gerais; however, it was not possible to identify it to species level. In addition to the species identification, demographic data is essential for the conservation of this population, as population density values are key parameters in assessing the risk of extinction. Since direct observation-based population estimation methods are not effective for elusive species, indirect approaches are an alternative, such as dung pile collection followed by species identification. However, as it is an indirect method, some parameters need to be estimated, requiring careful statistical treatment. In this context, this study aimed to identify the *Mazama* species occurring in PERD and estimate the population density in the area, making it a case study to refine the analytical approach for population estimation of forest deer species based on dung pile sampling. For the species identification, reference and fecal samples, collected in PERD and other areas, were sequenced for six fragments of mitochondrial regions. Phylogenetic analyses were performed using Bayesian Inference, and coalescent molecular species delimitation methods (GMYC and bPTP) were implemented to identify Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs). Additionally, a haplotype network was constructed, and a genetic distance matrix was generated. For the population estimation, the fecal samples collected were used in two different methods, Indirect Distance Sampling and Faecal Standing Crop (FSC). The parameters required to implement these methods were estimated through statistical modeling specific to each parameter. As a result, the phylogenetic hypothesis recovered the samples from PERD and *M. jucunda* in the same clade, but in a reciprocally monophyletic manner, corresponding to two exclusive MOTUs. PERD has exclusive haplotypes, and its genetic distance from *M. jucunda* is similar to that between *M. jucunda* and *M. nana*. Population density values ranged from 1.2 ± 0.42 to 2.03 ± 0.69 individuals/km² (mean $\pm$ standard error). Thus, considering the approximate 306 km² area of PERD, the population consists of 367 to 621 individuals. In this study, we report a new population of *M. jucunda*, representing a Significant Evolutionary Unit. However, the observed genetic structuring and the isolation context of PERD highlight the possibility of a new species. The density values fall within the range reported in the literature, and the implemented analyses represent a significant advancement in population density estimation approaches for forest deer based on dung pile sampling.

Keywords: *Mazama*, Significant Evolutionary Unit, Population Estimation

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1 INTRODUÇÃO

A família Cervidae, grupo dos cervídeos, cervos e veados, constitui-se de animais ungulados pertencentes à ordem Artiodactyla, subordem Ruminantia, sendo a segunda família mais numerosa com 18 gêneros e pelo menos 55 espécies (Zurano et al., 2019; Prothero et al., 2022). Os primeiros cervídeos chegaram no continente sul americano pelo istmo do Panamá por volta de 2,5 milhões de anos atrás, no final do Plioceno (Stehli e Webb, 1985). A partir de pelo menos oito linhagens ancestrais, passaram por uma intensa irradiação adaptativa na colonização da América do Sul em decorrência, provavelmente, da ausência de outros ruminantes no continente (Webb, 2000; Duarte et al., 2008).

Na região Neotropical, os cervídeos podem ser divididos morfologicamente, de modo simplificado, em dois principais grupos – 1) espécies de áreas “fechadas” (Figura 01, A-C): animais de pequeno a médio porte, 30-65 cm de altura e 6-40 kg de peso, machos com chifres simples e adaptações para ambientes florestais densos, englobando os gêneros *Mazama*, *Subulo*, *Passalites* e *Pudu*; e 2) espécies de áreas “abertas” (Figura 01, D-F): animais de médio a grande porte, 65-130 cm de altura e 30-130 kg de peso, machos com chifres ramificados e adaptações para ambientes mais abertos, como florestas menos densas, campos e savanas, compreendendo os gêneros *Odocoileus*, *Hippocamelus*, *Ozotoceros* e *Blastocerus* (Bernegossi et al., 2023; Merino e Rossi, 2010; Morales-Donoso et al., 2023).

