

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE
CAMPUS DE SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA E
CONSERVAÇÃO

PAULO VINICIUS DAVANÇO

**UTILIZAÇÃO DE *LOCI* DE MICROSSATÉLITES PARA A IDENTIFICAÇÃO
DE HÍBRIDOS E MANEJO GENÉTICO DE UMA ESPÉCIE DE AVE
BRASILEIRA EXTINTA NA NATUREZA: O MUTUM-DE-ALAGOAS, *PAUXI
MITU* (AVES, CRACIDAE).**

Sorocaba – SP
Março de 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS PARA A SUSTENTABILIDADE
CAMPUS DE SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA E
CONSERVAÇÃO

PAULO VINICIUS DAVANÇO

**UTILIZAÇÃO DE *LOCI* DE MICROSSATÉLITES PARA A IDENTIFICAÇÃO
DE HÍBRIDOS E MANEJO GENÉTICO DE UMA ESPÉCIE DE AVE
BRASILEIRA EXTINTA NA NATUREZA: O MUTUM-DE-ALAGOAS, *PAUXI
MITU* (AVES, CRACIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de
Diversidade Biológica e Conservação,
Universidade Federal de São Carlos
(UFSCar), campus Sorocaba, para obtenção
do título de mestre em Diversidade
Biológica e Conservação.

Orientação: Prof. Dr. Mercival Roberto
Francisco

Sorocaba – SP
Março de 2012

D245u Davanço, Paulo Vinicius
Utilização de *loci* de microssatélites para a identificação de híbridos e manejo genético de uma espécie de ave brasileira extinta na natureza: o mutum-de-alagoas, *Pauxi mitu* (aves, Cracidae). -- Sorocaba, 2012.
69 f. : il. (color.) ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, *Campus* Sorocaba, 2012

Orientador: Mercival Roberto Francisco

Banca examinadora: Luis Fabio Silveira, Pedro Manoel Galetti Jr.

Bibliografia

1. Genética da conservação. 2. Melhoramento genético. 3. Aves - conservação. I. Título. II. Sorocaba - Universidade Federal de São Carlos.

CDD 598

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do *Campus* de Sorocaba.

PAULO VINICIUS DAVANÇO

UTILIZAÇÃO DE *LOCI* DE MICROSSATÉLITES PARA A
IDENTIFICAÇÃO DE HÍBRIDOS E MANEJO GENÉTICO DE
UMA ESPÉCIE DE AVE BRASILEIRA EXTINTA NA
NATUREZA: O MUTUM-DE-ALAGOAS, *PAUXI MITU* (AVES,
CRACIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação para obtenção do título de
mestre em Diversidade Biológica e Conservação.

Universidade Federal de São Carlos.

Sorocaba, 15 de Março de 2012.

Orientadora:



Prof. Dr. Mercival Roberto Francisco

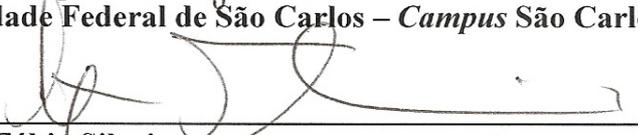
Universidade Federal de São Carlos – *Campus Sorocaba*

Examinadores:



Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Junior

Universidade Federal de São Carlos – *Campus São Carlos*



Dr. Luis Fábio Silveira

Universidade de São Paulo - USP

**Aos meus pais, por
acreditarem em mim e me
ensinarem o modo correto
de agir. Se hoje tenho
sucesso, o mérito é deles.**

“Se, a princípio, a ideia
não é absurda, então não
há esperança para ela.”
(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mercival Roberto Francisco por me orientar e me apoiar neste trabalho. Tenho orgulho de ter sido orientado por quase seis anos de minha vida, onde tentei assimilar um pouco de seu vasto conhecimento e de sua desenvoltura na prática da ciência.

Aos Criatórios Conservacionistas de Poços de Caldas e CRAX, que sem eles não teríamos as amostras necessárias. Parabênzico pelo incrível trabalho que desenvolveram e ainda desenvolvem na conservação de *P. mitu* e outras espécies ameaçadas.

Ao MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo), em especial ao Dr. Luis Fabio Silveira, por ter ajudado quando preciso e por ceder as amostras para esse trabalho.

A CAPES pela bolsa de mestrado que me financiou pelos meses de trabalho.

À FAPESP pelo financiamento do projeto que culminou nesta dissertação.

Ao Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Conservação e a todos os professores a ele ligado que acreditaram no projeto e me deram a base para o desenvolvimento pleno dele.

Ao Prof. Dr. Luis Fábio Silveira e Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Jr. pela participação em minha banca, contribuindo com seus comentários e compartilhamento seus conhecimentos.

