



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**



**JOSÉ CLEITON SOUZA TENORIO**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) EM  
AREAS DO DOMÍNIO CAATINGA DE PERNAMBUCO E ALAGOAS**

Garanhuns-PE  
2021

JOSÉ CLEITON SOUZA TENORIO

Diversidade genética de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) em áreas do domínio Caatinga de Pernambuco e Alagoas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

**Área de Concentração:** Meio Ambiente e Tecnologias

**Linha de Pesquisa:** Agroecologia, Meio Ambiente e Sociedade

Orientador Prof. Dr. Wallace Rodrigues Telino Júnior; co-orientador (a) Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rachel Maria de Lyra-Neves e Prof. Dr. Vladimir da Mota Silveira Filho

Garanhuns-PE  
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Ariano Suassuna, Garanhuns - PE, Brasil

T312d Tenório, José Cleiton Souza.  
Diversidade genética de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766)  
em áreas do domínio Caatinga de Pernambuco e Alagoas / José  
Cleiton Souza Tenório. – 2022.  
72 f. : il.

Orientador: Wallace Rodrigues Telino Júnior.  
Coorientadora Rachel Maria de Lyra-Neves.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) -  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós  
-Graduação Ciências Ambientais, Garanhuns, BR – PE, 2021.  
Inclui referências e apêndice(s).

1. Diversidade genética 2. Malha viária 3. Atropelamentos  
I. Telino Júnior, Wallace Rodrigues, orient. II. Lyra-Neves,  
Rachel Maria de, coorient. III. Título

CDD 363.7

**JOSÉ CLEITON SOUZA TENORIO**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) EM ÁREAS DO  
DOMÍNIO CAATINGA DE PERNAMBUCO E ALAGOAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

**Orientador:** Prof. Dr. Wallace Rodrigues Telino Júnior

**Linha de Pesquisa:** Agroecologia, Meio Ambiente e Sociedade

**Aprovado em 22/12/2021**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Wallace Rodrigues Telino Júnior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Prof. Dr. Filipe Martins Aléssio  
Universidade de Pernambuco

---

Prof. Dr. Luiz Augustinho Menezes da Silva  
Universidade Federal de Pernambuco

A minha mãe, por todo o amor e por sempre me  
incentivar a seguir o caminho da educação, dedico.

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, mulher guerreira, que sempre fez por mim o que estava ao seu alcance. Agradeço por todas as noites que passou acordada, preocupada com minha saúde, preocupada em me deixar debaixo de um teto que mesmo sem muito conforto era o mais aconchegante por que tinha gosto de lar. À senhora dou a minha vida e essa vitória é nossa!

A minha irmã Lucimeiry, por todos os conselhos, força e por me encorajar nos momentos mais difíceis, sou muito grato por sermos irmãos. As minhas sobrinhas que por mais que eu tenha sido ausente pela correria que a vida me trouxe, me trazem muita alegria e a certeza de que serei amado pelas outras gerações.

Aos meus orientadores, o Prof. Dr. Wallace Rodrigues Telino Júnior, por aceitar com alegria o desafio de me orientar. A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rachel Maria de Lyra-Neves, que junto ao professor Wallace me acolheu com seu carisma e atenção. Ao Prof. Dr. Vladimir da Mota Silveira Filho, que sempre acreditou em mim e torceu junto para o meu sucesso. Esse trabalho é nosso, professores. Muito Obrigado!!!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Dr<sup>a</sup> Werônica, Dr<sup>a</sup> Horasa, Dr<sup>a</sup> Edilma, Dr. Caetano, Dr. Luciano, Dr. Renato, Dr. Romero, Dr. Ricardo, por compartilharem o seu conhecimento em prol de uma ciência libertadora e respeitada.

Obrigado por tê-los conhecido.

Aos professores que passaram pela minha vida e deixaram exemplos de vida e de ser humano, em especial a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marina Araújo, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosângela Falcão, Prof. Silvio e Prof. MSc. Pedro. O profissionalismo e amizade de vocês com certeza contribuiu para que chegasse até aqui.

Aos meus familiares por toda alegria ao caminharem comigo e pela força ao longo da trajetória, em especial a Tio Cícero, Tia Aparecida, Tio Jainal, Tia Gedalva, Fábio, Danielle, Michelle, Claudemir, Claudia e Lidiane. Obrigado por estarem presentes na minha vida.

Aos meus amigos, em especial a Alice Vitor, Bruno Peragine, Diego Lima, André Felix, Clarice Macêdo, Vitor Melo, Lourival Junior, Jailton Cardoso. Obrigado por estarem na minha vida e serem incentivadores da minha batalha. Obrigado pelos bons momentos e por me ouvirem quando preciso. Sintam-se abraçados.

Aos colegas de Laboratório e coletas, Thiago, Wesley, Raissa, Gabriel, Robson, Tiago Gripp, Bianca, Daíza e Sarah. Obrigado pelos momentos de cooperação durante a jornada. Ao meu parceiro de longa data Fernando Alexandre, por todo comprometimento e atenção nas publicações.

A equipe de transporte da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, em especial a Alex, Ronildo, André, Maciel, Ezequiel e Valter. Obrigado por sempre nos entender e deixar os momentos de coleta mais divertidos e agradáveis.

Aos meus cachorrinhos Spaik e Meg, por todo amor cedido a mim. Vocês me ensinam muito mais sobre viver que qualquer outro ser vivo. Obrigado por me fazerem feliz.

Ao laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade de Pernambuco e ao Laboratório de Ensino de Zoologia da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, pelo espaço a mim concedido.

A Universidade Federal do Agreste de Pernambuco junto do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pelo espaço e confiança concedida. Irei carregar esses nomes por toda a minha vida e serei sempre grato a todas as instituições públicas que me acolheram nesta trajetória.

A Escola Estadual Belarmino Vieira Barros e a Escola Professora Elvira Viana em nome das pessoas de Telma Gomes, Tácia Gomes, Audiron Tenório, Elânia Lopes, Elizângela Mendonça e Carlos Caldas pela recepção calorosa, amizade e pela contribuição na minha vida profissional. Devo muito do que aprendi a vocês!

A todos os meus amigos professores, que buscam sempre o melhor para os nossos discentes e que sem dúvidas vibram a cada vitória.

Agradeço a todos que direta e indiretamente cederam o seu tempo e seu trabalho, para que pudesse possibilitar o meu.

E Àquele que eu nem ao menos sei quem é, mas que a fé na sua existência me fez, sem dúvidas, chegar até aqui. Obrigado.

José Cleiton Souza Tenório.

## **A natureza das coisas**

Flávio José

Se avexe não  
Amanhã pode acontecer tudo,  
Inclusive nada  
Se avexe não  
A lagarta rasteja até o dia  
Em que cria asas

Se avexe não  
Que a burrinha da felicidade  
Nunca se atrasa  
Se avexe não  
Amanhã ela para na porta  
Da sua casa

Se avexe não  
Toda caminhada começa  
No primeiro passo  
A natureza não tem pressa  
Segue seu compasso  
Inexoravelmente chega lá

Se avexe não  
Observe quem vai subindo a ladeira  
Seja princesa ou seja lavadeira  
Pra ir mais alto vai ter que suar.

## RESUMO

**Palavras-chave:** Diversidade Genética, Atropelamentos, Malha viária

As rodovias são meios importantes de comunicar-se com o interior dos estados. Para isto, as construções das rodovias levam a requerer, em muitos casos, a fragmentação dos ecossistemas, acarretando desequilíbrio ambiental e consequente perda de fauna e flora. *Cerdocyon thous* é uma espécie de canídeo com ampla distribuição na América do sul. Possui hábitos noturnos e é considerado uma espécie oportunista. Sendo assim, este trabalho busca verificar a diversidade genética da espécie *Cerdocyon thous* a partir do seu impacto causado pelas rodovias. As coletas se deram entre os períodos de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020 em quatro trechos de rodovias partindo do município de Garanhuns, localizado no Agreste Meridional de Pernambuco e seguindo para os municípios de São Caetano, Águas Belas, Pedra, também em Pernambuco e Palmeira dos Índios, Alagoas. Na coleta das carcaças eram considerados apenas os indivíduos que estivessem na rodovia ou acostamento e, logo após a coleta, o indivíduo era retirado do local. As análises de dados da vegetação e proximidade as áreas urbanas utilizaram da metodologia a partir do sistema NDVI e as análises pluviométricas do ambiente através do método IDW. A sexagem dos indivíduos foi feita de forma molecular utilizando *primers* dos genes SRY e ZFX. Nas análises de diversidade genética foram utilizados 28 marcadores de ISSR descritos pela *University of British Columbia*. 101 espécimes foram coletados distribuídos pelos quatro trechos de rodovias percorridos. A sexagem molecular mostrou que 51 espécimes eram fêmeas e 50 eram machos. As análises de vegetação e proximidade urbana demonstraram que a espécie é tolerante a ambientes antropizados, preferindo ambientes de campos e vegetação menos densa para transitar e não são frequentes em áreas urbanas, funcionando como uma barreira na qual a espécie tende a contornar. As análises pluviométricas demonstram a tolerância da espécie a ambientes pouco chuvosos característicos da região. Pode-se destacar a formação de *hotspots* de atropelamentos vinculados as características preferência de ambiente e pluviosidade. A diversidade genética da espécie é baixa não sendo verificado isolamento por distância e nem isolamento geográfico pela espécie no local. Os indivíduos apresentaram dois perfis genéticos no qual todos os espécimes compartilham as características. A baixa diversidade genética pode estar associada ao comportamento da espécie em possuir amplas áreas territoriais e a capacidade de compartilhá-las. Também podem ser associados a fatores antrópicos como a redução dos habitats. Os atropelamentos podem levar a reduzir a diversidade genética e até mesmo eliminar perfis genéticos mais raros para a população local.

## ABSTRACT

**Keywords:** Genetic Diversity, Roads kill, Road network

Highways are an important means of communicating with the interior of the states. For this, the construction of highways requires, in many cases, the fragmentation of ecosystems, causing environmental imbalance. *Cerdocyon thous* is a species of canid with wide distribution in South America. It has nocturnal habits and is considered an opportunistic species. The species is, among mammals, the most recurrent in pedestrian accidents and is therefore the target of many studies in road ecology. The collections took place between the periods of August 2019 to March 2020 and September 2020 to November 2020 in four stretches of highways starting from the municipality of Garanhuns, located in the Agreste Meridional of Pernambuco and going on to the municipalities of São Caetano, Águas Belas, Pedra, also in Pernambuco and Palmeira dos Índios, Alagoas. In the collection of carcasses, only individuals that were on the road or shoulder were considered and, soon after collection, the individual was removed from the site. Data analysis of vegetation and proximity to urban areas used the methodology from the NDVI system and the rainfall analysis of the environment through the IDW method. The sexing of individuals was performed molecularly using primers from the SRY and ZFX genes. In the analysis of genetic diversity, 28 ISSR markers described by the University of British Columbia were used. 101 specimens were collected and distributed over the four stretches of roads covered. Molecular sexing showed that 51 specimens were female and 50 were male. The analysis of vegetation and urban proximity showed that the species is tolerant to anthropic environments, preferring grassland environments and less dense vegetation to transit and they are not frequent in urban areas, acting as a barrier which the species tends to bypass. Rainfall analyzes demonstrate the species' tolerance to low rainfall environments characteristic of the region. One can highlight the formation of roadkill hotspots linked to the characteristics of environment preference and rainfall. The genetic diversity of the species is low, not being verified isolation by distance or geographic isolation by the species in the place. Individuals showed two genetic profiles in which all specimens share the characteristics. The low genetic diversity may be associated with the behavior of the species in having large territorial areas and the ability to share them. They can also be associated with anthropogenic factors such as habitat reduction. Roadkill can reduce genetic diversity and even eliminate rarer genetic profiles for the local population.

## LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1 - . Mapa representativo das dimensões ocupadas pelo Bioma Caatinga. Fonte: Leal <i>et al.</i> (2003).....	18
Figura 2 - Imagem representativa da Caatinga demonstrando plantas Xeromórficas (cactáceas) e caducifólias (arbustos). Fonte: Guedes <i>et al.</i> (2014).....	20
Figura 3 - <i>Trecho da BR101, às margens da Reserva Biológica de Sooretama. Fonte: blog Alex Bager</i> .....	21
Figura 4 - <i>Indivíduo da espécie Cedocyon thous atropelado em acostamento de rodovia. Fonte: Blog Alex Bager</i> .....	22
Figura 5 - Indivíduos de <i>Cedocyon thous</i> , conhecido popularmente como cachorro-do-mato ou raposa na região nordeste do Brasil. Fonte: Beisiegel <i>et al.</i> , (2013).....	23
Figura 6 - Área de distribuição de <i>Cedocyon thous</i> . Fonte: Beisiegel, <i>et al.</i> , 2013.....	24
Figura 7 - Esquema demonstrando o processo de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). Fonte: Mondal, <i>et al.</i> , 2018.....	27
Figura 8 - Fotodocumentação de gel de Agarose demonstrando a técnica de PCR em marcadores de ISSR. Fonte: Manzano, J.B.; Contreras, L.Y.S, 2021.....	28
Figura 9 - Rodovias onde foram realizadas as coletas de material biológicos de indivíduos atropelados de <i>Cedocyon thous</i> . Fonte: o autor.....	30
Figura 10- Mapa de distribuição espacial dos espécimes de <i>Cedocyon thous</i> coletados nas rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	38
Figura 11- Demarcação das áreas urbanas, parque eólico e exploração de rochas as margens das rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	39
Figura 12- Uso dos solos e cobertura vegetal dos trechos de rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	40
Figura 13- Pluviosidade média anual para os trechos de rodovias percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	41
Figura 14- Mapa de calor das áreas de atropelamentos de indivíduos da espécie <i>Cedocyon thous</i> nos trechos de rodovias percorridos durante as	

	coletas de campo período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	42
Figura 15-	Gel representativo da sexagem molecular dos espécimes coletados da espécie <i>Cerdocyon thous</i> . Fonte: o autor.....	43
Figura 16-	Mapa de distribuição dos espécimes macho e fêmea da espécie <i>Cerdocyon thous</i> , nas rodovias estudadas no período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	44
Figura 17-	Indivíduos da espécie <i>Cerdocyon thous</i> coletados nos trechos de rodovia percorridos. As imagens A e B demonstram diferentes estados de decomposição entre os indivíduos. Fonte: o autor.....	45
Figura 18-	Gel representativo do primer UBC820. Nas extremidades o marcador de peso molecular de 100pb. Fonte: o autor.....	46
Figura 19-	Heterozigosidade esperada dos grupos gerados a partir dos trechos de rodovias percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.....	47
Figura 20-	Matriz de pares <i>Fst</i> mostrando as proximidades genéticas entre os indivíduos dos grupos coletados. Fonte: o autor.....	48
Figura 21-	Valores de Delta K demonstrando a formação de <i>Clusters</i> nas corridas do programa estatístico Structure. O <i>cluster</i> mais provável é aquele em que o valor de Delta K é mais alto. Fonte: o autor.....	49
Figura 22-	Representação dos <i>clusters</i> genéticos observados nas 101 amostras de <i>Cerdocyon thous</i> analisados nos trechos de rodovias percorridos. Fonte: o autor.....	50
Figura 23-	Árvore de distanciamento genético através do método Neighbor Joining e representação de distribuição dos perfis genéticos ao longo dos trechos de rodovias percorridos. Fonte: o autor.....	51

## LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1 - Trechos das rodovias e quilômetros que serão percorridos para avaliação da fauna atropelada e ano de avaliação.....	31
Tabela 2 - Sequência do primers utilizados na sexagem molecular de <i>Cerdocyon thous</i> .....	34
Tabela 3 - Sequências de <i>primers</i> de ISSR para genotipagem de <i>Cerdocyon thous</i> .....	34
Tabela 4 - Heterozigosidade esperada para os grupos demonstrados no entorno das rodovias e média entre a heterosigosidade esperada.....	46

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CN	Controle Negativo
CP	Controle positivo
Dg	Diversidade Genética
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
Gp	Grupo
IDB	Teste de Isolamento por Distância
IDW	Inverso Ponderado da Distância
ISSR	<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>
NDVI	Índice de Vegetação da Diferença Normalizada
Pb	Pares de Bases
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
UBC	<i>University of British Columbia</i>

## SUMÁRIO

	<b>PÁG</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	15
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	17
2.1. Geral.....	17
2.2. Específicos.....	17
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	18
3.1 Caatinga.....	18
3.2 Ecologia de estradas.....	20
3.2.1Atropelamento de Mamíferos .....	21
3.2.1.1 <i>Cerdocyon thous</i> (Linnaeus, 1766).....	22
3.3 Manejo e conservação da espécie.....	25
3.4 Diversidade genética.....	25
3.5 Marcadores ISSR.....	26
3.6 Metapopulações.....	28
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	30
4.1 Área de Estudo.....	30
4.2. Coletas de Material Biológico.....	31
4.3 Análise do uso de solos no entorno das rodovias.....	31
4.4 Dados pluviométricos.....	32
4.5 Extração de DNA.....	33
4.6 Sexagem dos espécimes.....	33
4.7 Análise de ISSRs.....	34
4.8 Análise da diversidade genética e estrutura populacional.....	35
<b>5. RESULTADOS.....</b>	37
5.1 Caracterização do território.....	37
5.2 <i>Hotspots</i> .....	42
5.3 Sexagem dos indivíduos coletados.....	43
5.4 Caracterização Genética.....	45
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	53
6.1 Caracterização do território.....	53
6.2 <i>Hotspots</i> .....	55
6.3 Sexagem dos indivíduos.....	56
6.4 Caracterização Genética.....	56
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	59
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	60
<b>9. APÊNDICES.....</b>	67

## 1. INTRODUÇÃO

As estradas são ambientes que proporcionam desenvolvimento econômico, social e cultural além de estarem diretamente atreladas ao fenômeno de interiorização continental (BERTUSSI; ELLERY JUNIOR, 2012). O processo de construção e extensão de estradas levou à fragmentação dos ambientes naturais e ao aumento no número de atropelamentos de fauna silvestre, causando um impacto significativo na biodiversidade, podendo levar à redução ou extinção de espécies (FORNAN *et al.*, 2003; HADDAD *et al.*, 2015). Outro impacto decorrente das autoestradas é a redução da variabilidade genética de populações naturais, uma vez que a mesma tende a se isolar nos ambientes gerando subpopulações e consequentemente reduzindo os níveis de endocruzamento das espécies (CLARK *et al.*, 2009; GAO *et al.*, 2012).

A espécie *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766), popularmente conhecida como cachorro-mato ou, no Nordeste, como raposa, é amplamente distribuída em todos os biomas brasileiros. Ela possui uma dieta oportunista que varia desde frutos até carcaças (BEISIEGEL *et al.*, 2013). Tal comportamento, atrelado a suas atividades metabólicas e de forrageio ativo, fazem com que esta espécie seja atraída para as rodovias, pelo acesso fácil e abundante de alimento (BARROS *et al.*, 2010).

A variabilidade genética nas espécies é um mecanismo importante para sua manutenção e adaptação ao ambiente. Sabe-se que populações que pertencem a ambientes fragmentados ou reduzidos apresentam uma baixa diversidade genética (CHAVES, 2005; BERRY *et al.*, 2005). Tal redução é fruto do isolamento populacional e fenômenos evolutivos como deriva genética e endocruzamento (KORMAN, 2003; FERREIRA-NETO *et al.*, 2017). Estudos de conservação utilizam marcadores moleculares para determinar a diversidade genética de populações naturais, a fim de monitorar os efeitos do impacto antrópico sob determinada espécie.