Taxonomicamente, todos os cervídeos neotropicais integram a subfamília Capreolinae e tribo Odocoileini (Heckeberg et al., 2016), que é ainda dividida em dois grupos, denominados por Duarte et al. (2008) de “clado vermelho” e “clado cinza”. Já Heckeberg et al. (2016) definiram essa subdivisão em duas subtribos, Odocoileina (“clado vermelho”) e Blastocerina (“clado cinza”). São gêneros da subtribo Blastocerina: *Blastocerus*, *Ozotoceros*, *Hippocamelus*, *Subulo*, *Passalites*, *Pudu* e *Mazama*; e subtribo Odocoileina: *Odocoileus* e *Mazama* (Heckeberg et al., 2016; Bernegossi et al., 2023; Morales-Donoso et al., 2023).

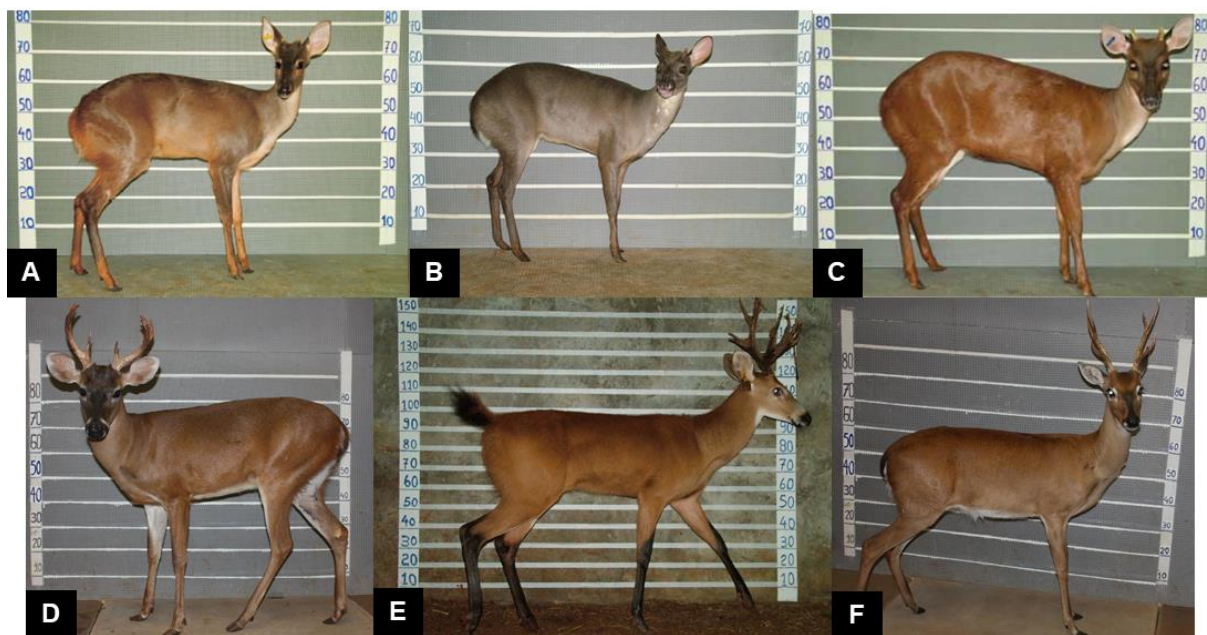


Figura 01. Cervídeos com ocorrência no Brasil representando espécies de áreas “fechadas” (A, B e C) e “abertas” (D, E e F). A = *Subulo gouazoubira*. B = *Passalites nemorivagus*. C = *Mazama rufa*. D = *Odocoileus virginianus cariacou*. E = *Blastocerus dichotomus*. F = *Ozotoceros bezoarticus*. Escala em centímetros. Fonte: Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE).

Em nível específico, são consideradas 18 espécies para tribo Odocoileini (Merino e Rossi, 2010; Heckeberg et al., 2016), das quais apenas *Odocoileus hemionus* não ocorre no Neotrópico. Trabalhos taxonômicos recentes levaram a mudanças no arranjo taxonômico da tribo, incluindo, por exemplo, revalidação (Jorge e Benirschke, 1977; Duarte e Jorge, 2003; Peres et al., 2021a) e sinonimização de espécies (Gutiérrez et al., 2015; Mantellatto et al., 2022) e mudança de gênero (Bernegossi et al., 2023; Morales-Donoso et al., 2023; Sandoval et al., 2023), porém o número de espécies Neotropicais permanece, por enquanto, 17, conforme listado abaixo.