Aos meus pais, Paulo e Rose, pelo apoio incondicional e pela crença que tiveram em mim, me apoiando e incentivando.

Ao Júnior, colega de laboratório e amigo que ajudou de forma imensurável para a conclusão deste trabalho.

À minha namorada, Andressa Bichara que me ajudou nas horas difíceis.

Aos meus colegas do Laboratório de Genética de Aves Ameaçadas, que de alguma forma contribuíram na finalização deste trabalho: Paulo Roberto R. de Oliveira Júnior, Crisley de Camargo, Lívia Sousa, Mariellen Costa, Natasha Laganaro.

Ao técnico de laboratório, Renato, por nos ajudar quando foi preciso.

RESUMO

DAVANÇO, Paulo Vinicius. *Utilização de loci de microssatélites para a identificação de híbridos e manejo genético de uma espécie de ave brasileira extinta na natureza: o Mutum-de-Alagoas, *Pauxi mitu* (Aves, Cracidae)*. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica e Conservação) – Centro de Ciências e Tecnologias para Sustentabilidade, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2012.

Cracidae é uma família de aves presentes na região Neotropical e por vários fatores, como a caça e a destruição de seu habitat, é o grupo mais ameaçado dessa região. O Mutum-de-Alagoas, *Pauxi mitu*, é o cracídeo mais ameaçado, pois é um táxon já extinto na natureza. A população passou por um severo gargalo populacional: apenas um trio (2 fêmeas e 1 macho) resgatado da natureza e teve sucesso reprodutivo, dando origem aos 121 indivíduos cativos atuais. Destes, apenas pouco mais da metade é considerada pura por caracteres morfológicos, uma vez que em 1990 alguns machos foram hibridados com fêmeas de *Pauxi tuberosa*, Mutum-Cavalo. A técnica de microssatélites ganhou grande destaque nos últimos anos, se tornando uma importante ferramenta em estudos de genética populacional e na avaliação dos níveis de parentesco entre os indivíduos. Através do uso dessa técnica este trabalho teve o objetivo de identificar os híbridos e realizar o monitoramento e manejo genético da população de *P. mitu*, possibilitando o desenvolvimento de recomendações e ações para a conservação desta espécie ameaçada da fauna brasileira. A análise com o Software STRUCTURE 2.1 identificou 55 indivíduos puros, ou seja, menos da metade do plantel atual da espécie. Sendo que esses representam um N_E de apenas 3,8 indivíduos (CI 95%: 2,6 – 8,5) e com diversidade alélica ($2,32 \pm 0,6$: 1,68 – 3,91) e heterozigosidade esperada (0,36); reduzidas quando comparadas com *P. tuberosa* e *Crax globulosa*. Estas informações poderão auxiliar no manejo em cativeiro e em tentativas futuras de reintrodução dessa espécie já extinta na natureza.

Palavras-chave: *Pauxi mitu*. Extinta na natureza. Genética da conservação. Manejo genético.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. A família Cracidae	10
1.2. Conservação <i>Ex Situ</i> e a perda de variabilidade genética	11
1.3. Monitoramento e manejo genético de populações em cativeiro	14
1.4. O Mutum-de-Alagoas, <i>Pauxi mitu</i>	15
1.5. A técnica de microssatélites	18
2. JUSTIFICATIVA	20
3. OBJETIVOS	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1. Obtenção das amostras e extração de DNA	23
4.2. Amplificação dos <i>loci</i> de microssatélites	25
4.3. Visualização dos resultados	26
5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	27
5.1. Análises de variabilidade genética e Equilíbrio de Hardy-Weinberg	27
5.2. Detecção dos híbridos de <i>P. mitu</i> X <i>P. tuberosa</i>	28
5.3. Avaliação do poder da detecção de híbridos	30
5.4. Análises de parentesco	31
5.5. Cálculo de tamanho efetivo (N_e)	32
6. RESULTADOS	34
6.1. Amostragem e amplificação dos <i>loci</i>	34
6.2. Caracterização dos <i>loci</i>	34
6.3. Detecção dos híbridos	35
6.4. Eficiência e acurácia da análise Bayesiana	36
6.5. Variabilidade genética e estatísticas populacionais	37
6.6. <i>Ranking</i> genético e pareamento de casais	40
7. DISCUSSÃO	43
7.1. Detecção de híbridos	43
7.2. Variabilidade genética	44
7.2.1. <i>P. tuberosa</i> em cativeiro x selvagem	46
7.3. <i>Ranking</i> genético	47
7.4. Manejo e monitoramento genético e o futuro da conservação de <i>Pauxi mitu</i>	49
8. CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
ANEXO I. Tabela de identificação das amostras dos indivíduos puros e híbridos coletados nos dois criatórios (CCCPC e Crax BH). Valor q é o valor de atribuição retornado pelo STRUCTURE na última simulação	60
ANEXO II. Tabela com a identificação das amostras de <i>P. tuberosa</i> coletadas no CCCPC e as cedidas pelo MZUSP. Valor q é o valor de atribuição retornado pelo STRUCTURE na última simulação	65
ANEXO III. Pareamento de todas as fêmeas com todos os machos puros de <i>Pauxi mitu</i> de acordo com o Relatedness (r)	66
ANEXO IV. Pareamento de todas as fêmeas com todos os machos puros de <i>Pauxi mitu</i> de acordo com o $1-Ps$	67
ANEXO V. Situação atual dos indivíduos puros de <i>Pauxi mitu</i> identificando com quais híbridos eles estão pareados	68