Os marcadores dominantes ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) indicam a diversidade genética populacional a partir da amplificação de segmentos de DNA flanqueados por microssatélites (JOGER, 2007). Estes marcadores possibilitam analisar diferentes índices da diversidade genética como a heterozigosidade esperada ( $H_E$ ), sendo essas informações essenciais para o entendimento dos efeitos da fragmentação e modificações ambientais para o desenvolvimento de estratégias de manejo e conservação (LIU *et al.*, 2010) e redução dos riscos de extinção (MACHKOUR-M'RABET *et al.*, 2014).

Apesar de *C. thous* não ser considerado uma espécie em risco de extinção (BEISIEGEL *et al.*, 2013), o grande quantitativo de espécimes atropelados nas rodovias que estão distribuídas no país chama atenção (SOUZA; MIRANDA, 2010). Desta maneira, o monitoramento das

populações ao longo das rodovias locais e a avaliação da sua variabilidade genética, permitirão traçar a distribuição desta espécie e se há perda na variabilidade genética nas populações estudadas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Analisar a diversidade genética e estrutura populacional de indivíduos da espécie *Cerdocyon thous*, nos Estados de Pernambuco e Alagoas, no intuito de mensurar o impacto que as atividades antrópicas promovem na estrutura das populações remanescentes.

### 2.2. Objetivos específicos

- Quantificar a diversidade genética populacional de *C. thous* verificando o impacto causado na espécie em diferentes regiões em Pernambuco e Alagoas;
- Verificar a estrutura das populações de *C. thous* através do fluxo gênico entre os indivíduos/populações remanescentes nas áreas amostradas;
- Selecionar primers de ISSR para o desenvolvimento de pesquisas com a espécie *C. thous*
- Verificar a fragmentação da paisagem acarretada pelas rodovias e constatar a formação de metapopulações de indivíduos da espécie *C. thous* com origens genéticas distintas;
- Verificar a existência de divergência de atropelamentos entre machos e fêmeas da espécie *C. thous* encontrando relação com a ecologia da espécie;
- Encontrar relação entre os atropelamentos e o ambiente e sazonalidade do entorno da rodovia.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Caatinga

A palavra Caatinga em sua etimologia tupi significa “mata branca”. Tal uso da palavra está relacionado ao aspecto em que a vegetação se encontra durante uma boa parte do ano, onde a folhagem cai e o que se mostra é um emaranhado de galhos esbranquiçados (PRADO, 2003). A área total de sua abrangência é de aproximadamente 735.000 km<sup>2</sup> e compreende a grande parte da região Nordeste e o Norte do estado de Minas Gerais (IBGE, 2010) (Figura 1). O bioma Caatinga é exclusivo do Brasil e seu clima predominante é o semiárido, compreendendo o polígono das secas (PRADO, 2003).

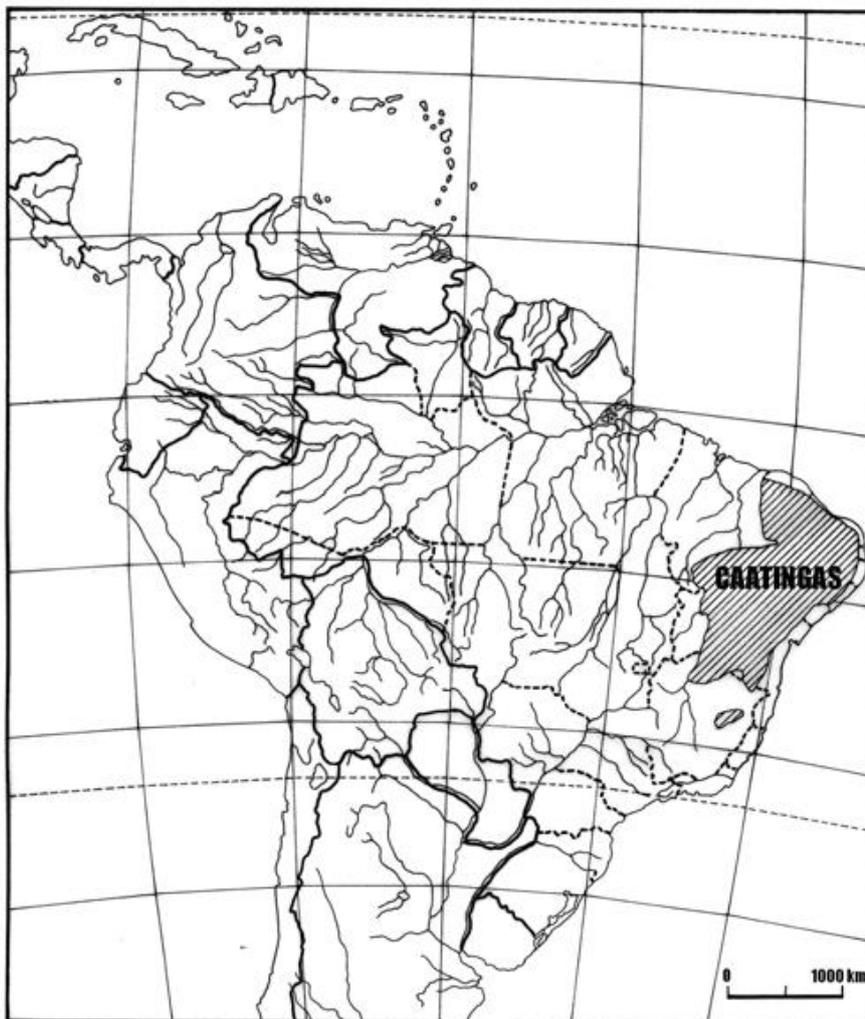


Figura 1. Mapa representativo das dimensões ocupadas pelo Bioma Caatinga. Fonte: Leal *et al.* (2003).

A maioria das áreas de Caatinga é composta por depressões, identificadas através do inselbergs. Porém essas características não são tomadas como regras, pois em algumas áreas de

Caatinga são observadas em planaltos, como é o caso do Planalto da Borborema (ANDRADE-LIMA, 1981; PRADO, 2003). O solo desta região é raso, sendo rico em minerais, com presença de pedregulhos, e tais características reduzem a capacidade de permeabilidade da água no solo, levando-os a terem pouca quantidade de lençóis freáticos (PRADO, 2003).

Por muito tempo acreditou-se que a vegetação típica da Caatinga era fruto da degradação de áreas de vegetação densa como a Mata Atlântica. Funcionando como uma área em processo de desertificação. Entretanto, hoje se entende o bioma como domínio próprio do Brasil, com variadas características próprias e com heterogeneidade observável, sendo considerado um bioma bastante rico em biodiversidade e endemismo (ALVES, 2007).

O fato mais relevante é que, por não ser um bioma constituído por vegetação uniforme, torna-se um tanto quanto variado em relação aos demais Biomas. Andrade-Lima (1981) fortalece a ideia de que a Caatinga é um ambiente multivariado, com diversos tipos de vegetação que vão desde as mais conservadas e de altitudes relativamente grandes, até mesmo zonas de densa antropização e vegetação rasteira, que podem ser subdivididos em: floresta de Caatinga alta, floresta de Caatinga média, floresta de Caatinga baixa, Caatinga arbustiva densa ou aberta, Caatinga aberta baixa, floresta ciliar e floresta de Caatinga média.

Trabalhos posteriores a Andrade-Lima (1981), subdividiram o bioma Caatinga em até doze regiões diferentes em fitofisionomia, como Prado (2003) e Alves (2007). No geral, a vegetação da Caatinga tem predominância em plantas xeromórficas e caducifólias (ARAÚJO; MARTINS, 1999). A vegetação ainda se apresenta basicamente em arbustos e árvores baixas, o que condiz com o tipo de solo raso existente no ambiente (Figura 2). Ainda são encontradas neste ambiente plantas com elevado grau de suculência, como é o caso das cactáceas (ANDRADE-LIMA, 1981; PRADO, 2003; ALVES, 2007). Tal variação na vegetação resulta na grande diversidade de espécies na fauna e flora, bem como determina o grau de endemismo de muitas espécies (VANZOLLINI, 1974; ALVES, 2007).



Figura 2. Imagem representativa da Caatinga demonstrando plantas Xeromórficas (cactáceas) e caducifólias (arbustos). Fonte: Guedes *et al.* (2014).

### 3.2 Ecologia de estradas

O desenvolvimento econômico e o processo de interiorização em uma região estão ligados ao desenvolvimento do setor de transporte e, conseqüentemente, este crescimento está ligado ao processo de ampliação da infraestrutura de estradas e rodovias (BARAT, 1969, BERTUSSI; ELLERY JUNIOR, 2012). Junto ao desenvolvimento promovido pelas estradas, une-se a ideia de caracterizar a atividade antrópica como uma das que mais causam impacto e perda da biodiversidade em determinada região (BAGER *et al.*, 2007).

A perda na biodiversidade promovida pelas rodovias está vinculada à ideia de fragmentação dos ambientes naturais, causando nos indivíduos perda de ambiente natural para circulação, isolamento e formação de subpopulações (HADDAD *et al.*, 2015). As alterações causadas em uma população de determinada espécie são variadas. Mudanças nos hábitos alimentares, teia trófica, reprodução ou até mesmo efeitos adversos pelo surgimento de uma borda no ambiente são os mais observados (TROMBULAK; FRISSELL, 2000). Outro impacto causado pelas estradas está no quantitativo de espécimes atropelados diariamente (FORMAN *et al.*, 2003), as espécies que resistem ao efeito de borda causado pelas estradas tendem a

circular sobre os fragmentos, causando muitas vezes acidentes que reduzem ainda mais as populações remanescentes (FORMAN *et al.*, 2003; HADDAD *et al.*, 2015).



Figura 3. Trecho da BR101, às margens da Reserva Biológica de Sooretama. Fonte: blog Alex Bager.

A diversidade genética das espécies é outro dos impactos atrelados a fragmentação dos ambientes por rodovias, já que as mesmas funcionam como barreiras para a circulação de espécies (CLARK *et al.*, 2009), fazendo que uma dita população seja isolada em populações menores e conseqüentemente reduzindo o fluxo genético entre estas (FERREIRA-NETO *et al.*, 2017). O impacto ainda pode ser maior se vinculado à perda do valor hereditário de uma espécie quando atropelada.

Medidas para mitigar os atropelamentos e os efeitos da fragmentação causados pelas estradas são amplamente discutidos. O uso de túneis e galerias de passagem de fauna, a instalação de placas em locais de maior fluxo de determinada espécie, ampliação do monitoramento de atropelamentos da fauna são algumas das medidas propostas (BAGER, 2003, BAGER; FONTOURA, 2013, RAMOS-ABRANTES *et al.*, 2018).

### 3.2.1 Atropelamento de Mamíferos

Os vertebrados são o grupo de indivíduos mais comumente estudados quando relacionado ao tema ecologia de estradas. Dentre os vertebrados, estão os mamíferos como grupo mais avaliado (CHEREM *et al.*, 2007) tanto por possuírem uma área de vida maior que

os demais indivíduos, como também com relação ao tipo de busca por alimentação. Dentro desses, as raposas (*Cerdocyon thous*) são frequentemente atropeladas (SOBANSKI, 2017).



Figura 4. Indivíduo da espécie *Cerdocyon thous* atropelado em acostamento de rodovia. Fonte: O autor

Muitos dos atropelamentos de mamíferos estão ligados ao hábito alimentar, quando algumas espécies são atraídas por carcaças de outros animais atropelados ou até mesmo por manter uma relação mais próxima de ambientes urbanizados e nas propriedades rurais com esse mesmo objetivo (SOUZA; MIRANDA, 2010).

Os atropelamentos de mamíferos acontecem, em sua maioria, com animais de pequeno a médio porte. Tais indícios são observados devido à pressão antrópica que tais indivíduos sofrem, bem como a não adaptação às regiões de borda (CHEREM *et al.*, 2007). As espécies da mastofauna atropelada, comumente encontradas, são as do gênero *Cerdocyon* e *Didelphis* (CHEREM *et al.*, 2007, SOUZA; MIRANDA, 2010, SOBANSKI, 2012).

### 3.2.1.1 *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766)

A espécie *Cerdocyon thous* (Figura 5) tem ampla distribuição territorial, estando presente em todos os biomas do Brasil. Apesar de estarem adaptados a ambientes antropizados e serem encontrados em diversos habitats, os indivíduos desta espécie não são encontrados em ambientes urbanos (BEISIEGEL *et al.*, 2013).



Figura 5. Indivíduos de *Cerdocyon thous*, conhecido popularmente como cachorro-do-mato ou raposa na região nordeste do Brasil. Fonte: Beisiegel *et al.*, (2013).

A espécie pertence Ordem *Carnivora*, Família *Canidae*, tendo porte pequeno a médio (3kg- 8kg), hábitos noturnos, porém também podem ser observadas no final da tarde e início da manhã. O forrageio é ativo com dieta predominantemente oportunista, composta por frutos e complementada por pequenos artrópodes, anfíbios e carcaças (BUENO; MOTTA-JUNIOR, 2004, GATTI *et al.*, 2006). É caracterizado pelo hábito oportunista e este motivo está bastante atrelado a espécie ser generalista e adaptada a ambientes antropizados como áreas de canaviais, regiões voltadas ao cultivo de frutas, pastagens, zonas de vegetação secundária, ou regiões com baixa densidade demográfica, tendo preferência por ambientes de bordas ou regiões mais abertas (FERRAZ *et al.*, 2010).

São animais monogâmicos vivendo em casal ou pequenas matilhas (MACDONALD; COURTENAY, 1996; BEISIEGEL *et al.*, 2013). Por possuir ampla distribuição (SILVA, *et al.*, 2010) (Figura 6), aparenta possuir diferentes tonalidades de pelagem de acordo com as populações e regiões. Sendo necessário estudos populacionais para identificar especificação nessas variedades, não passando de uma observação pessoal de alguns pesquisadores da espécie (BEISIEGEL *et al.*, 2013).

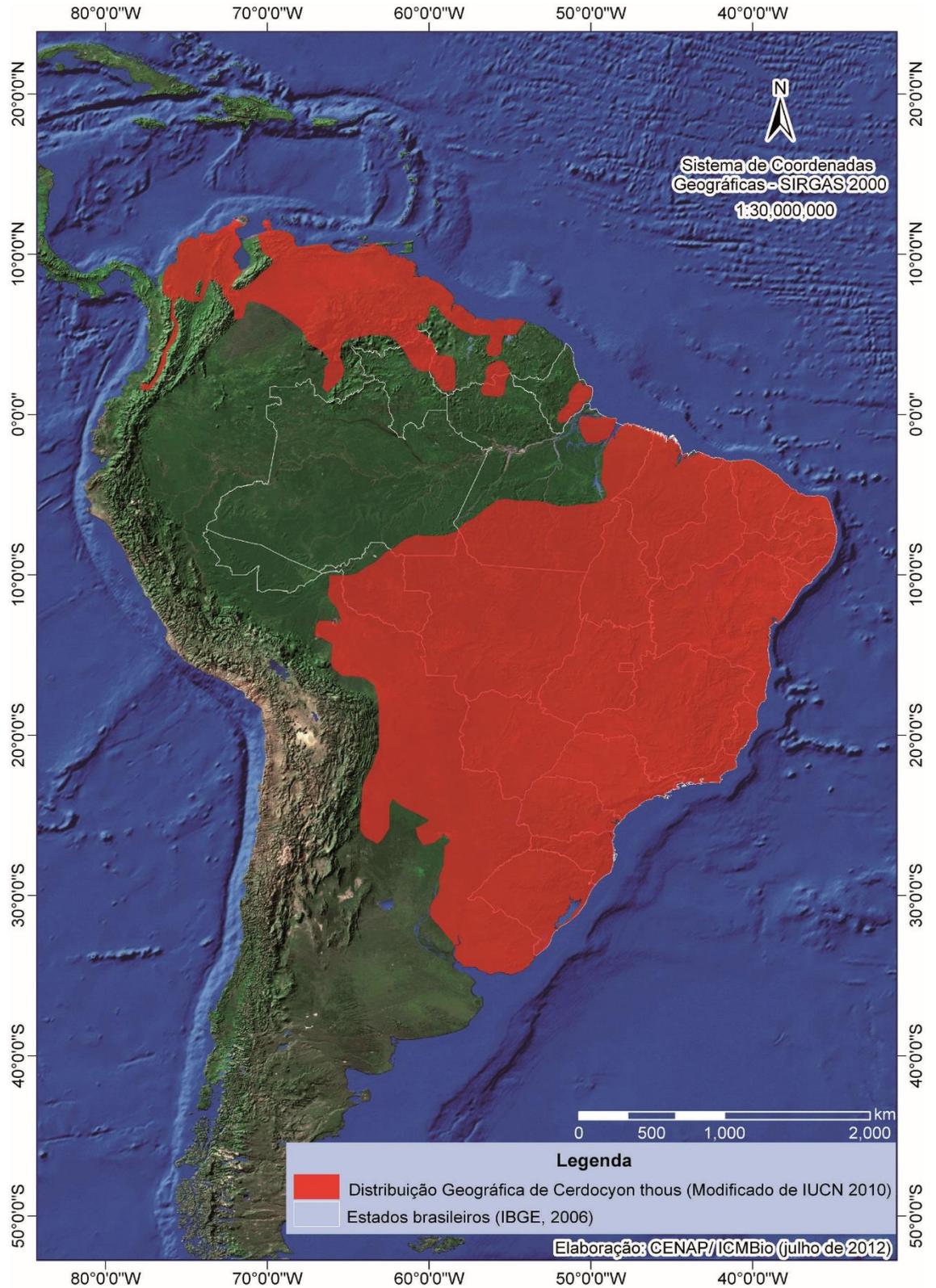


Figura 6. Área de distribuição de *Cerdocyon thous*. Fonte: Beisiegel, *et al.*, 2013.

Dados sobre o DNA mitocondrial e a diversidade genética entre populações de *C. thous* mostram que há uma forte partição filogeográfica entre a população da região nordeste do Brasil

e de outras áreas de distribuição, com a completa separação entre as populações de floresta atlântica do norte e do sul, ocorrida entre 400.000 e 600.000 anos atrás (TCHAIKA, *et al.*, 2007)

Devido ao hábito generalista, *C. thous* é uma das mais citadas em trabalho sobre atropelamento de fauna silvestre, já que a espécie usa as rodovias como fonte de oferta de alimento, além de ser um animal ativo e com abrangência de área territorial (SOUZA; MIRANDA, 2010).

Apesar de *C. thous* não estar na lista de espécies ameaçadas de extinção e, por conseguinte, não haver nenhum mecanismo mais adequado de intervenção na conservação da mesma, é de real importância o controle e monitoramento de suas populações, de forma a mitigar a redução (BEISIEGEL *et al.*, 2013) e, conseqüentemente, a perda da sua diversidade genética, uma vez que a espécie tem um importante papel ecológico como dispersor de sementes.

### **3.3 Manejo e conservação da espécie**

Por mais que a espécie *C. thous* esteja amplamente distribuída e sem risco de extinção, são necessárias algumas medidas de conservação, já que a espécie é frequentemente associada por atacar animais domésticos e é frequentemente vítima de envenenamento e, conseqüente, morte. Por estar muito próxima de ambientes urbanizados, a espécie é susceptível a doenças parasitárias e infecciosas oriundas dos animais domésticos, como escabiose e raiva (JORGE, 2010). Além disso, ocupa o topo do *ranking* de atropelamentos para o grupo dos vertebrados.

Sendo assim, algumas ações necessárias incluem medidas de prevenção de atropelamentos ao longo de toda a malha viária asfaltada nacional, como lombadas, valetas, passagens de fauna, lombadas eletrônicas, radares, placas sinalizadoras e aumento da fiscalização (DOS SANTOS; SILVA, 2015), além da sensibilização de motoristas, considerando idealmente os avanços acumulados e recentes na área de ecologia de estradas e de mitigação dos efeitos da malha viária sobre a fauna (DOS SANTOS; SILVA, 2015; BECKMANN *et al.* 2010). Reduzindo assim o impacto na fauna e em especial nas populações de *C. thous* além de reduzir os índices de acidentes nas rodovias.