Tribo Odocoileini

Subtribo Odocoileina

Odocoileus hemionus (Rafinesque, 1817) – região Neoártica

Odocoileus virginianus (Zimmermann, 1780)

Odocoileus pandora (Merriam, 1901)

Mazama americana (Erxleben, 1777)

Mazama temama (Kerr, 1792)

Mazama rufa (Illiger 1811)
Mazama rufina (Bourcier e Pucheran, 1852)
Mazama nana (Hensel, 1872)
Mazama jucunda Thomas, 1913

Subtribo Blastocerina

Hippocamelus bisulcus (Molina, 1784)
Hippocamelus antisensis (d'Orbigny, 1834)
Blastocerus dichotomus (Illiger, 1815)
Ozotoceros bezoarticus (Linnaeus, 1758)
Subulo gouazoubira (Fischer, 1814)
Passalites nemorivagus (Cuvier, 1817)
Mazama chunyi Hershkovitz, 1959
Pudu puda (Molina, 1782)

Pudu mephistopheles (De Winton, 1896) – posição incerta entre as subtribos (Heckeberg, 2020)

Apesar de a região neotropical ser um *hotspot* de diversidade para os cervídeos, a evolução e sistemática do grupo nesta região ainda é desconhecida devido à escassez de registros fósseis (Webb, 2000). Entretanto, estudos realizados nas últimas décadas usando marcadores mitocondriais para reconstruir a história filogenética do grupo têm contribuído para mudar esse cenário. Destaca-se o trabalho realizado por Duarte et al. (2008) (Figura 02) usando um fragmento do gene mitocondrial Citocromo b (CYTB) para realizar análises filogenéticas incluindo representantes de todos os gêneros neotropicais. Entre os achados mais surpreendentes, ressaltam-se os elevados níveis de divergência molecular e citogenética entre espécies morfológicamente muito semelhantes, naquele momento todas incluídas no gênero *Mazama*, associadas em menor ou maior grau a ambientes florestais. Esse estudo serviu como marco para diversos trabalhos que seriam realizados posteriormente com intuito de auxiliar na resolução taxonômica do grupo, especialmente àqueles utilizando análises citogenéticas (González e Duarte, 2020).

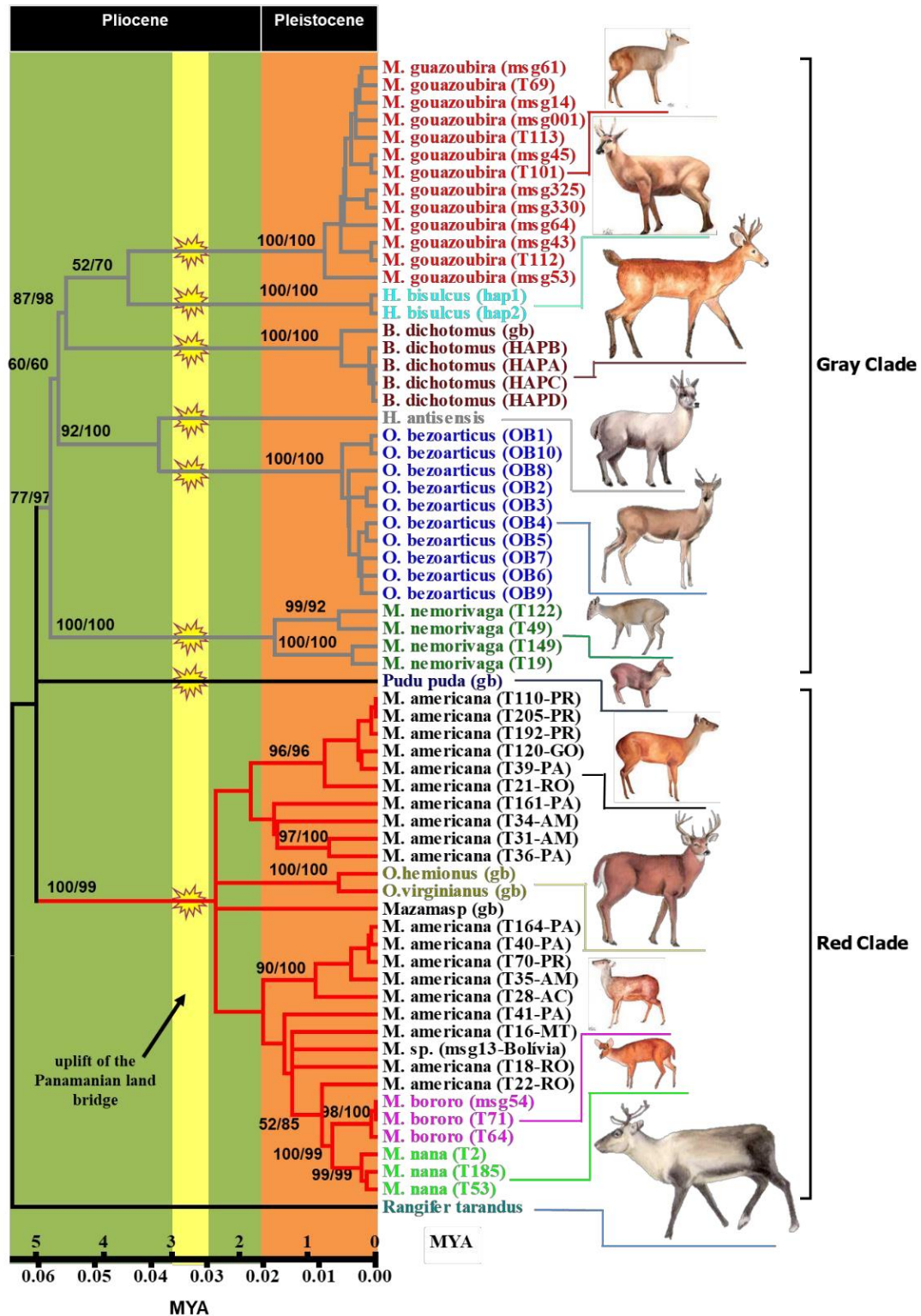


Figura 02. Relações filogenéticas de cervídeos neotropicals (Odocoileini: Capreolinae: Cervidae) inferidas a partir de uma matriz de 934 pb do gene mitocondrial CYTB. O suporte dos clados é apresentado através de valores de bootstrap e probabilidade posterior (>50%). Os clados vermelho e cinza são, respectivamente, homólogos às subtribos Odocoileina e Blastocerina sensu Heckberg et al. (2016). Figura publicada por Duarte et al. (2008).

As espécies de cervídeos florestais com ocorrência no Brasil estão atualmente alocadas em três gêneros, *Subulo*, *Passalites* e *Mazama* (Figura 01, A-C). As duas primeiras são da subtribo Blastocerina; já *Mazama* possui representantes nas duas subtribos (vide lista de espécies anteriormente apresentada), sendo, portanto, classificado como um táxon não-monofilético (Gilbert et al., 2006; Duarte et al., 2008; Gutiérrez et al., 2017; Zurano et al., 2019; Heckeberg, 2020). A transferência de *M. chunyi* para o gênero *Subulo* já foi sugerida (Bernegossi et al., 2023) mas não foi formalmente avaliada.