### **3.4 Diversidade genética**

A diversidade genética pode ser caracterizada como a variação de alelos e do genótipo presente em determinada população, ou até mesmo em grupos de espécies (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008). Os níveis de variação dentro destas unidades podem ser definidos por regiões polimórficas, diversidade entre os alelos e até mesmo a heterozigosidade. Assim, a diversidade genética é o estudo no qual se quantifica a variação do material genético dentro de uma determinada população. Esta caracterização é realizada por meio da descrição da frequência e número dos alelos e heterozigosidade, sendo estes índices calculados de acordo com o tipo de marcador molecular utilizado. (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008).

A variabilidade genética de uma espécie é característica importante no que diz respeito à manutenção e adaptação da mesma no ambiente (CHAVES, 2005). Em ambientes naturais fragmentados é comum encontrar populações que apresentam baixa diversidade genética (BERRY *et al.*, 2005). Nesse caso a redução da diversidade genética é fruto do isolamento populacional e de diferentes fenômenos evolutivos tais como deriva genética e endocruzamento (KORMAN, 2003; FERREIRA-NETO *et al.*, 2017).

Atualmente um dos principais objetivos de programas de conservação é atenuar a perda da diversidade genética e reduzir os níveis de endocruzamento dentro das populações, o que é essencial para manter o potencial evolutivo das espécies naturais (GAO *et al.*, 2012). Diante da preocupação em manter ou aumentar a diversidade genética das populações, os marcadores genéticos auxiliam no estudo e conservação destas, buscando assegurar sua manutenção no habitat.

A estrutura populacional é definida pelos mecanismos que unificam os gametas, ou seja, é a forma pela qual a variabilidade genética é distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos das populações de uma espécie. Estes mecanismos incluem sistema de acasalamento, tamanho populacional e padrão de distribuição da variabilidade genética (TEMPLETON, 2011). A análise da estrutura populacional é realizada assumindo pressupostos definidos no modelo proposto por Hardy (1908) com premissas quanto ao mecanismo de produção de gametas, união de gametas e desenvolvimento de fenótipos. Este modelo possibilita quantificar a estrutura genética das populações sob estudo para caracterização e entendimento da dinâmica das populações naturais (HARDY, 1908; TEMPLETON, 2011).

### **3.5 Marcadores ISSR**

A caracterização da estrutura genética das populações pode ser alcançada por meio de vários marcadores moleculares (ANNE, 2006). Para organismos com pouca ou nenhuma

informação sobre seu genoma, os marcadores baseados em impressões digitais de DNA, como o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) são uma ferramenta informativa (REDDY *et al.*, 2002).

Os marcadores dominantes ISSR revelam a diversidade genética populacional a partir da amplificação de segmentos de DNA flanqueados por microssatélites (JOGER, 2007). Estes marcadores possibilitam analisar diferentes índices da diversidade genética como a heterozigosidade esperada ( $H_E$ ), sendo essas informações essenciais para o entendimento dos efeitos da fragmentação e modificações ambientais para o desenvolvimento de estratégias de manejo e conservação (LIU *et al.*, 2010) e redução dos riscos de extinção (MACHKOUR-M'RABET *et al.*, 2014).

Os marcadores ISSR foram desenvolvidos por Zietkiewicz, Rafalski e Labuda (1994) visando explorar repetições microssatélites sem a necessidade de sequenciamento de DNA, uma vez que, para utilização de marcadores microssatélites é necessário o conhecimento prévio das sequências flanqueadoras. Trata-se de um método simples baseado na técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*; Reação em Cadeia da Polimerase) com a utilização de baixas concentrações de DNA, que permite amplificar entre duas regiões repetidas idênticas de microssatélites orientadas em direções opostas. Os oligonucleotídeos utilizados na PCR-ISSR consistem em sequências semi-arbitrárias, compostas por 16 a 20 bases, formadas por repetições di-, tri- ou tetra-nucleotídeos que ancoram na extremidade 5' ou 3' do DNA molde, como ilustrado na Figura 7 (ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994, LIU; WENDEL, 2001).

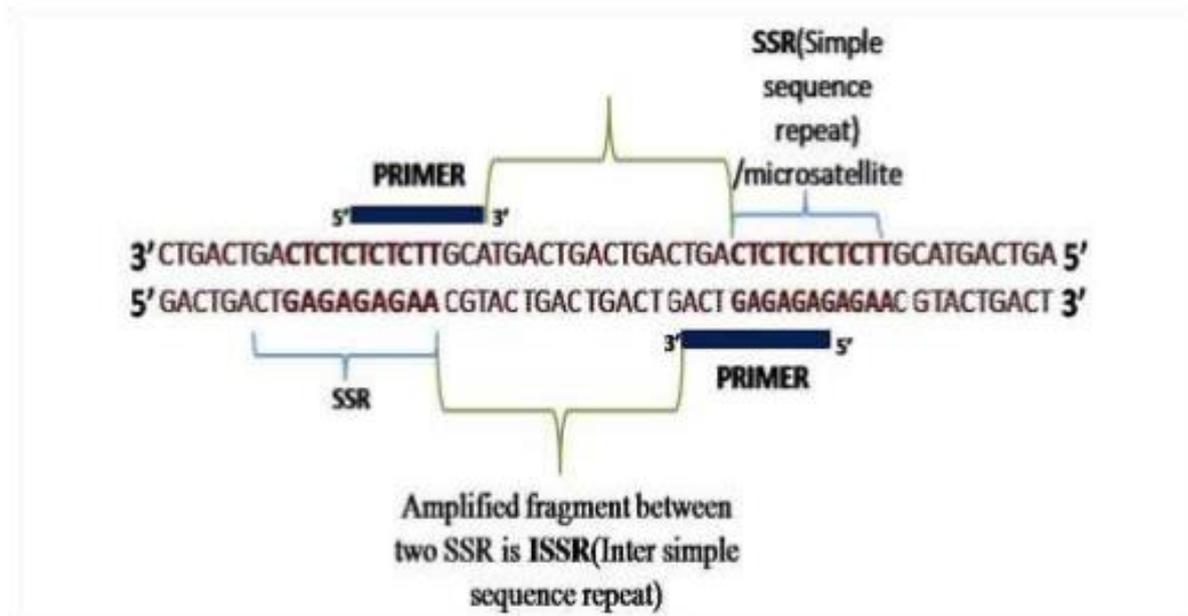


Figura 7. Esquema demonstrando o processo de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). Fonte: Mondal, *et al.*, 2018.

A partir da amplificação por PCR são gerados múltiplos fragmentos de comprimentos variados (100 – 3000 pb) compondo um padrão *multiloci* (Figura 8) ou também conhecido como impressão genômica (*fingerprinting* de DNA) (FALEIRO, 2008). Dessa forma, a técnica de ISSR é vantajosa devido ao baixo custo em relação a outros marcadores (sequenciamento de SNPs e microssatélites) e alta reprodutibilidade (BORNET; BRANCHARD, 2001). No entanto, por ser um marcador considerado dominante, ele não permite a diferenciação entre indivíduos homocigotos e heterocigotos (BORNET; BRANCHARD, 2001; FALEIRO, 2008). Ainda assim, a análise de ISSR tem se mostrado útil em estudos de diversidade genética, principalmente aqueles envolvendo análises de estrutura genética populacional (ZHAO *et al.*, 2014).

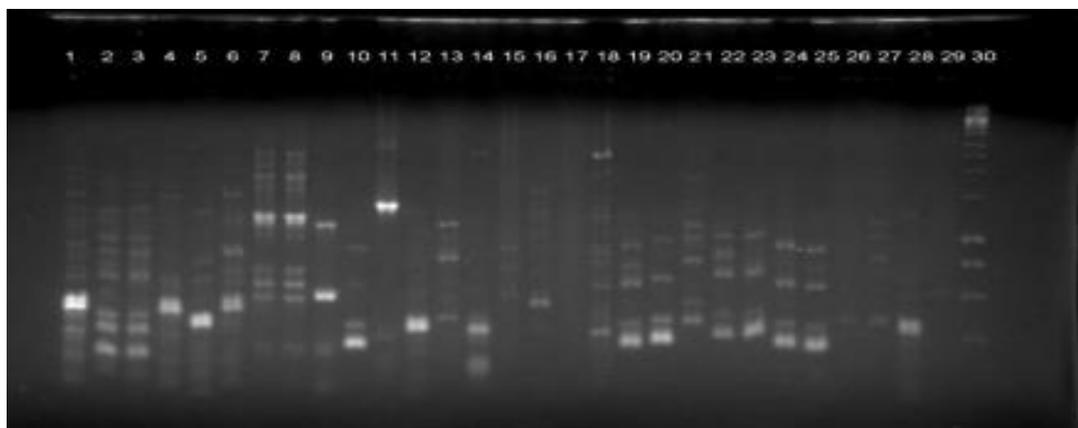


Figura 8. Fotodocumentação de gel de Agarose demonstrando a técnica de PCR em marcadores de ISSR. Fonte: Manzano, J.B.; Contreras, L.Y.S, 2021

### 3.6 Metapopulações

As populações podem ser consideradas como um conjunto de indivíduos de mesma espécie que convivem e interagem entre si durante um período de vida que é finito (ODUM e BARRETT, 2011). Em determinados ambientes as populações fragmentadas podem gerar diversas subpopulações nas quais podem se comunicar entre si através de processos de emigração e migração, por exemplo (PROSANNA *et al.*, 2010). Sendo assim, uma metapopulação pode ser definida como uma rede de populações estruturadas de formato espacial influenciando nos processos de dinâmica local gerando as possibilidades de reestabelecimento das populações posteriores a sua extinção local (HANSKI, SIMBERLOFF, 1997; HANSKI, 1998). Para uma metapopulação é necessário observar que os ambientes formam manchas que são apropriadas para a ocupação e desenvolvimento da espécie (GHERARDI, 2007).

Para que haja um modelo de metapopulações deve-se acrescentar algumas características distintas para que não sofram interferências muito grandes no processo de dinâmica local. Todas as manchas devem ter áreas iguais onde as dinâmicas no interior dessas áreas devem ser independentes umas das outras e por fim, a taxa de interação entre os indivíduos das populações deve ser baixa a ponto de não interferir entre as dinâmicas de população (GHERARDI, 2007).

De forma prática, não é possível verificar metapopulações ideais, mas tais conceitos podem ser utilizados gerando resultados interpretáveis e concisos. Alguns modelos de metapopulações podem ser descritos para exemplificar a investigação de alguns modelos ecológicos como a dispersão, competição, estabilidade, destruição do habitat e extinção da espécie no local (GHERARDI, 2007). Levins (1969) propõe um modelo no qual se assume a existência de grandes manchas de locais habitáveis pela espécie na qual se conectam por meio de migração. Por haver algumas restrições de migração em modelos ecológicos reais, este modelo pode ser utilizado onde a dinâmica de população local ocorre em um período menor que a dinâmica de metapopulação observadas, por exemplo, quando as taxas de colonização forem lentas no ambiente. Roughgarden (1997) produz um modelo de metapopulação no qual se utilizam populações com atividade espacial limitada, onde as taxas de migração são reduzidas como as de alguns invertebrados sésseis. Ovaskainen e Hanski (2001) trazem um modelo de metapopulações realistas, no qual são consideradas as áreas e as manchas de habitat de determinadas populações. Este modelo permite demonstrar de forma mais equitativa os

modelos ecológicos naturais nos quais os padrões de áreas e distância não existem, mostrando os efeitos de conectividade e a capacidade das manchas suportarem as metapopulações.

Vale salientar que a observação e uso desses modelos devem levar em consideração a ecologia da espécie, o habitat e o seu nicho ecológico para que haja coerência e consistências nos resultados apurados pelos dados.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de Estudo

O material biológico foi coletado de animais da espécie *C. thous* atropelados em quatro trechos de rodovias do Estado de Pernambuco e de Alagoas, todos iniciando no município de Garanhuns totalizando entre 70 e 80 km percorridos. Esses trechos possuem formato simples e fluxo intenso de veículos, inclusive de caminhões de carga, estando localizada principalmente em área do domínio Caatinga (Figura 9 e Tabela 1). As coletas foram realizadas semanalmente, onde, a cada semana, eram percorridos dois dos quatro trechos.

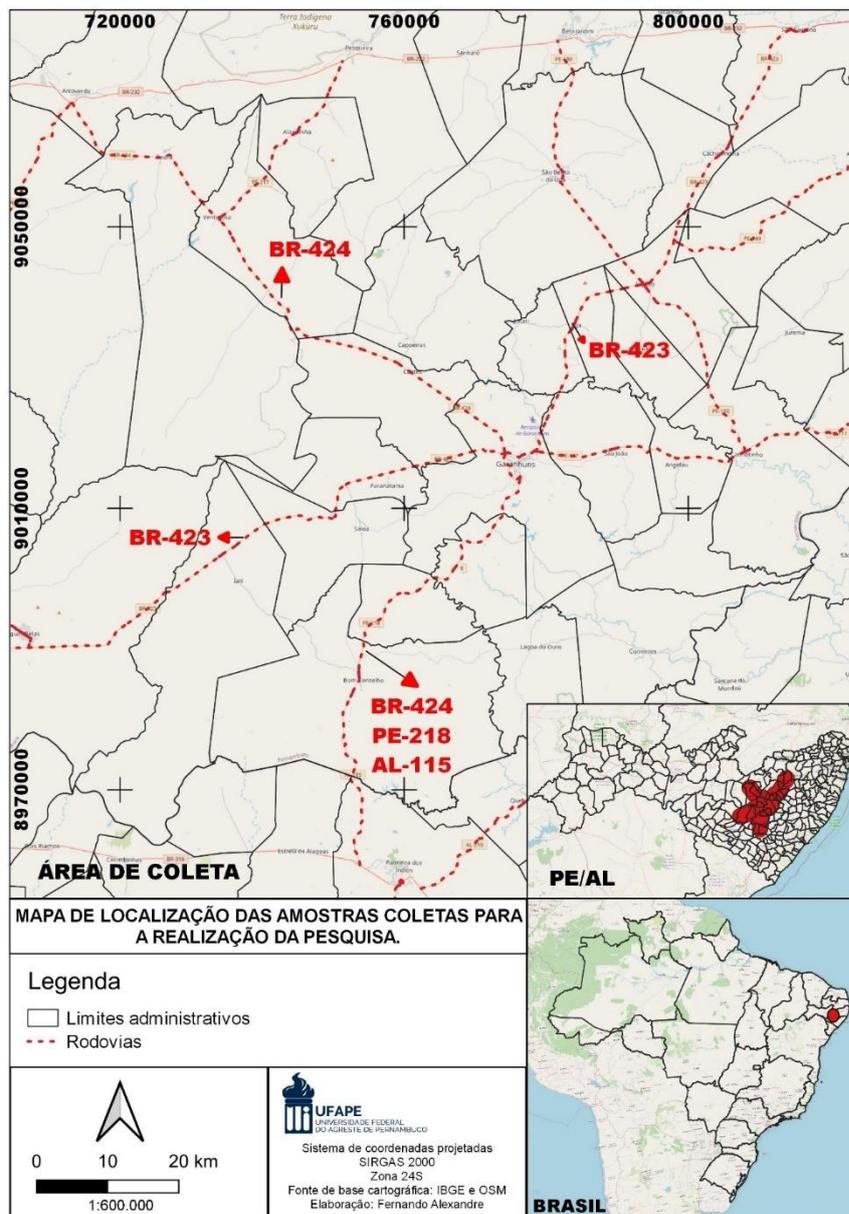


Figura 9. Rodovias onde foram realizadas as coletas de material biológicos de indivíduos atropelados de *Cerdocyon thous*. Fonte: o autor.

Tabela 1. Trechos das rodovias e quilômetros percorridos para avaliação da fauna atropelada e ano de avaliação.

<b>Trecho</b>	<b>Rodovia</b>	<b>Distância</b>
Garanhuns – São Caetano	BR-423	79 Km
Garanhuns – Águas Belas	BR-423	80 Km
Garanhuns – Palmeira dos Índios	BR-424, PE-218; AL-115	76 Km
Garanhuns – Pedra	BR - 424	72 Km

#### **4.2. Coletas de Material Biológico**

As coletas foram realizadas semanalmente nas rodovias escolhidas no período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Durante a coleta em campo foram retiradas das carcaças amostras de tecidos de ossos longos (e.g. fêmur). Estes materiais coletados foram identificados com as seguintes informações: espécie, dia da coleta, coordenadas geográficas e uma numeração específica para ordem de organização e identificação na extração de DNA (Apêndice 1).

O material coletado foi armazenado a seco e mantidos em gelo até chegar ao Laboratório de Ensino de Zoologia da Universidade Federal Rural de Garanhuns/Unidade Acadêmica de Garanhuns onde foram armazenados em Freezer a -20°C. As análises moleculares foram desenvolvidas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade de Pernambuco, *Campus* Garanhuns.

#### **4.3 Análise do uso de solos no entorno das rodovias**

Para esta análise foram utilizados os dados de Índice de Vegetação da Diferença Normalizada (NDVI). Análise proposta por Rouse *et al.* (1973), que visa normalizar o resultado do Índice da Razão Simples, entre um intervalo de -1 a +1, é a razão entre a diferença pela soma das bandas do infravermelho e vermelho, segundo a equação abaixo. Sendo -1 para alvos terrestres e +1 para alvos no limite superior, gerando uma imagem com 256 tons de cinza, os

tons de cinza mais claros estão relacionados a valores mais elevados do NDVI, enquanto os mais escuros com valores menores. É amplamente utilizado para geração de perfis sazonais e temporais da vegetação, visando detectar atividades sazonais e fenológicas durante o período de crescimento (PONZONI; SHIMABUKURO; KUPLICH, 2012). Usando a equação:

$$\text{NDVI: } \frac{B5-B3}{B5+B3} \quad (2)$$

#### 4.4 Dados pluviométricos

As análises físico-geográficas, o clima é um dos fatores predominantes na diferenciação das áreas. Segundo Kottek *et al.* (2006) o clima pode ser analisado através de médias de temperatura e pluviosidade, assim como a radiação solar e índices de umidade. As médias climáticas se mostram indispensáveis para a caracterização da estrutura da paisagem, porém não fornece dados suficientes para a compreensão da sua dinâmica (CAVALCANTI, 2013).

Os dados climáticos de temperatura e pluviosidade serviram na melhor compreensão dos processos hidrológicos dentro da bacia e as mudanças sazonais na vegetação. Inicialmente buscou-se verificar espacialmente e temporalmente os dados de temperatura e pluviosidade, com este intuito foram coletados dados de 32 postos pluviométricos, conforme a tabela 2. Definiu-se o valor mínimo de 20 anos como o menor tempo de observação aceitável, já que na literatura há uma indicação para que somente sejam realizados trabalhos com dados captados a mais de 35 anos, porém com tal quantidade de anos, não haveria dados suficientes, então decidiu-se por 20 anos.

Com os dados espacializados no QGIS 3.4, iniciou-se o processo de interpolação determinística dos dados para a estimativa espacial da precipitação, se utilizou o método do Inverso Ponderado da Distância (*Inverse Distance Weighting – IDW*). O IDW permite calcular os valores desconhecidos em recurso à média ponderada pelo inverso das distâncias de uma localização desconhecida à uma localização com valores conhecidos (LANDIM, 2000). A escolha pelo IDW se deu em razão do resultado não apresentar valores maiores ou menores que os dados originais. O IDW é representado na equação a seguir:

$$z = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{1}{D_{ip}} Z_i}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{D_{ip}}}$$

Onde:  $Z$  representa o resultado do valor interpolado;  $Z_i$  é o valor conhecido e  $D_i^p \dots D_n^p$  é a distância de  $n$  pontos a serem estimados, para a realização da interpolação se utilizou o

valor da potência 4, conforme recomenda Cavalcanti (2013), já que com esse valor há uma maior suavidade na superfície estimada.