Além da problemática taxonômica, há também escassez de estudos ecológicos com essas espécies pois, além do fato de serem morfologicamente semelhantes, são raras e extremamente elusivas (González e Duarte, 2020). Informações sobre a distribuição geográfica dessas espécies, por exemplo, ainda são incipientes. Tal realidade pode ser exemplificada pela descoberta recente de uma população da espécie amazônica *P. nemorivagus* na Mata Atlântica do Espírito Santo e Bahia (Oliveira et al., 2020). Uma lacuna importante é a identificação da espécie que ocorre no Parque Estadual do Rio Doce (PERD), maior área contínua de Mata Atlântica em Minas Gerais (IEF, 2023). Usando DNA fecal, Oliveira et al. (2020) realizaram uma análise filogenética com fragmentos de um gene mitocondrial e demonstraram que essa população pertence ao gênero *Mazama*, podendo ser, em tese, qualquer espécie do gênero que ocorre no Brasil: *M. americana*, *M. rufa*, *M. jucunda* ou *M. nana*, ou ainda ser uma nova espécie.

Adicionalmente, além de saber quantas espécies existem, quais suas delimitações e onde ocorrem, dados demográficos são essenciais para conservação dessas espécies. Valores de densidade são parâmetros-chave em quatro dos cinco critérios da IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) utilizados para avaliar o grau de risco de extinção de uma espécie (IUCN, 2012). No entanto, estimativas populacionais de espécies elusivas, como os cervídeos florestais neotropicais, são difíceis de obter porque os métodos mais comuns, baseados em observação direta, aérea ou terrestre, não se mostraram eficazes (Fragoso et al., 2016).

A coleta não invasiva de amostras fecais em determinada área, seguido da identificação das amostras em nível de espécie, é uma alternativa viável. Exemplos de tais abordagens são a Amostragem por Distância Indireta (Buckland et al., 2015) e o *Faecal Standing Crop* (FSC) (Eberhardt e Etten, 1956). Todavia, ambos os métodos exigem que sejam estimados alguns parâmetros, por exemplo a taxa de defecação diária da espécie focal e o tempo de persistência/ detectabilidade das amostras no campo. Estimativas confiáveis desses parâmetros requerem o uso de métodos estatísticos robustos para que possam de fato ser úteis em fundamentar ações de manejo e conservação.

Diante desse contexto, este trabalho teve dois objetivos centrais: 1) identificar a espécie de veado do gênero *Mazama* que ocorre no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, através de análises genéticas feitas com DNA fecal (capítulo dois); e 2) aperfeiçoar a abordagem analítica para estimativas de densidade populacional de cervídeos florestais a partir de amostragem fecal (capítulo três).

5 CONCLUSION

In this study we report an improved analytical approach to estimate forest deer density based on dung pile counts when a detection dog is used to find the samples, incorporating the dog's performance as a function of distance and age of the samples. We present an estimate of the defecation rate for neotropical forest deer calculated from empirical data and also compare three methods to obtain estimates of animal density derived from dung density. To showcase this approach, we used as a case study data collected in the Rio Doce State Park (PERD), regarding the Small Red Brocket (*Mazama jucunda*), providing the first density estimate for this recently-found, isolated population and the second ever published estimate for this species. The density results ranged from 1.2 to 2.67 ind./km². As the methods to estimate animal density applied in this study required the estimation of at least two parameters, proper analytical approaches are crucial to obtain reliable estimates. Future studies should conduct a survey respecting all distance sampling premises and apply a more robust statistical approach to estimate the parameters necessary to obtain density estimates based on indirect approaches and also do it from data that is both site- and time-specific.

6 REFERENCES

- Ahrestani FS, Kumar NS, Vaidyanathan S, Hiby L, Jathanna D, Karanth KU (2018) Estimating densities of large herbivores in tropical forests: Rigorous evaluation of a dung-based method. **Ecology and Evolution** 8(15):7312–7322. <https://doi.org/10.1002/ece3.4227>
- Andriolo A, Rodrigues FP, Zerbini A, Barrio J (2010) Population estimates. In Duarte JMB, González S (Eds.) **Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer**. Jaboticabal, Brazil: FUNEP and Gland, Switzerland: IUC, p. 271–282.
- Baddeley A, Rubak E, Turner R (2015) **Spatial Point Patterns: Methodology and Applications with R**. London: Chapman and Hall/CRC Press. URL: <https://www.routledge.com/Spatial-Point-Patterns-Methodology-and-Applications-with-R/Baddeley-Rubak-Turner/9781482210200/>