Posteriormente após a interpolação dos dados de pluviosidade, decidiu-se compará-lo com o perfil longitudinal do rio principal, assim seria possível constatar a influência da elevação sobre a precipitação local, já que não foi perceptível nenhuma correlação direta com a vegetação ou com a cobertura e uso da terra.

#### 4.5 Extração de DNA

Para realização da extração do DNA foi utilizado o protocolo de extração em ossos sem pulverização utilizado pelo Laboratório de Perícia e Pesquisa em Genética Forense – SDS/PE. Este protocolo divide-se em duas etapas. A primeira consiste na descalcificação da superfície óssea, onde fragmentos de osso de cerca de 1 cm<sup>3</sup> são incubados por cinco dias em 20 mL de EDTA 0,5 M pH 8,0. Após este período, as impurezas da superfície do osso foram removidas com uma gaze e, com o auxílio de um bisturi, foram coletadas lâminas da matriz óssea descalcificada.

A segunda etapa consistiu na extração do material genético. Para isso, cerca de 0,2 g de cada amostra foi incubada por 18 a 24 horas a 60°C em 600 uL do tampão (10mM Tris-HCl; 100mM NaCl; 10mM EDTA; 2% SDS, pH8,0) e 60 uL de Proteinase K (20 mg/mL). O DNA foi então purificado pelo método de fenol-clorofórmio, descrito por Sambrook e Russel (2001), precipitado em isopropanol e reidratado em água ultrapura.

#### 4.6 Sexagem dos espécimes

Para a sexagem dos espécimes, foram utilizados dois pares de *primers* para amplificação do gene *sry* (*Sex-determining Region Y Protein*) localizado no cromossomo Y, e do gene *zfx* (*Zinc-finger protein X- Linked*) localizado no cromossomo X. Esses dois genes possuem padrões muito conservados para a Classe Mammalia e as suas sequências são demonstradas na Tabela 2.

Tabela 2. Sequência do primers utilizados na sexagem molecular de *Cerdocyon thous*.

Gene	Sequência	Tamanho do Fragmento Amplificado
<i>sry</i>	Forward: GAGAATCCCCAAATGCAAAA Reverse: TGCATGGCCTGTAGTCTCTG	119 pb
<i>zfx</i>	Forward: ACGCACAAAATGGTGCATAA Reverse: GGGGTAGTCCTTCGTGTGAA	471 pb

A sexagem molecular foi realizada em ensaios de Duplex-PCR, utilizando os dois pares de primers na mesma reação, cujo ciclo foi de 94°C por 3 minutos, seguida de 40 ciclos de amplificação com temperaturas a 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos e 72° por 30 segundos, e uma extensão final de 20 minutos a 72°C. Como controle, em todas as reações foram utilizadas as amostras de seis espécimes, cujo estado de conservação da carcaça permitiu a identificação morfológica do sexo.

#### 4.7 Análise de ISSRs

Inicialmente, foram realizados ensaios de PCRs com 28 *primers* ISSR desenvolvidos por *University of British Columbia* (UBC) (Tabela 3.)

Tabela 3. Sequências de *primers* de ISSR para genotipagem de *Cerdocyon thous*.

Primer	Sequência	Temperatura de Pareamento (°C)
UBC801	ATATATATATATATATT	30
UBC802	ATATATATATATATATG	33
UBC803	ATATATATATATATATC	33
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	45
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGA)C	52
UBC812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50
UBC816*	CACACACACACACAT	50
UBC820*	GTGTGTGTGTGTGTGTC	52

UBC821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	50
UBC822	TCTCTCTCTCTCTCTCA	50
UBC823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	52
UBC824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	52
UBC825	TCTCTCTCTCTCTCTCT	50
UBC826*	ACACACACACACACACC	52
UBC830*	TGTGTGTGTGTGTGTGG	52
UBC842	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	50
UBC861	ACCACCACCACCACCACC	59
UBC864*	ATGATGATGATGATGATG	46
UBC868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	46
UBC869	GTTGTTGTTGTTGTTGTT	46
UBC870	TGCTGCTGCTGCTGCTGC	59
UBC872	GATAGATAGATAGATA	39
ISSR1	AGAGAGAGAGAGAGAGT	49
ISSR5	CTCTCTCTCTCTCTCTG	52
ISSR17	GGACGGACGGACGGAC	59
ISSR ACA+	ACAACAACAACAACABDB	52
ISSR +GACA	WBGACAGACAGACAGACA	53

As reações de amplificação por PCR foram realizadas para um volume total de 25 uL contendo 1X do tampão de PCR, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM de dNTPs, 0,2 mM de *Primer*, 0,05 U de *Taq* DNA Polimerase (Ludwig), e 20 ng de DNA genômico. As condições de amplificação foram: desnaturação inicial de 94°C por 4 min; 35 ciclos de 94°C por 30 seg; temperatura de pareamento de cada primer (Tabela 3) por 45 seg; extensão a 72°C por 2 min; e extensão final a 72°C por 7 min. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio (20 mg/ mL) e analisado em fotodocumentador (Major Science). O tamanho dos fragmentos amplificados foi verificado usando *GeneRuler 100 bp DNA Ladder* (Ludwig). Com base na análise dos géis, uma matriz binária foi construída para presença/ausência, respectivamente codificado como 1/0.

#### 4.8 Análise da diversidade genética e estrutura populacional

Foi calculada a porcentagem de *loci* polimórficos e heterozigosidade esperada ( $H_E$ ), índice  $F_{ST}$  e a variância molecular (AMOVA, baseado em 1000 permutações) através do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISHER, 2010). Foi realizado teste de isolamento por distância (IBD) pela correlação entre as matrizes de distância geográfica e genética através do teste de Mantel (SOKAL; ROHLF, 1995) a partir de 10.000 permutações randômicas para determinação do nível de significância no ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER; LISHER, 2010).

Em seguida, foram testados quatro modelos populacionais: I) modelo *full* - onde os valores de diferenciação genética populacional ( $\theta$  medida paramétrica análoga do  $F_{ST}$ ) e endocruzamento ( $f$ , um análogo do  $F_{IS}$ ) diferem de zero; II) modelo  $f=0$ , o qual assume ausência de endogamia entre populações; III) modelo  $\theta=0$ , baseado na ausência de diferenciação genética populacional; IV) modelo *free*, onde os valores são selecionados aleatoriamente. O modelo mais adequado foi selecionado a partir de valores de DIC (*Deviance Information Criterion*) e Dbar onde menores valores indicaram o melhor modelo. Essas análises foram realizadas no programa Hickory 1.1 (HOLSINGER *et al.*, 2002)

Os padrões de mistura genômica foram analisados através do programa STRUCTURE versão 2.3.2 (PRITCHAD *et al.*, 2000), para identificar os clusters genéticos (K). Foi utilizado o modelo *Admixture*, utilizando *burn-in* de 80.000, extensão de corrida de 800.000 e 10 replicações por cada K testado. A determinação do número de *clusters* genéticos prováveis foi realizada através do método de Evanno *et al.* (2005) a partir da mensuração *ad hoc* dos valores de  $\Delta K$ . Adicionalmente, foi realizada uma análise baseada no método de distância genética Neighbor-Net, no programa Splitstree 4.14.8 (HUSON, 1998) no intuito de investigar a disposição dos indivíduos de acordo com suas dissimilaridades genéticas.

## 5 RESULTADOS

Um total de 101 amostras de espécimes da espécie *C. thous* (Apêndice 1) distribuídas entre as quatro rodovias citadas na metodologia, sendo 27 amostras encontradas na rota de sentido a Águas Belas - PE, 12 amostras na rota em sentido à Pedra – PE, 27 amostras na rota em sentido à Palmeira dos Índios – AL e 35 amostras na rota em sentido à São Caetano – PE como observado na Figura 6 e Apêndice 1.

### 5.1 Caracterização do território

Os atropelamentos de *C. thous* ocorreram em toda a extensão das rodovias percorridas durante o período de coleta dos espécimes (Figura 10). Desta forma, pode-se disponibilizar os dados coletados e relacioná-los com os dados de ocupação humana, vegetação e pluviométricos para a região.

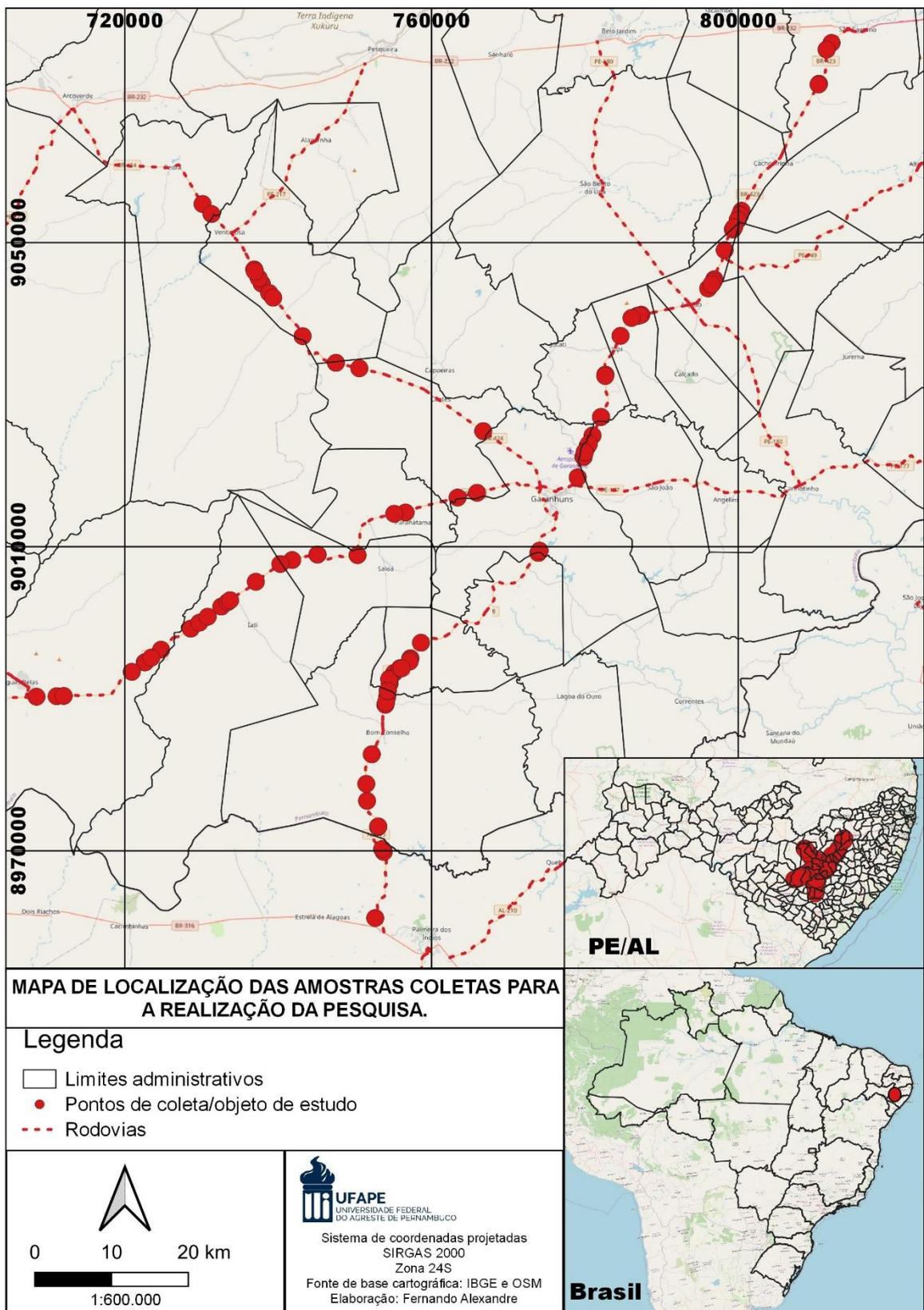


Figura 10. Mapa de distribuição espacial dos espécimes de *Cerdocyon thous* coletados nas rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor

Inicialmente foram observadas as áreas urbanas e de intensa extração de recursos naturais dispostas as margens dos trechos de rodovia percorridos. Neste sentido, verificou-se que a ocorrência de atropelamentos da espécie *C. thous* não aconteceu ou raramente ocorreu em áreas urbanas ou de intensa atividade de extração dos recursos naturais como as pedreiras e o parque eólico, demonstrados na Figura 11.

Em relação as áreas urbanas, foi observado agrupamentos de atropelamentos entre os municípios, intercalados pelas áreas urbanas destes. Nas áreas de exploração de rochas as margens da rodovia BR-423 nos municípios de Paranatama e São Caetano, os números de indivíduos atropelados foram raros, tanto nas regiões dos domínios de extração, como também nas áreas que circundam o empreendimento.

Nos trechos das rodovias que compreendem o domínio do parque eólico BR-423 e BR-424, foi observado que os atropelamentos ocorrem com baixa frequência. Considerando esses dados, aparentemente a espécie em estudo, apesar de estar adaptada aos fatores antrópicos não conseguem suportar alterações antrópicas que modificam o ambiente drasticamente.

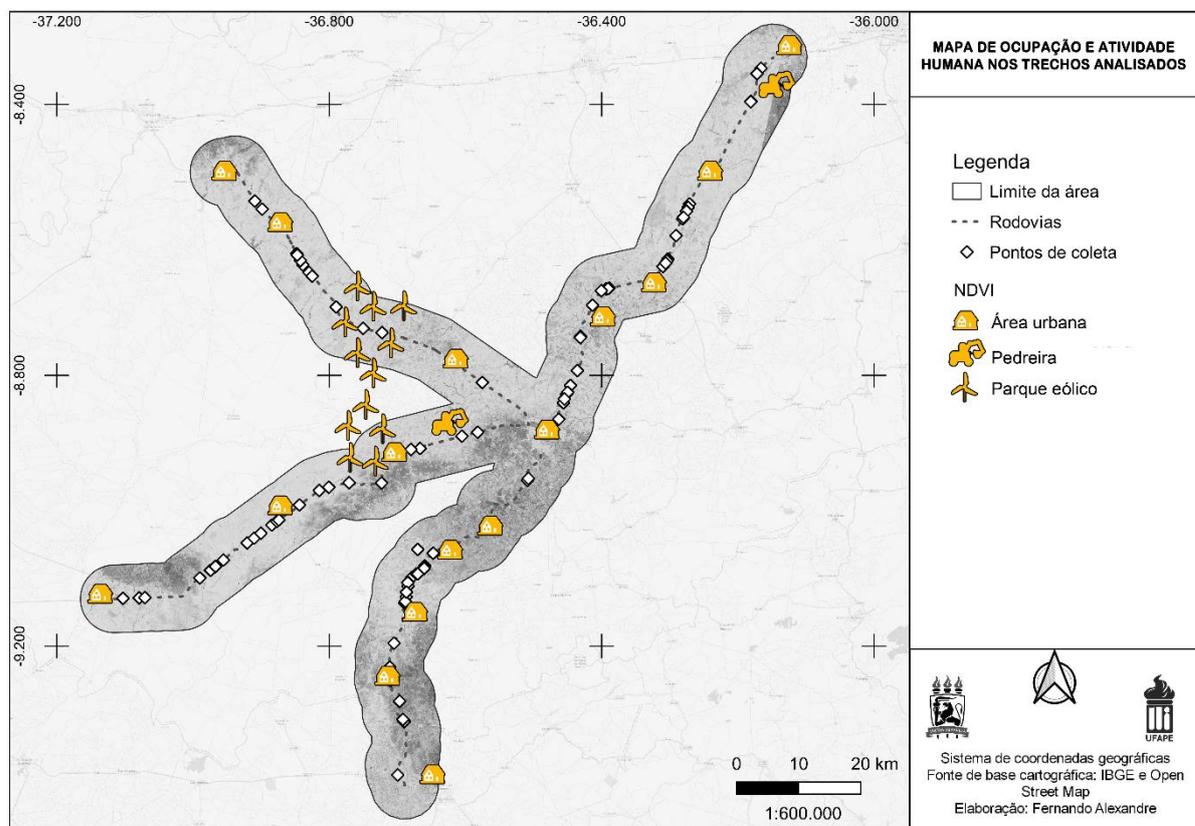


Figura 11. Demarcação das áreas urbanas, parque eólico e exploração de rochas as margens das rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

No que diz respeito ao uso dos solos no trecho das rodovias que foram percorridos durante o estudo, observa-se na figura 12 que grande parte das áreas fragmentadas pelas rodovias se limitam a vegetação de pequeno porte que podem ser consideradas áreas de pastagem utilizadas para a pecuária, áreas de uso para a agricultura de cultivos, principalmente, sazonais e regiões caracterizadas por crescimento de vegetação secundária.

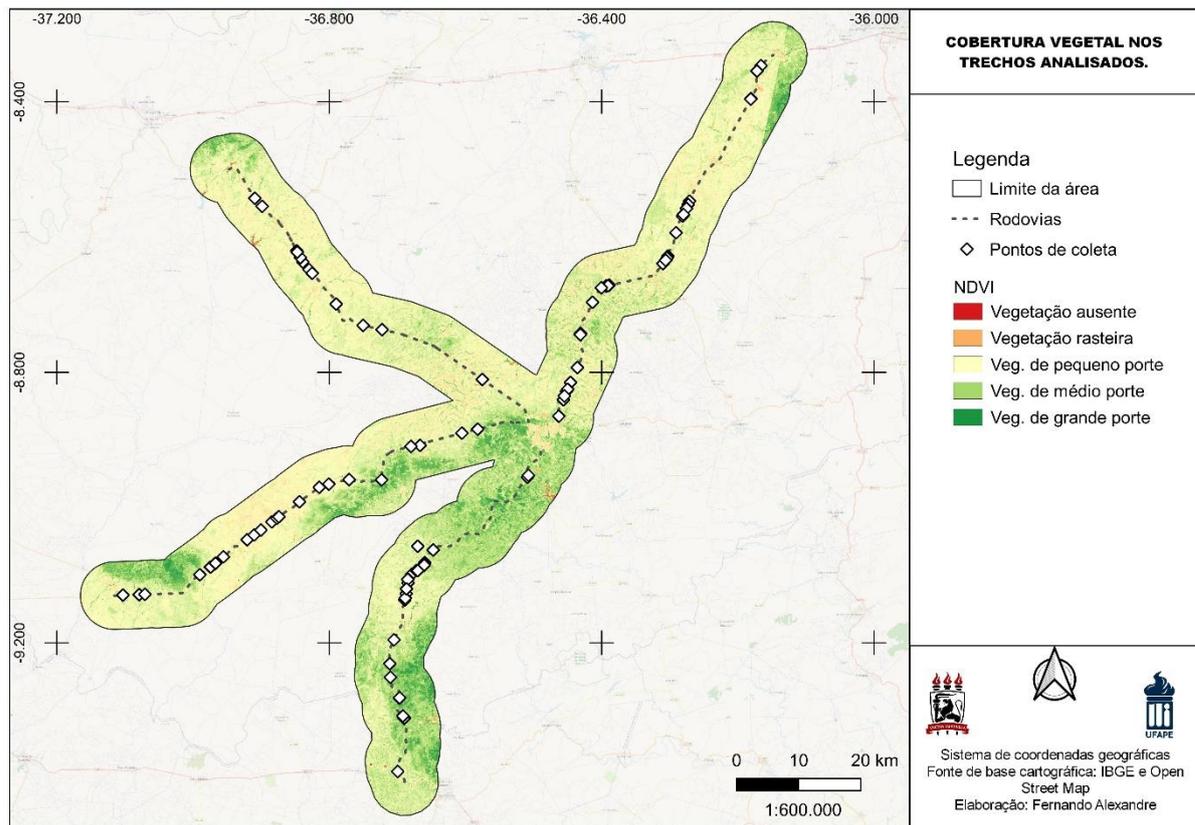


Figura 12. Uso dos solos e cobertura vegetal dos trechos de rodovias, percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

Uma parte, dos trechos percorridos, foi caracterizada por regiões com vegetação de médio porte e poucas regiões com vegetação totalmente conservada caracterizado pelas áreas de vegetação de grande porte onde grande parte dessa caracterização de vegetação compreende o trecho Garanhuns – Palmeira dos Índios nas rodovias BR-424, PE-218 e AL-115. A grande maioria dos registros de atropelamento ocorreram nas regiões onde são verificadas as vegetações de pequeno porte conforme os dados apresentados na Figura 12.

Relacionando tais dados disponíveis da espécie neste estudo, pode-se observar que as regiões que mais ocorrem atropelamentos são com médias pluviométricas entre 600 e 700 mm

anuais. As áreas com pluviosidade abaixo de 500 mm possuem menores indícios de ocorrência de atropelamentos como o trecho que compreende os municípios de Cachoeirinha e São Caetano e o município de Águas Belas. Áreas onde as médias pluviométricas estão acima de 1600 mm anuais também não ocorrem atropelamentos.

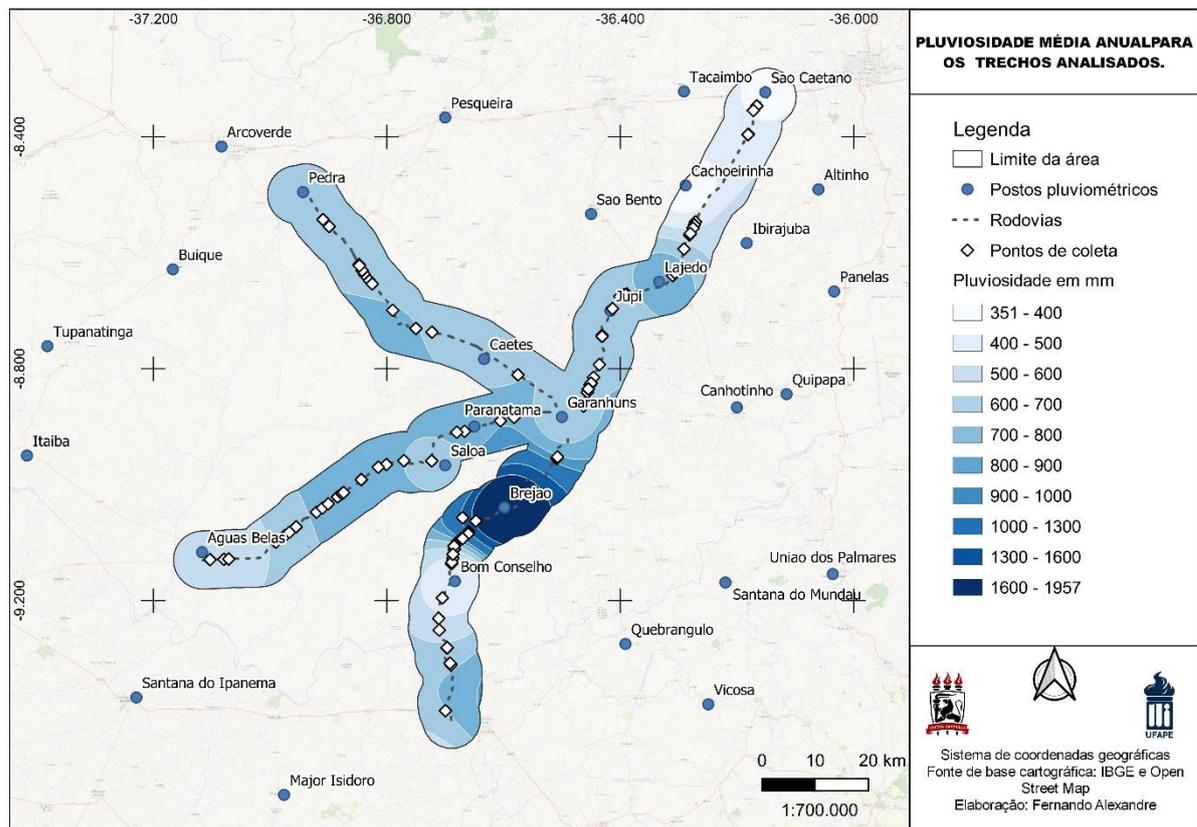


Figura 13. Pluviosidade média anual para os trechos de rodovias percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

Em regiões com maiores índices pluviométricos como as áreas do entorno do município de Brejão (Figura 13) os espécimes não foram coletados, tais eventos podem estar ligados tanto a oferta de alimentos como aos hábitos da espécie. Nesta região, além dos índices pluviométricos elevados (Figura 13) a vegetação tende a ser de médio porte (Figura 12), conseqüentemente, a oferta de alimentos neste ambiente é maior, reduzindo a área de vida da espécie, diminuindo a área de busca de fontes de alimentos nas rodovias, reduzindo também os atropelamentos. O segundo fator também está atrelado as áreas de vegetação de médio porte, já que a espécie está bem adaptada a ambientes de campo e/ou áreas de borda e tais ambientes tendem a possuir uma massa de vegetação mais densa, com indicativos de platoes contínuos.

## 5.2 Hotspots

Como pode ser observado na figura 14, existem regiões nas quais os atropelamentos ocorrem com maior frequência

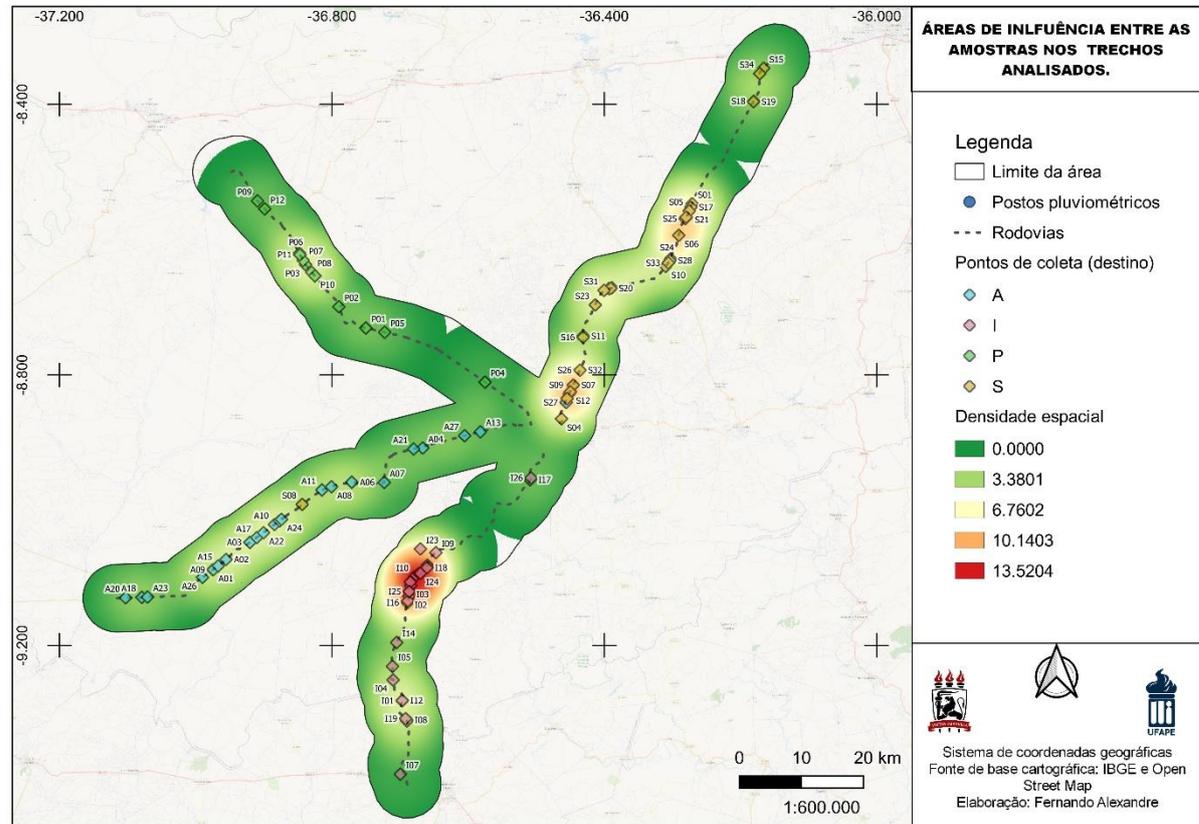


Figura 14. Mapa de calor das áreas de atropelamentos de indivíduos da espécie *Cerdocyon thous* nos trechos de rodovias percorridos durante as coletas de campo período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

As áreas em amarelo, laranja e vermelho são as regiões de maior frequência de atropelamentos dos indivíduos, as áreas em verde são áreas com baixa ou nenhuma influência de indivíduos atropelados.

As regiões que apresentaram as áreas mais quentes do mapa são os trechos percorridos da BR-423 que ligam os municípios de Garanhuns a São Caetano e o trecho das rodovias BR-424, PE-218 e AL-115 que ligam os municípios de Garanhuns a Palmeira dos Índios.

## 5.3 Sexagem dos indivíduos coletados

Todas as amostras tiveram o DNA amplificado para os genes utilizados na sexagem, Mostrando-se como um material genético obtido íntegro (Tabela 3). A sexagem molecular foi

necessária pelo motivo de que os indivíduos coletados, na maioria dos casos, se apresentavam em intenso estado de decomposição e, desta maneira, sendo impedidos de serem sexados de forma morfológica.

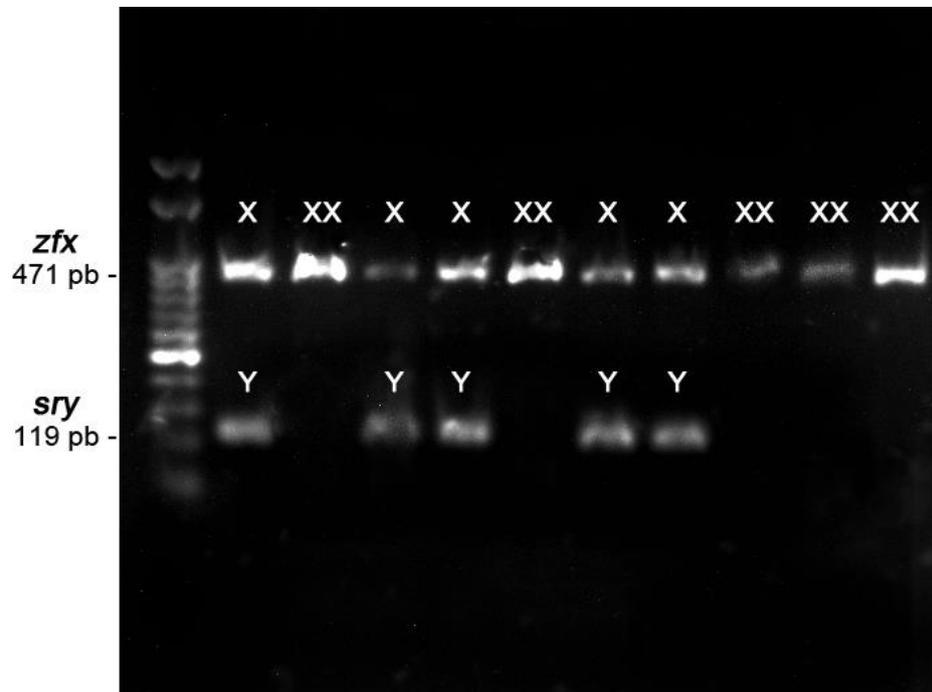


Figura 15 Gel representativo da sexagem molecular dos espécimes coletados da espécie *Cerdocyon thous*. Fonte: o autor.

Foi observado um número de 51 fêmeas e 50 machos (Figura 16) coletados formando um padrão de 1:1 quando feito o teste do  $X^2$ . Como demonstrado na figura 16, não existe um padrão de ambiente onde ocorrem prevalência de sexo entre os espécimes coletados, se mostrando bastante heterogêneo. Porém, é possível observar a prevalência de regiões onde ocorrem maior predominância de atropelamentos. Essas regiões estão associadas a áreas entre zonas urbanas, com pouca incidência de residências, apesar de não se considerarem áreas de vegetação intensa, mas sim de pasto e vegetação arbustiva, característica de uma vegetação secundária.

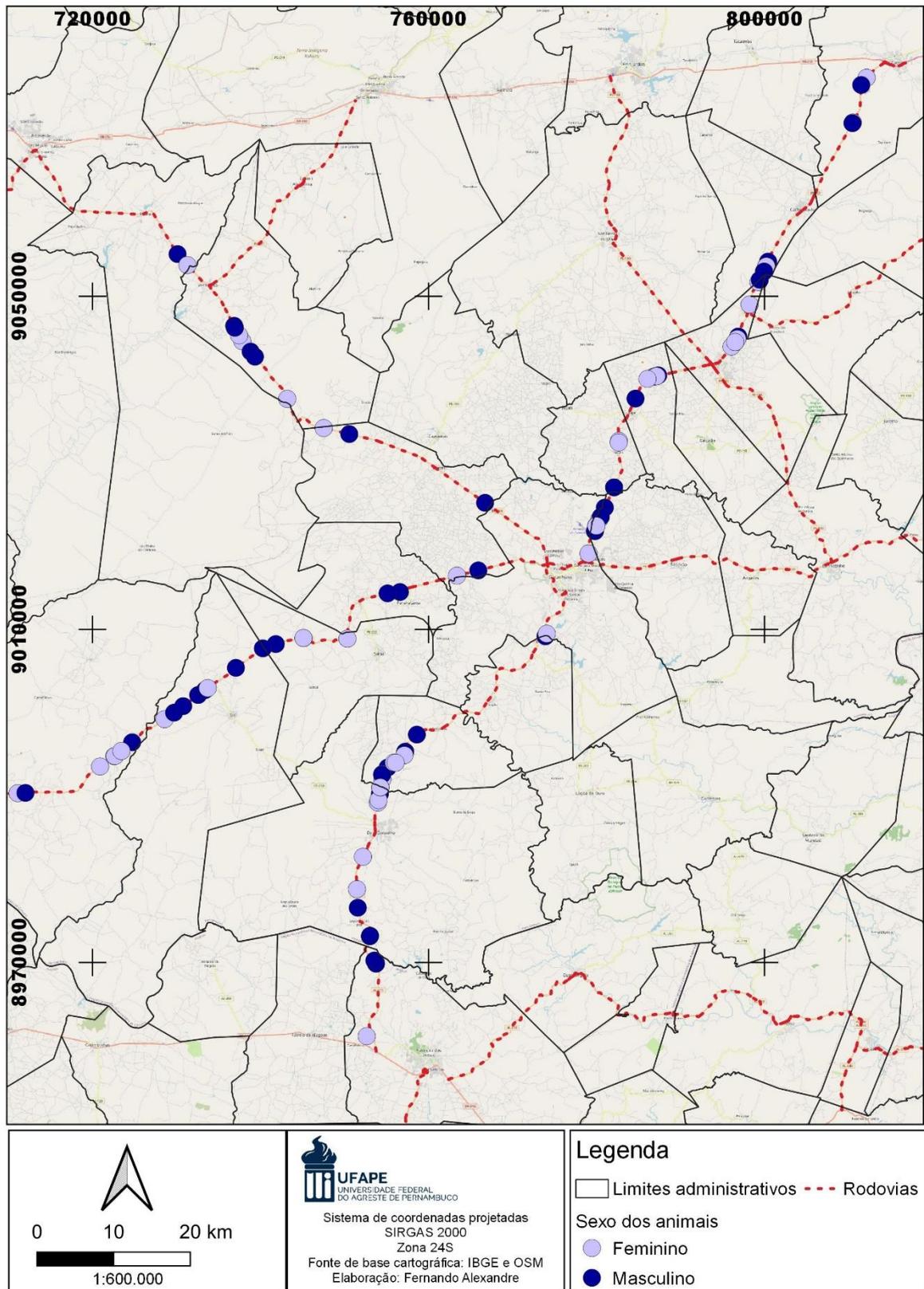


Figura 16. Mapa de distribuição dos espécimes macho e fêmea da espécie *Cerdocyon thous*, nas rodovias estudadas no período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

## 5.4 Caracterização Genética

A técnica de extração de DNA através de ossos não pulverizados (FONSECA *et al.*, 2017) se mostrou a única eficiente para o tipo de amostra coletada, já que os indivíduos estavam expostos sobre o solo e, na maioria das vezes, em avançado estado de decomposição (Figura 17).



Figura 17. Indivíduos da espécie *Cerdocyon thous* coletados nos trechos de rodovia percorridos. As imagens A e B demonstram diferentes estados de decomposição entre os indivíduos. Fonte: o autor.

Dos 28 *primers* ISSR testados, apenas cinco foram selecionados para a genotipagem, pois apresentaram melhor qualidade de amplificação e obtiveram o maior definição e número de bandas (tabela 3). São eles UBC 816, UBC 820, UBC 826, UBC 830 e UBC 864. A Figura 18 demonstra um gel representativo do primer UBC820 para algumas das amostras coletadas. Tais dados possibilitaram a criação da matriz binária e posteriormente análises moleculares para o grupo em questão.

Para os cinco primers utilizados foram somadas 38 bandas, uma média de 7,6 bandas para cada primer em estudo. As bandas inespecíficas foram desconsideradas do estudo, observando apenas as bandas com pesos moleculares bem identificados.

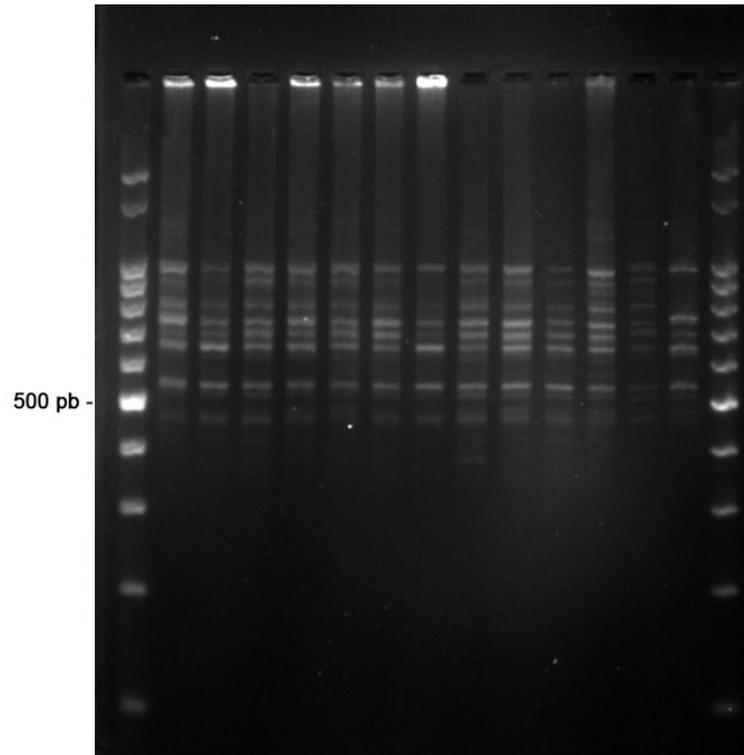


Figura 18. Gel representativo do primer UBC820. Nas extremidades o marcador de peso molecular de 100pb. Fonte: o autor.

A heterosigiosidade esperada média ( $H_e$ ) para o grupo amostral foi de 0,35 mostrando que existe pouca variação genética entre os grupos de espécimes gerados durante o trecho das rodovias percorridos. A heterozigozidade esperada também pode ser observada nas amostras de cada um dos grupos analisados (Tabela 4; Figura 19).