Barrera-Salazar A, Mandujano S, Espino-Barros OAV, Jiménez-García D (2015) Classification of Vegetation Types in the Habitat of White-Tailed Deer in a Location of the Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve, Mexico. **Tropical Conservation Science** 8(2):547–563. <https://doi.org/10.1177/194008291500800217>

Barrette C (1987) The comparative behavior and ecology of chevrotains, musk deer and morphologically conservative deer. In: Wemmer CM (Ed.) **Biology and management of the Cervidae**. Washington: Smithsonian Institution Press, p. 200–213.

Buckland ST, Rexstad EA, Marques TA, Oedekoven CS (2015) **Distance Sampling: Methods and Applications**. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19219-2>

Chapman NG (2004) Faecal pellets of Reeves muntjac, *Muntiacus reevesi*: defecation rate, decomposition period, size and weight. **European Journal of Wildlife Research**. <https://doi.org/10.1007/s10344-004-0053-0>

Delisle ZJ, Swihart RK, Quinby BM, Sample RD, Kinser-Mcbee KJ, Tauber EK, Flaherty EA (2022) Density from pellet groups: Comparing methods for estimating dung persistence time. **Wildlife Society Bulletin** 46(3). <https://doi.org/10.1002/wsb.1325>

Desbiez ALJ, Bodmer RE, Tomas WM (2010) Mammalian Densities in a Neotropical Wetland Subject to Extreme Climatic Events. **Biotropica** 42(3):372–378. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2009.00601.x>

Duarte JMB, González S, Maldonado JE (2008) The surprising evolutionary history of South American deer. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 49(1):17–22. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.009>

Duarte JMB, Talarico ÂC, Vogliotti A, Garcia JE, Oliveira ML, Maldonado JE, González S (2017) Scat detection dogs, DNA and species distribution modelling reveal a diminutive geographical range for the Vulnerable small red brocket deer *Mazama bororo*. **Oryx** 51(4):656–664. <https://doi.org/10.1017/S0030605316000405>

Eberhardt L, Etten RCV (1956) Evaluation of the Pellet Group Count as a Deer Census Method. **The Journal of Wildlife Management** 20(1):70–74.

Ferreguetti ÂC, Tomás WM, Bergallo HG (2015) Density, occupancy, and activity pattern of two sympatric deer (*Mazama*) in the Atlantic Forest, Brazil. **Journal of Mammalogy** 96(6):1245–1254. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv132>

Forsyth DM, Comte S, Davis NE, Bengsen AJ, Côté SD, Hewitt DG, Morellet N, Mysterud A (2022) Methodology matters when estimating deer abundance: a global systematic review and recommendations for improvements. **The Journal of Wildlife Management** 86(4). <https://doi.org/10.1002/jwmg.22207>

Fragoso JMV, Levi T, Oliveira LFB, Luzar JB, Overman H, Read JM, Silvius KM (2016) Line Transect Surveys Underdetect Terrestrial Mammals: Implications for the Sustainability of Subsistence Hunting. **PLOS ONE** 11(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152659>

González S, Maldonado JE, Ortega J, Talarico AC, Bidegaray-Batista L, Garcia JE, Duarte JMB (2009) Identification of the endangered small red brocket deer (*Mazama bororo*) using noninvasive genetic techniques (Mammalia; Cervidae). **Molecular Ecology Resources** 9(3):754–758. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02390.x>

Grimm-Seyfarth A, Harms W, Berger A (2021) Detection dogs in nature conservation: A database on their world-wide deployment with a review on breeds used and their performance compared to other methods. **Methods in Ecology and Evolution** 12(4):568–579. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13560>

Hurtado-Gonzales JL, Bodmer RE (2004) Assessing the sustainability of brocket deer hunting in the Tamshiyacu-Tahuayo Communal Reserve, northeastern Peru. **Biological Conservation** 116(1):1–7. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00167-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00167-8)

IEF (2023) **Plano de Manejo do Parque Estadual do Rio Doce**. Instituto Estadual de Florestas, Minas Gerais. <http://www.ief.mg.gov.br/component/content/195?task=view>.

Irby LR (1981) Variation in Defecation Rates of Pronghorns Relative to Habitat and Activity Level. **Journal of Range Management** 34(4):278-278. <https://doi.org/10.2307/3897850>

IUCN (2012) **IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition**. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, p. 32.

Kamgaing TOW, Dzefack ZB, Dongmo NCB, Tchatat M, Yasuoka H (2023) Rapid dung removal by beetles suggests higher duiker densities in Central African rainforests. **Oryx** 57(2):180–187. <https://doi.org/10.1017/S0030605321001599>

Laing SE, Buckland ST, Burn RW, Lambie D, Amphlett A (2003) Dung and nest surveys: estimating decay rates. **Journal of Applied Ecology** 40(6):1102–1111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2003.00861.x>

Linnell JDC, Cretois B, Nilsen EB, Rolandsen CM, Solberg EJ, Veiberg V, Kaczensky P, Van-Moorter B, Panzacchi M, Rauset GR, Kaltenborn B (2020) The challenges and opportunities of coexisting with wild ungulates in the human-dominated landscapes of Europe's Anthropocene. **Biological Conservation** 244. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108500>

Mantellatto AMB, Caparroz R, Christofolletti MD, Piovezan U, Duarte JMB (2017) Genetic diversity of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) population in the Brazilian Pantanal assessed by combining fresh fecal DNA analysis and a set of heterologous microsatellite loci. **Genetics and Molecular Biology** 40(4):774–780. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2016-0323>

Miller DL, Rexstad E, Thomas L, Marshall L, Laake JL (2019) Distance Sampling in R. **Journal of Statistical Software** 89(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v089.i01>

Mohanarangan A, Chinnaiyan S, Kaliyaperumal S, Shanmugavelu S, Desai AA (2022) Age-Specific differences in Asian elephant defecation, dung decay, detection and their implication for dung count. **Ecological Solutions and Evidence** 3(2). <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12145>

Neff DJ (1968) The Pellet-Group Count Technique for Big Game Trend, Census, and Distribution: A Review. **The Journal of Wildlife Management**, 32(3):597–614.

Oliveira ML, Couto HTZ, Duarte JMB (2019) Distribution of the elusive and threatened Brazilian dwarf brocket deer refined by non-invasive genetic sampling and distribution modelling. **European Journal of Wildlife Research** 65(21). <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1258-6>

Oliveira ML, Duarte JMB (2013). Amplifiability of mitochondrial, microsatellite and amelogenin DNA loci from fecal samples of red brocket deer *Mazama americana* (Cetartiodactyla, Cervidae). **Genetics and Molecular Research** 12(1):44–52.

Oliveira ML, Norris D, Ramírez JFM, Peres PHF, Galetti M, Duarte JMB (2012) Dogs can detect scat samples more efficiently than humans: an experiment in a continuous Atlantic Forest remnant. **Zoologia (Curitiba)** 29(2):183–186. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702012000200012>

Oliveira ML, Peres PHF, Gatti A, Morales-Donoso JA, Mangini PR, Duarte JMB (2020). Faecal DNA and camera traps detect an evolutionarily significant unit of the Amazonian brocket deer in the Brazilian Atlantic Forest. **European Journal of Wildlife Research** 66(28). <https://doi.org/10.1007/s10344-020-1367-2>

Pebesma E (2018) Simple Features for R: Standardized Support for Spatial Vector Data. **The R Journal** 10(1). <https://doi.org/10.32614/RJ-2018-009>

Peres PHF, Grotta-Neto F, Luduvério DJ, Oliveira ML, Duarte JMB (2021) Implications of unreliable species identification methods for Neotropical deer conservation planning. **Perspectives in Ecology and Conservation** 19(4):435–442. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2021.08.001>

Periago M, Leynaud G (2009) Density estimates of *Mazama gouazoubira* (Cervidae) using the pellet count technique in the arid Chaco (Argentina). **Ecologia Austral** 19:73–77.