Tabela 4. Heterozigiosidade esperada para os grupos demonstrados no entorno das rodovias e média entre a heterosigiosidade esperada.

Gp1	Gp2	Gp3	Gp4	Gp5	Gp6	Gp7	Gp8	Gp9	Gp10	Gp11	Gp12	Gp13	Média
0.47	0.41	0.44	0.40	0.50	0.41	0.35	0.00	0.38	0.39	0.58	0.00	0.28	0.35

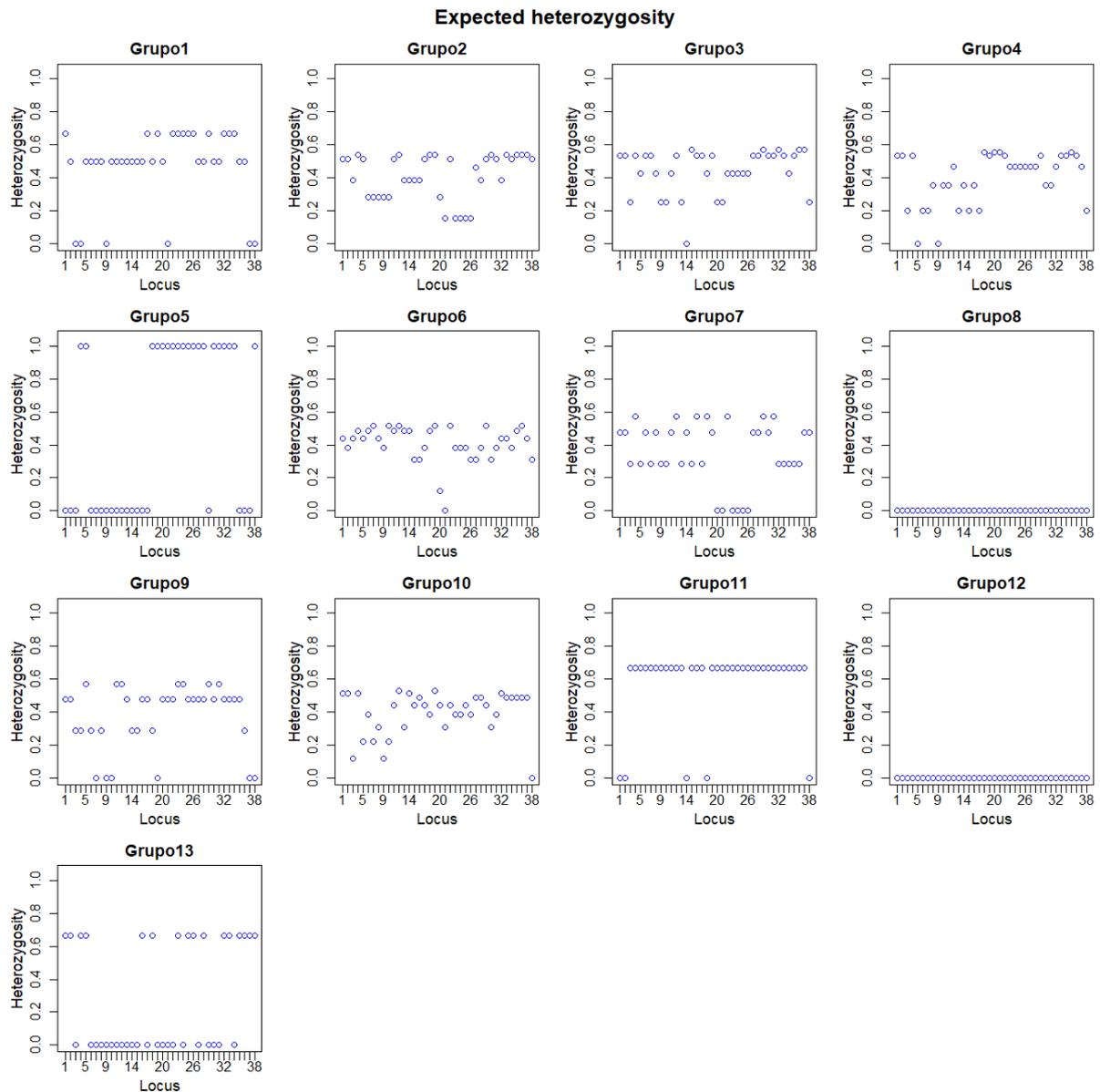


Figura 19. Heterozigosidade esperada dos grupos gerados a partir dos trechos de rodovias percorridos durante as coletas de campo, período de agosto de 2019 a março de 2020 e setembro de 2020 a novembro de 2020. Fonte: o autor.

A figura 19 mostra a heterozigosidade esperada para cada um dos *loci* amplificados dentro de cada um dos grupos apresentados. Demonstrando a variação genética dentro dos grupos. Para os grupos analisados não houve valores significativos para os índices de diferenciação genética ( $p=1$ ) reforçando a ideia de baixa variação genética entre os grupos trabalhados na amostragem.

Com relação ao índice  $F_{st}$  (Figura 20) pode-se observar que não existe isolamento genético entre os grupos e as populações não estão diferenciadas geneticamente havendo fluxo genético entre os indivíduos das amostras coletadas. A relação do grupo 8 com o grupo 12

mostrou uma intensa diferenciação, isto por que nestes dois grupos houve um isolamento de indivíduos e cada um deles apresentou apenas um espécime (Figura 20), gerando imprecisão no dado, porém mostrando que esses dois organismos possuem características genótípicas distintas.

A maior distância percebida entre os grupos formados é de 130 Km, no entanto, podem ser visualizados grupos associados ao longo de todo trecho, o que sugere que os indivíduos estão continuamente associados geneticamente.

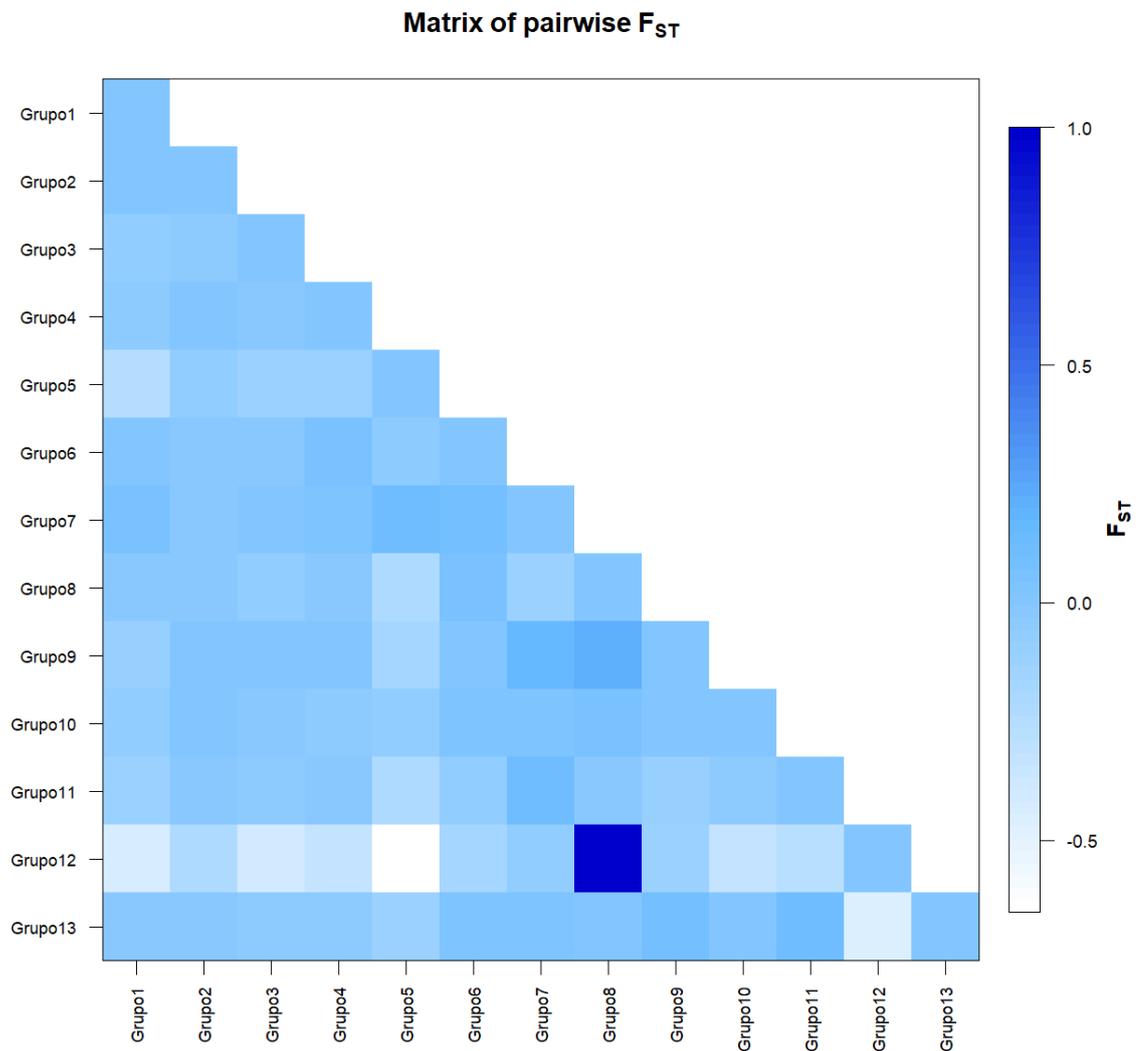


Figura 20. Matriz de pares  $F_{ST}$  mostrando as proximidades genéticas entre os indivíduos dos grupos coletados. Fonte: o autor.

A análise de agrupamento genético apresentou uma alta probabilidade para dois *clusters* Genéticos (K=2) (Figura 21). Os *clusters* encontrados não apresentam predominância de áreas, mostrando que não existe uma estimada diferenciação genética entre as áreas estudadas.

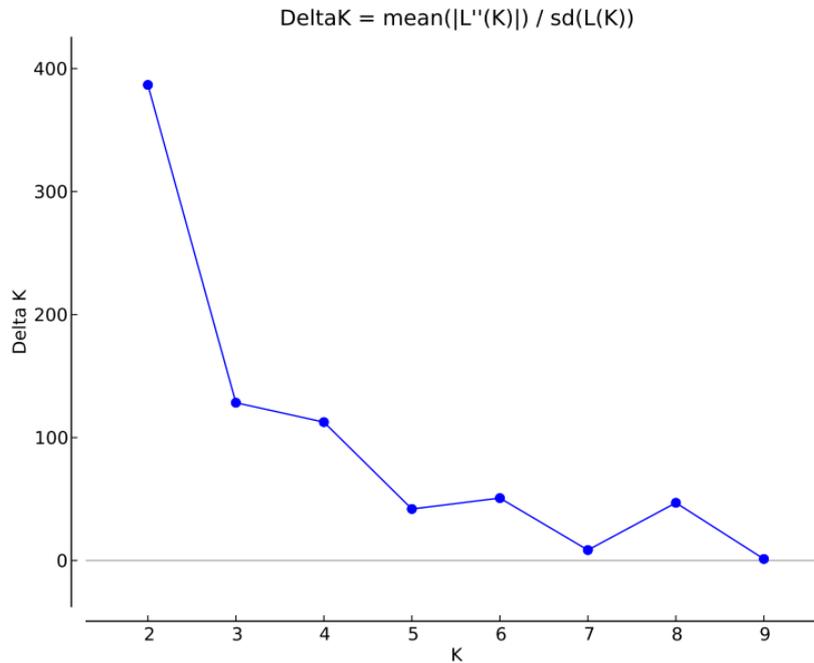


Figura 21. Valores de Delta K demonstrando a formação de *Clusters* nas corridas do programa estatístico Structure. O *cluster* mais provável é aquele em que o valor de Delta K é mais alto. Fonte: o autor.

Em todos os grupos apresentados foram detectados a presença dos *clusters* genéticos, demonstrando a não diferenciação genética entre as localidades, a exemplo dos dados de Fst que também apresentaram fluxo gênico entre os indivíduos estudados. As amostras coletadas demonstram que os organismos não estão isolados em grupos menores, mas sim que são integrados, formando uma população genética.

Os *Clusters* genéticos formados (Figura 22) mostram a construção de dois perfis genéticos. Também podem ser observados que todos os indivíduos possuem proporções dos dois perfis genéticos encontrados.

K=2

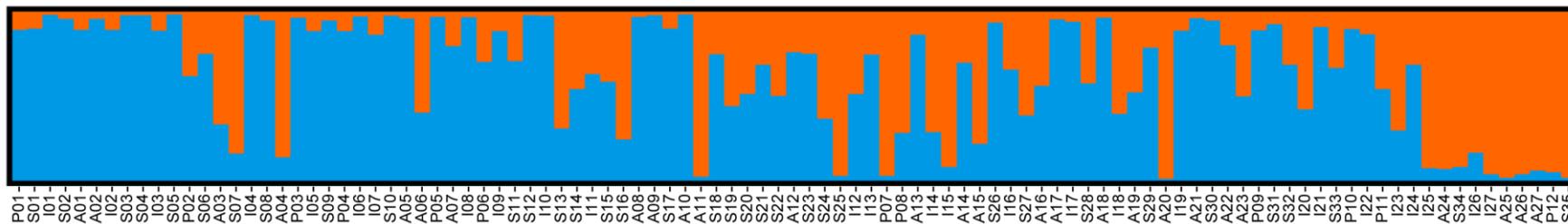


Figura 22. Representação dos *clusters* genéticos observados nas 101 amostras de *Cerdocyon thous* analisados nos trechos de rodovias percorridos. Fonte: o autor.

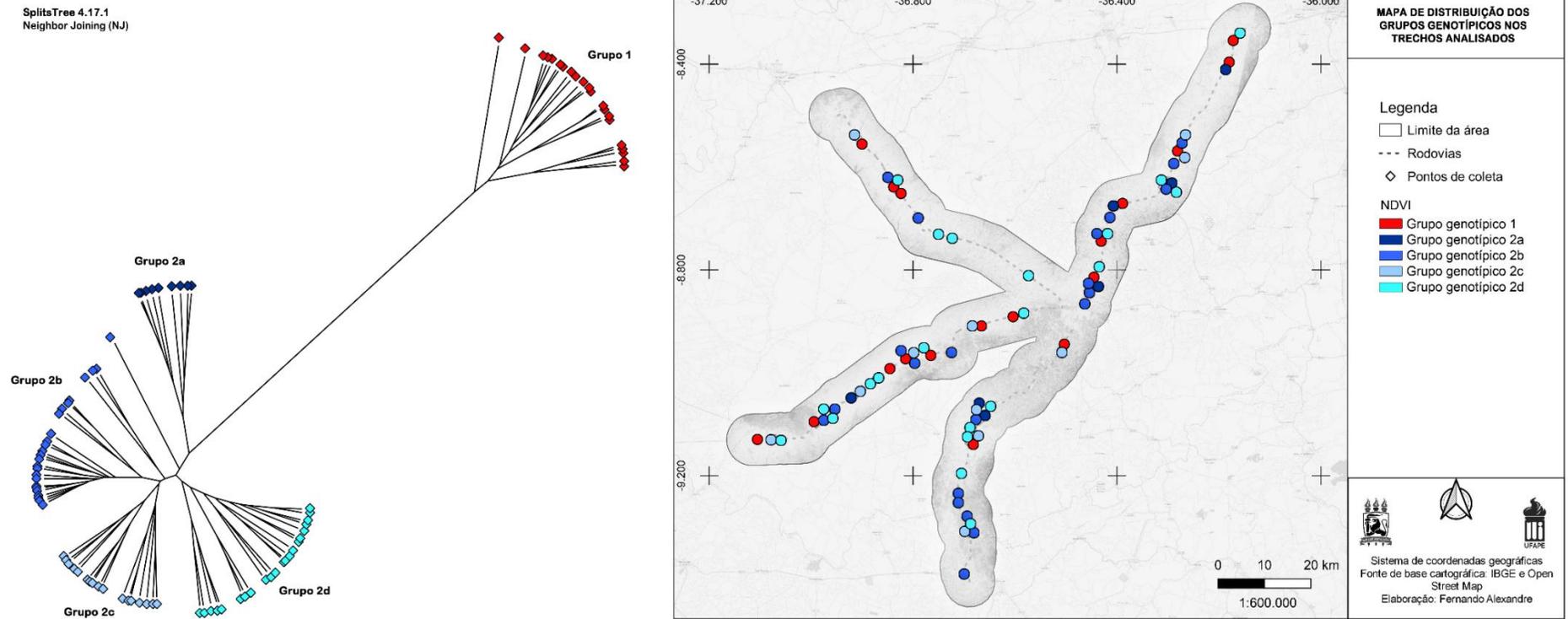


Figura 23. Árvore de distanciamento genético através do método *Neighbor Joining* e representação de distribuição dos perfis genéticos ao longo dos trechos de rodovias percorridos. Fonte: o autor.

A disposição dos indivíduos na árvore de distanciamento genético (Figura 23) demonstra que existem dois perfis genéticos, um com maior frequência que outro. O grupo dois apresenta quatro perfis genéticos próximos. Todos os perfis estão distribuídos ao longo de todos os trechos percorridos durante a coleta. Alguns trechos de rodovia apresentam perfis mais raros que outros, como o trecho que compreende os municípios de Garanhuns à Palmeira dos Índios, em que o grupo um, só aparece duas vezes, sendo uma delas próximo ao município de Garanhuns onde se encontram mais representações deste perfil.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Caracterização do território

Dentre os vertebrados, estão os mamíferos como grupo mais avaliado em atropelamentos (CHEREM *et al.*, 2007) tanto por possuírem uma área de vida maior que os demais indivíduos, como também com relação ao tipo de busca por alimentação. Dentro desses, as raposas são frequentemente atropeladas (SOBANSKI, 2017).

Rezini (2010), durante um período de um ano em quatro trechos de rodovias brasileiras coletou-se um total de 40 indivíduos da espécie *C. thous*. Percorrendo um trecho de 100km em diversos trechos de rodovia Orlandin (2015), coletou 11 espécimes de *C. thous*. Em seu estudo Castro (2017) coletou 122 amostras de *C. thous*, sendo delas 27 de indivíduos que foram atropelados. Tais dados refletem que em diferentes localidades os atropelamentos desta espécie são frequentes. Além disso, demonstra a abundância no número de indivíduos nas amostragens.

Poucos atropelamentos são observados em ambientes de vegetação de médio porte podendo estar relacionados à oferta de alimento para esta espécie nessas áreas, se comparado as regiões com vegetação mais densa e supostamente com uma maior oferta de alimentar, torna-se maior, levando a espécie a reduzir o seu terreno de busca de alimento.

Enquanto em áreas de vegetação de pequeno porte a oferta de alimento se torna reduzida ampliando sua área de forragem, cujos itens alimentares serão generalistas, inclusive levando ao consumo até de carcaças que foram atropeladas nas rodovias, deixando a espécie com maior vulnerabilidade de atropelamentos.

As análises da pluviosidade nos trechos das rodovias estudadas, são observadas áreas de baixa pluviosidade com médias anuais entre 700 e 800 mm caracterizando os ambientes como os do domínio das Caatingas. Apesar desta caracterização, observa-se que a região estudada possui áreas nas quais as médias pluviométricas anuais podem variar de acordo com o ambiente e a altitude, por exemplo. Isso porque essas áreas sofrem intensa influência do planalto da Borborema e podem estar associadas a brejos de altitude. Os brejos de altitude são áreas privilegiadas por uma maior influência sobre os níveis de precipitação anual, sendo então considerados áreas de refúgio para as espécies viventes no bioma Mata Atlântica (LIMA, 1982, BARBOSA *et al.*, 2004). São ecorregiões encontradas em grandes altitudes, geralmente, 600m acima do nível do mar (FREITAS *et al.*, 2019). Os indicativos para tais eventos podem também estar relacionados a oferta de alimentos para a espécie, em regiões mais áridas, a oferta de alimentos é menor o que conseqüentemente não geram deslocamentos neste território para busca de alimentos. As áreas com médias entre 600 e 700 mm de chuvas, também são áreas nas quais a oferta de alimento é reduzido, porém, os indivíduos tendem a trafegar pois são essas

áreas que melhor caracterizam as quantidades de chuva no ambiente de Caatinga e, desta forma, estão adaptados.

No que diz respeito aos ambientes em que foram encontrados os indivíduos atropelados desta espécie, houve baixa frequência de indivíduos nas áreas urbanas e em regiões de uso e extração do ambiente natural. É bem verdade que a espécie está bem adaptada aos fenômenos antrópicos e utiliza paisagens modificadas como pastos, canaviais, cultivares e áreas consideradas suburbanas (DOTTA, VERDADE, 2007; LEMOS *et al.*, 2011).

Preferencialmente habitam regiões de bordas e áreas abertas do que matas densas, sendo frequentemente encontradas em campos de pastos e trafegando em áreas às margens de rodovias (DOTTA, VERDADE, 2007; LEMOS *et al.*, 2011). Tais fatores corroboram com a ideia de que a espécie em estudo apresenta um fluxo maior de atropelamentos em áreas em que a vegetação é caracterizada como rasteira e arbustiva. Como esses indivíduos preferivelmente optam por estar em ambientes de bordas acabam gerando um fluxo de atropelamentos maior nessas áreas.

A maior parte das áreas percorridas pelos trechos de rodovia, são áreas antropizadas que acumulam regiões de pastos e construções de moradias, tais características são muito parecidas com as do trabalho de Guimarães (2017), onde as manchas de observação no entorno das rodovias demonstram áreas de uso dos solos para a agricultura e pecuária além da construção civil. Segundo este mesmo autor, a intensificação do uso das terras não sendo minimizadas a partir do momento em que se distancia das bordas das rodovias.

A busca por alimentos pode ser outra característica a ser considerada no estudo. As áreas correspondentes aos atropelamentos normalmente são de baixos índices pluviométricos que acabam por delimitar ambientes com fitofisionomia característica de ambientes de Caatinga (DRUMOND *et al.*, 2000).

Tais áreas possuem uma oferta de alimentos reduzidas principalmente nos períodos de estiagem, fazendo com que a espécie aumente o seu território de busca de alimento. Além disso, as dietas dos carnívoros podem mudar em ambientes fortemente alterados como as áreas mais antropizadas, pois os indivíduos se veem obrigados a consumir o alimento disponível no local (CASTRO, 2017). Como a oferta de alimento é reduzida, os indivíduos tendem a se comportar como cosmopolitas, aumentando sua área de *Home Range* levando-os a estarem em inteira associação com os ambientes de rodovias, já que uma das ofertas de alimentos podem ser as carcaças de outras espécies que também foram atropelados (GATTI *et al.*, 2006).

Reis (2011) identifica os indivíduos desta espécie como sendo oportunistas, variando sua alimentação de acordo com a sazonalidade, onde em períodos mais chuvosos se alimentam com maior frequência de frutos, já nos períodos de estiagem, se alimentam em maior frequência

de pequenos animais. Uma observação pessoal sobre os dados coletados é que os atropelamentos ocorriam com maior frequência em períodos de estiagem e algumas vezes os espécimes atropelados foram encontrados próximos de outras carcaças, levando a corroborar com os dados de Bueno e Motta-Junior (2004) que afirmam que as carcaças de animais silvestres fazem parte da dieta da espécie.

## **6.2 Hotspots**

As rodovias são os principais meios de interligação entre municípios e um importante mecanismo de facilidade ao acesso para o interior do continente (BARAT, 1969, BERTUSSI; ELLERY JUNIOR, 2012). O fato é que a malha viária causa grandes impactos na biodiversidade dos territórios em que ocorre a fragmentação pelas rodovias (BAGER *et al.*, 2007). A ecologia de estradas tende a verificar essas taxas de ocorrência de atropelamentos e levam a buscar medidas que mitiguem os efeitos causados (BAGER, FONTOURA, 2012).

Para que haja as medidas mitigatórias, são necessários analisar as áreas de maior influência de atropelamentos para a espécie. Nas quatro rodovias foram observadas regiões com maiores densidades de atropelamentos, com destaque para uma região do trecho de rodovia que liga os municípios de Garanhuns a Palmeira dos Índios. A espécie é frequentemente encontrada vivendo em casais a ou em pequenas matilhas (MACDONALD & COURTENAY 1996) a espécie é considerada monogâmica, apesar de que quando os um dos indivíduos morrem, o espécime sobrevivente poderá formar outro casal distante do território de origem. Os casais dividem o território e podem, inclusive, ser sobrepostos (MACDONALD & COURTENAY 1996). As características da espécie não condizem com o agrupamento de atropelamentos em determinadas regiões, mas está associadas a ambientes de passagem para busca de alimento e interligação com territórios ocupáveis pela espécie formando nessas áreas de *hotspots* um importante canal de passagem dos indivíduos e conseqüentemente vulnerabilidade aos atropelamentos.

Pode-se comparar o *hotspot* do trecho de rodovia percorrido entre os municípios de Garanhuns e Palmeira dos Índios, com o mapa de uso dos solos e observar que a região quente para os atropelamentos é uma região de vegetação rasteira e campos abertos e rodeada de vegetação um pouco mais densa. Considerando a característica desta espécie em optar por habitar ambientes de borda e mais aberto (LEMOS *et al.*, 2011) este poderia ser um local estratégico de cruzamento do indivíduo tentando contornar as áreas mais densas de vegetação.

Tal fator está associado aos dados demonstrados nas figuras 12 e 13 que se refere ao tipo de vegetação predominante e aos índices pluviométricos. Apesar da espécie ser

territorialista, esses indivíduos podem compartilhar o seu determinado território com outros grupos da mesma espécie, fazendo com que busquem as mesmas fontes de alimento e possuam as mesmas áreas de exploração do território.

Assis (2014) relata que os ambientes os quais as espécies percebem áreas de fluxo e permeabilidade nas rodovias dependem dos hábitos que desenvolveram no ambiente, desta forma cada espécie irá se permeabilizar nas rodovias de forma diferente e cada uma delas terá um trecho onde a frequência de atropelamentos será maior em uma espécie que em outra.

### **6.3 Sexagem dos indivíduos**

Na amostragem foram encontrados 51 fêmeas e 50 machos, valores muito aproximados aos índices de 1:1. Frequentemente são encontrados para a espécie *C. thous* uma proporção de sexagem dos indivíduos de 1:1 (MONTGOMERY E LUBIN, 1978). Castro (2017) em sua amostragem encontrou 63 machos e 59 fêmeas e observou que o número de machos atropelados é maior que o de fêmeas. Tais observações corroboram com as características de hábitos desses indivíduos que se mostram monogâmicos e que apesar de caçarem de forma individual sempre se apresentam em pares (BEISIEGEL *et al.*, 2013).

Montgomery e Lubin (1978) demonstram que a razão sexual de 1:1 em *C. thous*. Sendo o que foi observado para os espécimes coletados na presente pesquisa. Apesar de não ser observado para a espécie a cooperação na caça e que cada indivíduo possui independência no forrageamento, machos e fêmeas podem buscar por alimento juntos (MONTGOMERY e LUBIN, 1978), o que pode explicar o mecanismo de observação de 1:1 encontrado na amostragem. Uma vez que os espécimes possuem responsabilidade de caça e forrageamento acabam possuindo condições iguais de risco de atropelamentos.

### **6.4 Caracterização Genética**

A Diversidade Genética da espécie foi considerada baixa para a área de estudo. A  $H_e$  foi de 0,35 na área de estudo. Castro (2017) encontrou uma  $H_e$  de 0,686 considerando uma alta diversidade genética para a espécie observando as regiões de São Paulo, Mato grosso do Sul e Goiás. Para a mesma espécie, Tchaika (2006) estimando quase que em totalidade as populações de *C. thous* distribuídas no Brasil, encontrou uma  $H_e$  de 0,64. Os dados levam a considerar uma  $H_e$  baixa para o presente estudo, indicando a caracterização de uma única população para as áreas do Agreste Meridional de Pernambuco e Agreste de Alagoas.

As estruturações populacionais através das análises Bayesianas mostraram no presente estudo a máxima probabilidade de dois *clusters* genéticos. Castro (2017) encontrou em seu estudo a máxima probabilidade de presença (K) de três *clusters* genéticos para as populações estudadas. O presente estudo, corrobora com o de Castro (2017), não demonstrando diferenças na estruturação das possíveis populações coletadas. Isso é verificado já que nas quatro rodovias analisadas todos os indivíduos possuem os dois *clusters* prováveis segundo as análises a partir do método de Evanno *et al.* (2005).

Em contrapartida, foi observado em Castro (2017) que foram encontradas três populações, uma para o estado de São Paulo, outra para o estado de Mato Grosso do Sul e uma para o estado de Goiânia. Neste estudo foram encontradas apenas uma população. Tchaika (2006), utilizando microssatélites e a distribuição de *C. thous* para quase todo o território brasileiro não encontrou diferenciação populacional a não ser entre os espécimes coletados no Nordeste e de todo o resto do domínio da espécie no país.

A não diferenciação dos indivíduos coletados nas quatro rodovias estudadas pode estar associada aos indivíduos não serem residentes daquele ambiente no qual foi atropelado (CASTRO, 2017). Tais atropelamentos podem ocorrer em abundância em determinadas regiões por serem pontos de acesso/passagem a outros territórios levando a crer que os indivíduos da espécie compartilham e trocam características genéticas com outros indivíduos de outros ambientes.

Esses indivíduos podem abranger áreas de domínio de vida amplos, chegando a 11,5km<sup>2</sup> para os machos e a metade desta área para as fêmeas. Porém, de acordo com a sazonalidade, indivíduos da espécie *C. thous* podem aumentar as suas áreas de vida para que consigam êxito na busca por alimentos (REIS *et al.*, 2011). Esse amplo espaço de vida, associados aos hábitos alimentares desses indivíduos, fazem com que acabem interagindo e compartilhando territórios, logo, podem ser levados a territórios de outros espécimes da mesma espécie. Faria e Corrêa (2009) utilizando armadilhas de captura puderam calcular em uma UC do Parque Estadual de Itapuã no Rio Grande do Sul uma densidade populacional para a espécie de 0,78 ind/km<sup>2</sup>. Em áreas do Cerrado, Desbiez *et al.* (2010) conseguiu uma densidade populacional de 0,55 ind/km<sup>2</sup>. Para a Caatinga ainda não foram registrados dados de densidade populacional da espécie de *C. thous*, mas esse dado associado ao tamanho de área de vida da espécie pode-se afirmar que os organismos compartilham territórios mesmo que de matilhas distintas aumentando assim o fluxo gênico entre os indivíduos envolvidos fazendo com que sejam percebidas apenas uma população.

Levando em consideração as características de diversidade genética da espécie, e considerando que a mesma apresenta uma baixa diversidade no ambiente de estudo, além de associar os dados de abrangência territorial da espécie e seus hábitos de vida, pode-se associar esses indivíduos a uma única população, na qual se dissociam em determinado ambiente rumo a outra localidade formando uma rede de associação de populações menores garantindo um fluxo genético da espécie no local (HANSKI, SIMBERLOFF, 1997; HANSKI, 1998).

A baixa diferenciação e variação genética, associados aos índices de  $F_{st}$  que fortalecem a ideia de que não existem isolamento entre os grupos de indivíduos estudados indicando que se trata de uma população que se organizam em grupos desviando/contornando as áreas urbanas e ambientes que geram ameaças na sobrevivência desses organismos.

Um outro fenômeno que pode estar associado é o aumento da pressão antrópica fazendo com que uma população maior tenha se fragmentado recentemente, mas que os índices de diferenciação genética ainda não foram perceptíveis. Os espaços antropizados como áreas urbanas podem causar efeitos irreparáveis em uma população bem estruturada fazendo com que a diversidade genética diminua, acometida pelas alterações fornecidas pelo ambiente à espécie (CASTRO, 2017). Ainda que a espécie seja tolerante e sobreviva a ambientes antropizados, mas com maior permeabilidade como áreas de pasto e cultivos agrícolas (FERRAZ *et al.*, 2010).

Futuramente, a rápida ocupação territorial e crescimento de ambientes urbanos, pode gerar uma redução significativa na População de *C. thous* da região, levando ainda mais a redução da variabilidade genética da espécie.

## 7. CONCLUSÕES

A espécie possui uma alta taxa de atropelamentos nos quatro fragmentos de rodovias que foram inseridos os estudos de caracterização. Nas áreas de domínio urbano não ocorrem ou são pouco frequentes os atropelamentos de indivíduos da espécie *C. thous*. Áreas de campo, agricultura e pastagem são as regiões mais frequentes que ocorrem os atropelamentos e estão incluídas no processo de verificação dos *hotspots*. Os fragmentos de rodovias estudados caracterizaram a composição genética de uma população onde foram supostos dois fenômenos, o primeiro que os organismos tendem, pelos seus hábitos, a estarem em conexão com subpopulações, ou estarem encaminhando no processo de migração para territórios de populações vizinhas. Ou que os eventos de crescimento populacional mais acelerados processos de urbanização tenham recentemente separado uma população em subpopulações, gerando no futuro aspectos de isolamento populacional dos indivíduos. Estudos com maiores amplitudes coletando populações de ambientes mais distantes entre si podem ser ideais no processo de caracterização genética na espécie no estado de Pernambuco.

Apesar da espécie apresentar baixa variabilidade genética, alguns dos indivíduos apresentam características genotípicas variadas. Os atropelamentos desses organismos geram uma redução ainda maior de características genéticas tornando ainda mais reduzida a variabilidade genética da espécie na região em estudo.

Os perfis genéticos formados podem ser observados como uma forma de distanciamento por comportamento, já que os grupos se mesclam ao longo de todos os trechos das rodovias percorridas, sem a observação de nenhuma barreira geográfica nem distanciamento entre os organismos estudados.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. J. A. Geoecologia da caatinga no semi-árido do Nordeste brasileiro. **CLIMEP: Climatologia e Estudos da Paisagem**, Rio Claro, v. 2, p. 149-163, 2007. ISSN 1.
- ANDRADE-LIMA, D. de. The caatingas dominium. **Revista brasileira de Botânica**, v. 4, n. 2, p. 149-153, 1981.
- ARAÚJO, F. S.; MARTINS, F. R. Fisionomia e organização da vegetação do carrasco no Planalto da Ibiapaba. **Acta Botânica Brasílica**, Estado do Ceará, v. 13, p. 1-13, 1999.
- ASSIS, Tainá Oliveira. Utilização de matrizes de pasto e café por pequenos mamíferos em uma paisagem fragmentada no sul de MG. 2014.
- BAGER, A. *et al.* Fauna selvagem e atropelamento-diagnóstico do conhecimento científico brasileiro. **Áreas Protegidas. Repensando as escalas de atuação (A. Bager, ed.)**. **Armazém Digital, Porto Alegre**, p. 49-62, 2007.
- BAGER, Alex; FONTOURA, Vanessa. Evaluation of the effectiveness of a wildlife roadkill mitigation system in wetland habitat. **Ecological Engineering**, v. 53, p. 31-38, 2013.
- BAGER; A.; FONTOURA, V. Ecologia de estradas no Brasil: contexto histórico e perspectivas. In: BAGER, A. Ecologia de estradas: tendências e pesquisas, Lavras: UFLA, 2012, p. 12-33.
- BARAT, Josef. O investimento em transporte como fator de desenvolvimento regional-Uma análise da expansão rodoviária no Brasil. **Revista Brasileira de Economia**, v. 23, n. 3, p. 25-52, 1969.
- BARBOSA, M. R. V.; AGRA, M. F. E.; SAMPAIO, V. S. B.; CUNHA, J. P.; ANDRADE, L. A.. Diversidade florística na Mata do Pau-Ferro, Areia, Paraíba. Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004.
- BARROS, Katia Maria Paschoaletto Micchi *et al.* Assessment of *Cerdocyon thous* distribution in an agricultural mosaic, southeastern Brazil. 2010.
- BECKMANN, J.P.; CLEVINGER, H.P.; HUIJSER, M.P. & HILLY, J.A. Safe passages – highways, wildlife and habitat connectivity. **Island Press**. 396 p. 2010.
- BEISIEGEL, Beatriz de Melo *et al.* Avaliação do risco de extinção do Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, n. 1, p. 138-145, 2013.
- BERRY, Oliver *et al.* Effect of vegetation matrix on animal dispersal: genetic evidence from a study of endangered skinks. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 855-864, 2005.

- BERTUSSI, Geovana Lorena; ELLERY JUNIOR, Roberto. Infraestrutura de transporte e crescimento econômico no Brasil. **Journal of Transport Literature**, v. 6, n. 4, p. 101-132, 2012.
- BORNET, B.; BRANCHARD, M. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. **Plant molecular biology reporter**, v. 19, n. 3, p. 209-215, 2001.
- BUENO, A. D. A.; MOTTA-JUNIOR, J. C. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), in southeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 77, n. 1, p. 5-14, 2004.
- BUENO, A. de A.; MOTTA-JUNIOR, JOSÉ CARLOS. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), in southeastern Brazil. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 77, n. 1, p. 5-14, 2004.
- CASTRO, Karen Giselle Rodrigues. Distribuição da variação genética nos canídeos *Cerdocyon thous* e *Chrysocyon brachyurus* de paisagens antropizadas da região centro-oeste e sudeste do Brasil. 2017.
- CHAVES, Sivany Rodrigues *et al.* Caracterização da estrutura genética de populações de *Caryocar brasiliense* Camb. no estado de Goiás utilizando marcadores moleculares microssatélites. 2005.
- CHEREM, Jorge J. *et al.* Mamíferos de médio e grande porte atropelados em rodovias do Estado de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biotemas**, v. 20, n. 3, p. 81-96, 2007.
- CLARK, Rulon W. *et al.* Roads, interrupted dispersal, and genetic diversity in timber rattlesnakes. **Conservation Biology**, v. 24, n. 4, p. 1059-1069, 2010.
- COOMBS, N. J.; GOUGH, A. C.; PRIMROSE, J. N. Optimization of DNA and RNA extraction from archival formalin-fixed tissue. **Nucleic Acids Research**, v. 27, n. 16, p. e12-i-e12-iii, 1999.
- DA FONSECA, Bruno Celerino *et al.* PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE DNA DO OSSO QUE UTILIZA DESMINERALIZAÇÃO POR SOLUÇÃO DE EDTA SEM PULVERIZAÇÃO. **Seminários de Biomedicina do Univag**, v. 1, 2017.
- DESBIEZ, A. L. J.; BODMER, R. E.; TOMAS, W. M. Mammalian densities in a Neotropical wetland subject to extreme climatic events. *Biotropica*, v. 42, n. 3, p. 372-378, 2010.
- DOS SANTOS, C. R.; DA SILVA, R. V. Passagem inferior de fauna e cerca guia como forma de mitigação dos impactos ambientais. **Revista Internacional de Ciências**, v. 5(2). 2015.