Pinho ME (2021) **Análise Comparativa de Metodologias não Invasivas para Estimativas de Densidade de Cervídeos**. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso – TCC (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

R Core Team (2022) **R: A language and environment for statistical computing (4.2.2)**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Rivero K, Rumiz DI, Taber AB (2004) Estimating brocket deer (*Mazama gouazoubira* and *M. americana*) abundance by dung pellet counts and other indices in seasonal Chiquitano forest habitats of Santa Cruz, Bolivia. **European Journal of Wildlife Research** 50(4):161–167. <https://doi.org/10.1007/s10344-004-0064-x>

Rocha EC, Lima CA, Batista NL, Castro ALS (2021) Encounter rates and density of medium and large-sized mammals with nocturnal habits in southern Amazon, Brazil. **Current Science** 121(8):1113. <https://doi.org/10.18520/cs/v121/i8/1113-1119>

Rogers LL (1987) Seasonal Changes in Defecation Rates of Free-Ranging White-Tailed Deer. **The Journal of Wildlife Management** 51(2):330–333. <https://doi.org/10.2307/3801011>

Romero-Castañón S, Román GV, Espino-Barros OV, Molina-Martínez A (2020) Defecation rate of Red brocket deer (*Mazama temama*) in captivity. **Caldasia** 43(1):202–204. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v43n1.79954>

Silva A R (2017) **Definição de parâmetros para a estimativa populacional de veados do gênero *Mazama***. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso – TCC (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Silva AR, Oliveira ML, Duarte JMB (2020) Incorporating the sampling effectiveness of detection dogs in the faecal standing crop method. **European Journal of Wildlife Research** 66(4):47. <https://doi.org/10.1007/s10344-020-01388-9>

Smith DA, Ralls K, Davenport B, Adams B, Maldonado JE (2001) Canine Assistants for Conservationists. **Science** 291(5503):435–435. <https://doi.org/10.1126/science.291.5503.435B>

Souza LJ, Tanaka Y, Santo LG, Duarte JMB (2022) Effect of dietary fiber on fecal androgens levels: An experimental analysis in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). **General and Comparative Endocrinology** 321–322. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2022.114029>

Teucher A, Russell K (2022) **_rmapshaper: Client for “mapshaper” for “Geospatial” Operations_. R package version 0.4.6** <https://CRAN.R-project.org/package=rmapshaper>

Valente AM, Acevedo P, Figueiredo AM, Fonseca C, Torres RT (2020) Overabundant wild ungulate populations in Europe: management with consideration of socio-ecological consequences. **Mammal Review** 50(4):353–366. <https://doi.org/10.1111/mam.12202>

Viquerat S, Bobo KS, Kiffner C, Waltert M (2013) A comparison of regression-based estimates of dung decay in two African forest duiker species (*Philantomba monticola*, *Cephalophus Ogilbyi*). **Ecotropica** 19(1–2):33–38.

Viquerat SMA, Bobo KS, Müller M, Kiffner C, Waltert M (2012) Estimating Forest Duiker (Cephalophinae) Density in Korup National Park: A Case Study on the Performance of Three Line Transect Methods. **South African Journal of Wildlife Research** 42(1):1–10. <https://doi.org/10.3957/056.042.0110>

Vogliotti A, Oliveira ML, Duarte JMB (2016) *Mazama bororo*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T41023A22155086. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41023A22155086.en>.

Williams BK, Nichols JD, Conroy MJ (2002) **Analysis and management of animal populations**. San Diego, California, USA: Elsevier Academic Press.