- DOTTA, Graziela; VERDADE, Luciano M. Trophic categories in a mammal assemblage: diversity in an agricultural landscape. **Biota Neotropica**, v. 7, p. 287-292, 2007.
- DRUMOND, M. A., KIILL, L. H. P., LIMA, P. C. F., DE OLIVEIRA, M. C., DE OLIVEIRA, V. R., DE ALBUQUERQUE, S. G., CAVALCANTI, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. **Embrapa Semiárido-Folder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2000.
- EVANNO G, REGNAUT S E GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611– 20, 2005.
- EVANNO, Guillaume; REGNAUT, Sebastien; GOUDET, Jérôme. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.
- EXCOFFIER L E LISCHER EL Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10:564–567, 2010.
- EXCOFFIER L, SMOUSE PE E QUATTRO JM. Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics Society of America* 131: 479–491, 1992.
- EXCOFFIER, Laurent; LISCHER, Heidi EL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.
- FALEIRO, Fábio Gelape *et al.* Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2008.
- FARIA-CORRÊA, M. *et al.* Activity, habitat use, density, and reproductive biology of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) and comparison with the pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in a Restinga area in the southern Brazilian Atlantic Forest. **Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde**, v. 74, n. 3, p. 220-229, 2009.
- FERREIRA-NETO, Celso Alexandre *et al.* Effects of fragmentation and anthropic pressure on the genetic structure of *Canthon (Peltecanthon) staigi* (Coleoptera: Scarabaeidae) populations in the Atlantic Forest domain. **Journal of insect conservation**, v. 21, n. 2, p. 267-276, 2017.
- FORMAN, Richard TT *et al.* **Road ecology: science and solutions**. Island press, 2003.

- FRANKHAM, Richard; BALLOU, Jonathan D.; BRISCOE, David A. Fundamentos de genética da conservação. **Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto**, 2008.
- FREITAS, M. A.; ABEGG, A. D.; ARAÚJO, D. S.; COELHO, H. E. A.; AZEVEDO, W. S.; CHAVES, M. F.; MOURA, G. J. B.. Herpetofauna of five "Brejos de Altitude" of the interior of the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. *Herpetology Notes*, v.12, p.591-602, 2019.
- GAO, Qiang *et al.* Recent Progress Using High-throughput Sequencing Technologies in Plant Molecular BreedingF. **Journal of integrative plant biology**, v. 54, n. 4, p. 215-227, 2012.
- GATTI, Andressa *et al.* Diet of two sympatric carnivores, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*, in a restinga area of Espírito Santo State, Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 22, n. 2, p. 227-230, 2006.
- GHERARDI, DOUGLAS FM. Modelos de metapopulação. **Megadiversidade**, p. 56, 2007.
- GUIMARÃES, Juliane Fernandes. Hotspots de atropelamentos e a influência da paisagem na sobrevivência de mamíferos de médio e grande porte em uma área do cerrado mineiro. 2017.
- HADDAD, Nick M. *et al.* Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. **Science advances**, v. 1, n. 2, p. e1500052, 2015.
- HANSKI, Ilkka. Metapopulation dynamics. **Nature**, v. 396, n. 6706, p. 41-49, 1998.
- HANSKI, Ilkka; SIMBERLOFF, Daniel. The metapopulation approach, its history, conceptual domain, and application to conservation. **Metapopulation biology**, p. 5-26, 1997.
- HARDY, Godfrey Harold. Mendelian proportions in a mixed population. **Classic papers in genetics. Prentice-Hall, Inc.: Englewood Cliffs, NJ**, p. 60-62, 1908.
- HOLSINGER, Kent E.; LEWIS, Paul O.; DEY, Dipak K. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. **Molecular ecology**, v. 11, n. 7, p. 1157-1164, 2002.
- HUSON DH. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics* 14:68–73, 1998.
- JÖGER, Ulrich *et al.* Phylogeography of western Palearctic reptiles—Spatial and temporal speciation patterns. **Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology**, v. 246, n. 4, p. 293-313, 2007.
- JORGE, R. S. P.; ROCHA, F. L.; MAY JÚNIOR, J. A.; MORATO, R. G. Ocorrência de patógenos em carnívoros selvagens brasileiros e suas implicações para a conservação e saúde pública. **Oecologia Australis** 14(3): 686-710, 2010.

- KORMAN, Vânia. **Proposta de interligação das glebas do parque estadual de Vassununga (Santa Rita do Passa Quatro, SP)**. 2003. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- LEMOS, F. G., FACURE, K. G., AZEVEDO, F. C., ROSALINO, L. M., GHELIER-COSTA, C. A first approach to the comparative ecology of the hoary fox and the crab-eating fox in a fragmented human altered landscape in the Cerrado Biome at Central Brazil. **Middle-sized carnivores in agricultural landscapes**. New York: Nova Sciences Publishers, p. 143-160, 2011.
- LEVINS, Richard. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. **American Entomologist**, v. 15, n. 3, p. 237-240, 1969.
- LIMA, D. A.. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. Recife: Instituto de Pesquisa Agrônômica de Pernambuco, 1960. LIMA, D. A.. Present-day forest refuges in northeastern Brazil. *Biological Diversification in the Tropics*, v.245, p.251, 1982.
- LIU, B. *et al.* Polyploid formation in cotton is not accompanied by rapid genomic changes. **Genome**, v. 44, n. 3, p. 321-330, 2001.
- LIU, Jia-Ni; GUI, Fu-Rong; LI, Zheng-Yue. Genetic diversity of the planthopper, *Sogatella furcifera* in the Greater Mekong Subregion detected by inter-simple sequence repeats (ISSR) markers. **Journal of Insect Science**, v. 10, n. 1, p. 52, 2010.
- MACHKOUR-M'RABET, Salima *et al.* Population structure and genetic diversity of the only extant Baroninae swallowtail butterfly, *Baronia brevicornis*, revealed by ISSR markers. **Journal of insect conservation**, v. 18, n. 3, p. 385-396, 2014.
- MONTGOMERY, G. G.; LUBIN, Y. Social structure and food habits of crab-eating Fox in Venezuela Llanos. *Acta Cientifica Venezuelana*, v. 29, p. 382-383, 1978.
- MONTGOMERY, G. G.; LUBIN, Y. Social structure and food habits of crab-eating Fox in Venezuela Llanos. *Acta Cientifica Venezuelana*, v. 29, p. 382-383, 1978.
- ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. Fundamentos de ecologia. 5ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011.
- ORLANDIN, E., PIOVESAN, M., FAVRETTO, M. A., & D'AGOSTINI, F. M.. Mamíferos de médio e grande porte atropelados no Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 5, n. 4, p. 125-130, 2015.

- OVASKAINEN, Otso; HANSKI, Ilkka. Spatially structured metapopulation models: global and local assessment of metapopulation capacity. **Theoretical population biology**, v. 60, n. 4, p. 281-302, 2001.
- PRADO, D. E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife: Universitária da UFPE, 2003. p. 181-236.
- PRASANNA, H. C. *et al.* The population genomics of begomoviruses: global scale population structure and gene flow. **Virology Journal**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2010.
- PREVOST, A.; WILKINSON, M. J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **Theoretical and applied Genetics**, v. 98, n. 1, p. 107-112, 1999.
- PRITCHARD, Jonathan K.; STEPHENS, Matthew; DONNELLY, Peter. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.
- RAMOS-ABRANTES, M. M. *et al.* Wild vertebrate's roadkill on the BR-230 highway, state of Paraíba, Brazil. **PUBVET**, v. 12, n. 1, p. 1-7, 2018.
- RAYMOND, Michel. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Hered.**, v. 86, p. 248-249, 1995.
- REIS, N. R., PERACCHI, A. L., PEDRO, W. A., & LIMA, I. P. Mamíferos do Brasil; Mammals of Brazil. **Universidade Estadual de Londrina, Londrina**, 2011.
- REZINI, Josias Alan. Atropelamento de mamíferos em rodovias do leste dos Estados do Paraná e Santa Catarina, Sul do Brasil. 2010.
- ROLDÀN-RUIZ, Isabel *et al.* AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). **Molecular breeding**, v. 6, n. 2, p. 125-134, 2000.
- ROUGHGARDEN, J. Production function from ecological populations: a survey with emphasis on spatially implicit models. In: D. Tilman & P. Kareiva (eds). *Spatial Ecology*. pp 296-317. Monographs in Population Biology 30, Princeton University Press, Princeton. 1997.
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. **Molecular cloning: a Laboratory Manual**, 3. Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York: cshl, 2001.
- SILVA, E.L.F.; LEITE, F.L.G.; SOUZA, T.D.; ROSSI, J.L.; MARCHESI, M.D.; ALVES, D.C. Avaliação da idade em cachorros-do-mato, *Cercopithecus thous* (Linnaeus, 1758), por meio

- da mensuração do diâmetro do canal pulpar. *Natureza on line*, v. 8, n. 3, p. 114-116, 2010.
- SOBANSKI, Marcela Barcelos. Avaliação do uso de controladores eletrônicos de velocidade como medida de mitigação de atropelamentos de animais silvestres na rodovia BR-262, Trecho da Anastácio à Corumbá, Mato Grosso do Sul. 2017.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. *Biometry*. New York: **W. H. Freeman and Company**, 1995.
- SOUSA, Marcos Antonio Nóbrega de; MIRANDA, Pricilla Cordeiro. Mamíferos terrestres encontrados atropelados na rodovia BR-230/PB entre Campina Grande e João Pessoa. **Revista de biologia e Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 72-82, 2010.
- TCHAICKA, L., EIZIRIK, E., OLIVEIRA, T. G., CÂNDIDO JR, J. F., FREITAS, T. R. O.. Phylogeography and population history of the crab eating fox (*Cerdocyon thous*). *Molecular Ecology*, 16: 819-838, 2007.
- TEMPLETON, Alan Robert. Genética de populações e teoria microevolutiva. **Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto**, 2011.
- TROMBULAK, Stephen C.; FRISSELL, Christopher A. Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. **Conservation biology**, v. 14, n. 1, p. 18-30, 2000.
- VANZOLINI, P. E. Ecological and geographical distribution of lizards in Pernambuco, northeastern Brazil (Sauria). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 28, p. 61-90, 1974.
- VARSHNEY, Rajeev K. *et al.* Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. **Plant Science**, v. 173, n. 6, p. 638-649, 2007.
- ZHAO, Z. Y. *et al.* Novel method to establish molecular identity using inter-simple sequence repeat markers in cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars. **Genet Mol Res**, v. 13, p. 3947-3955, 2014.
- ZIETKIEWICZ, Ewa; RAFALSKI, Antoni; LABUDA, Damian. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p. 176-183, 1994.

## 9. APÊNDICES

### Apêndice 1

N° da amostra	Data da Coleta	Destino da viagem	Latitude	Longitude	Sexo
1	11/10/2019	Venturosa	-8,7307	-36,75024	F
2	10/01/2020	São Caetano	-8,54691	-36,27109	M
3	20/12/2019	Palmeira	-9,28196	-36,69685	M
4	27/12/2019	São Caetano	-8,67251	-36,39350	M
5	06/12/2019	Águas Belas	-9,08808	-36,97477	F
6	10/01/2020	Águas Belas	-9,07289	-36,95551	M
7	17/11/2019	Palmeira	-9,12736	-36,68702	M
8	10/01/2020	São Caetano	-8,55189	-36,27298	F
9	10/01/2020	São Caetano	-8,86496	-36,46296	F
10	20/12/2019	Palmeira	-9,11158	-36,68437	F
11	10/01/2020	São Caetano	-8,5575	-36,27548	F
12	10/01/2020	Pedra	-8,69921	-36,78992	F
13	10/01/2020	São Caetano	-8,59366	-36,29071	F
14	07/02/2020	Águas Belas	-9,04766	-36,92050	F
15	22/11/2019	São Caetano	-8,81507	-36,44569	M
16	10/01/2020	Palmeira	-9,25104	-36,71015	M
17	24/01/2020	São Caetano	-8,99147	-36,84367	M
18	08/11/2019	Águas Belas	-8,90809	-36,66669	M
19	28/02/2020	Pedra	-8,63692	-36,83881	F
20	11/10/2019	Palmeira	-9,23085	-36,71116	F
21	24/01/2020	São Caetano	-8,82804	-36,45163	F
22	25/10/2019	Pedra	-8,81071	-36,57524	M
23	11/10/2019	Palmeira	-9,08132	-36,65985	M
24	14/02/2020	Palmeira	-9,39031	-36,69954	F
25	10/01/2020	São Caetano	-8,63948	-36,30999	F
26	08/11/2019	Águas Belas	-9,04367	-36,77067	F
27	22/11/2019	Águas Belas	-8,95877	-36,77067	F
28	11/10/2019	Venturosa	-8,73704	-36,72255	M
29	21/02/2020	Águas Belas	-8,95911	-36,72322	F
30	17/01/2020	Palmeira	-9,31031	-36,69026	F
31	13/03/2020	Pedra	-8,62025	-36,84771	M
32	14/02/2020	Palmeira	-9,06273	-36,64738	M
33	07/02/2020	São Caetano	-8,74261	-36,43098	F
34	05/03/2020	São Caetano	-8,82507	-36,44999	M
35	13/03/2020	Palmeira	-9,09871	-36,67882	M
36	08/11/2019	São Caetano	-8,6724	-36,39230	F
37	07/02/2020	São Caetano	-8,67119	-36,38897	M
38	14/02/2020	Palmeira	-9,31162	-36,68997	M
39	24/01/2020	São Caetano	-8,34669	-36,16607	F

40	10/01/2020	São Caetano	-8,74431	-36,43115	F
41	21/02/2020	Águas Belas	-8,96542	-36,80066	M
42	04/09/2020	Águas Belas	-9,08787	-36,97414	F
43	04/09/2020	São Caetano	-8,55202	-36,27293	F
44	04/09/2020	Águas Belas	-9,0212	-36,88438	M
45	04/09/2020	Águas Belas	-8,97017	-36,81466	M
46	18/09/2020	São Caetano	-8,39537	-36,18062	F
47	18/09/2020	São Caetano	-8,39613	-36,18105	M
48	18/09/2020	São Caetano	-8,67203	-36,39072	F
49	18/09/2020	São Caetano	-8,55774	-36,27534	M
50	18/09/2020	São Caetano	-8,63454	-36,30592	M
51	18/09/2020	Águas Belas	-8,99536	-36,62538	F
52	18/09/2020	São Caetano	-8,69652	-36,41333	M
53	18/09/2020	São Caetano	-8,62843	-36,30275	M
54	18/09/2020	São Caetano	-8,56912	-36,28127	F
55	25/09/2020	Palmeira	-9,2813	-36,69664	M
56	25/09/2020	Palmeira	-9,10574	-36,68447	F
57	25/09/2020	Pedra	-8,63052	-36,84234	F
58	25/09/2020	Pedra	-8,64817	-36,82975	M
59	14/10/2020	Águas Belas	-8,88413	-36,58208	M
60	23/10/2020	Palmeira	-9,19568	-36,70488	F
61	09/10/2020	Palmeira	-9,08303	-36,66030	M
62	14/10/2020	Águas Belas	-9,01582	-36,87693	M
63	02/10/2020	Águas Belas	-9,08241	-36,96710	F
64	02/10/2020	São Caetano	-8,79302	-36,43580	M
65	23/10/2020	Palmeira	-9,1367	-36,68916	F
66	02/10/2020	São Caetano	-8,84068	-36,45619	F
67	02/10/2020	Águas Belas	-8,84068	-36,45619	M
68	14/10/2020	Águas Belas	-9,04052	-36,91031	M
69	23/10/2020	Palmeira	-8,95512	-36,50896	M
70	02/10/2020	São Caetano	-8,63107	-36,30377	F
71	02/10/2020	Águas Belas	-9,12886	-37,07910	F
72	23/10/2020	Palmeira	-9,0852	-36,66076	F
73	14/10/2020	Águas Belas	-8,88643	-36,39119	M
74	14/10/2020	São Caetano	-8,8349	-36,45489	M
75	02/10/2020	Águas Belas	-9,12955	-37,10300	F
76	09/10/2020	Palmeira	-9,30814	-36,69182	M
77	02/10/2020	Águas Belas	-8,90964	-36,68006	M
78	02/10/2020	São Caetano	-8,56673	-36,27993	M
79	02/10/2020	Águas Belas	-9,03334	-36,90047	M
80	02/10/2020	Águas Belas	-9,12846	-37,07076	M
81	23/10/2020	Pedra	-8,54274	-36,90935	M
82	09/08/2020	São Caetano	-8,67512	-36,40050	F
83	09/08/2020	São Caetano	-8,79305	-36,43580	M
84	06/11/2020	Palmeira	-9,13408	-36,68843	F

85	06/11/2020	Palmeira	-9,10629	-36,68479	M
86	13/11/2020	São Caetano	-8,63445	-36,30605	F
87	06/11/2020	Pedra	-8,65366	-36,82506	M
88	06/11/2020	Palmeira	-9,09323	-36,67213	F
89	06/11/2020	Pedra	-8,62239	-36,84697	M
90	06/11/2020	Palmeira	-9,05729	-36,67017	M
91	20/11/2020	Palmeira	-9,09335	-36,67017	F
92	20/11/2020	Palmeira	-9,12037	-36,68646	M
93	27/11/2020	Águas Belas	-9,01363	-36,87407	F
94	27/11/2020	São Caetano	-8,35461	-36,17189	M
95	20/11/2020	Palmeira	-8,95232	-36,50758	F
96	20/11/2020	Palmeira	-9,12017	-36,68660	F
97	27/11/2020	Águas Belas	-8,95863	-36,77082	F
98	27/11/2020	Águas Belas	-9,09938	-36,99011	F
99	27/11/2020	Águas Belas	-8,88995	-36,60514	F
100	06/11/2020	Pedra	-8,55466	-36,89861	F
101	27/11/2020	São Caetano	-8,83502	-36,45474	F

## Apêndice 2

Posto	Lat.	Long.	Altitude	precipitação	Temperatura	Tempo de observação
Garanhuns	-8,88	-36,50	866	767,9	20,2	28
Jupi	-8,70	-36,42	821	704,8	20,8	28
Sao Bento	-8,53	-36,45	350	505	22,1	25
Ibirajuba	-8,58	-36,18	640	680	22	20
Lajedo	-8,65	-36,33	663	849,8	21,9	26
Cachoeirinha	-8,48	-36,29	780	461,5	21	26
Altinho	-8,49	-36,06	470	631	26,2	27
Tacaimbo	-8,32	-36,29	570	657,4	22,7	28
Sao Caetano	-8,32	-36,15	552	483,9	22,7	43
Paranatama	-8,90	-36,65	830	894	20,8	25
Saloa	-8,97	-36,70	850	734,4	20,6	28
Águas Belas	-9,12	-37,12	376	652,8	24,5	65
Caetes	-8,78	-36,63	854	758,4	20,6	23
Pedra	-8,49	-36,94	660	756,1	22,5	49
Brejao	-9,04	-36,60	620	1957,7	22,2	17
Bom Conselho	-9,17	-36,68	654	551,6	22	46
Palmeira dos Indios	-9,41	-36,63	342	987,9	18,5	73
Pesqueira	-8,37	-36,70	650	677,5	22,7	60
Tupanatinga	-8,76	-37,38	709	928,9	22,3	27
Itaiba	-8,95	-37,42	470	742,4	24,1	28
Arcoverde	-8,42	-37,08	663	590,5	22,6	62
Buique	-8,63	-37,17	798	1100,1	21,6	54
Quebrangulo	-9,27	-36,39	411	1636,5	17,8	69

Vicosa	-9,38	-36,25	300	1359,2	18,5	75
Santana do Ipanema	-9,37	-37,23	250	853,9	19,6	73
Canhotinho	-8,87	-36,20	623	970,4	21,9	27
Uniao dos Palmares	-9,15	-36,03	155	1084,4	19,7	71
Quipapa	-8,84	-36,11	480	640,5	22,9	35
Panelas	-8,67	-36,03	620	617,4	21,9	49
Santana do Mundau	-9,17	-36,22	221	1352,8	19,3	28
Major Isidoro	-9,53	-36,98	217	675,5	19,7	75
Craibas	-9,62	-36,77	230	351,7	19,4	23