1. INTRODUÇÃO

1.1. A família Cracidae

A família Cracidae (Aves, Galliformes) compõe um grupo de aves distribuído principalmente na região Neotropical, sendo seus representantes popularmente conhecidos como jacus, mutuns, jacutingas e aracuãs. As espécies menores apresentam o tamanho aproximado de um pequeno faisão, enquanto os maiores representantes podem atingir mais de 3 kg. São predominantemente encontrados no interior de áreas florestais, tendo sua distribuição relatada desde o sul do Texas, EUA, até a Argentina e Uruguai (Brooks & Fuller 2006). Além de serem primariamente frugívoros, agregam em sua dieta uma diversidade de opções em proporções variáveis, como sementes, folhas, flores, cotilédones, insetos e pequenos vertebrados (Yumoto 1999).

Os cracídeos têm sido considerados importantes bioindicadores na tarefa de manejo e criação de Unidades de Conservação (Strahl & Grajal 1991; Brooks & Fuller 2006), uma vez que são altamente sensíveis às ações antrópicas, além de serem facilmente detectáveis em campo. Essa fácil detecção se dá por seu grande porte e por fazerem barulho quando alçam vôo, pousando em árvores logo após um curto deslocamento. Porém, esta característica também torna estas aves fáceis de serem detectadas em campo e abatidas, sendo um dos motivos de serem a principal fonte de proteína para caçadores de subsistência e muitos povos indígenas (Thiollay 1994; Brooks 1999; Thiollay 2005). Somando-se à caça, por serem dependentes de florestas primárias, muitas espécies de cracídeos têm se tornado ameaçadas devido à crescente redução e fragmentação das florestas neotropicais, especialmente aquelas que

apresentam distribuição geográfica limitada ou habitam os ecossistemas mais ameaçados, como a Mata Atlântica (Brooks & Fuller 2006).

Devido a todos esses fatores, esta família é considerada, dentre as aves neotropicais, a mais ameaçada, tendo quase a metade (24) das 50 espécies existentes, além de oito subespécies, classificadas em alguma categoria de ameaça (Brooks & Fuller 2006). O Brasil possui 22 espécies de cracídeos, muitas delas com algumas subespécies. Dos taxa brasileiros, um se encontra Extinto na Natureza (*Pauxi mitu* = *Mitu mitu*), quatro se encontram na categoria Em Perigo (*Aburria jacutinga*, *Penelope superciliaris alagoensis*, *Crax fasciolata pinima* e *C. blumenbachii*) e dois na categoria Vulnerável (*Penelope ochrogaster* e *P. jacucaca*) (Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN, 2011).

1.2. Conservação *Ex Situ* e a perda de variabilidade genética

Com o crescente grau de impactos antrópicos sobre muitas espécies e ecossistemas, a conservação de uma espécie tem se tornado cada vez mais um desafio (Butchart et al. 2010). Mesmo sabendo que a conservação *in situ* seja claramente a mais efetiva, nem sempre uma espécie pode ser conservada em seu habitat natural. Não raramente, o estabelecimento de populações sustentáveis em cativeiro é uma intervenção necessária e que está cada vez mais amplamente difundida (Fischer & Lindenmayer 2000), principalmente quando se trata de espécies cujas populações se encontram drasticamente reduzidas e em habitats não protegidos (Declaração da IUCN sobre a Política de Reprodução em Cativeiro, 1987). Por isto, a reprodução de espécies ameaçadas em cativeiro se tornou uma importante estratégia de conservação, denominada conservação *ex situ* (Primack 1995). Apenas para vertebrados terrestres,

estima-se que entre 2000-3000 espécies necessitarão de reprodução em cativeiro nos próximos 200 anos para não se tornarem extintas (Frankham et al. 2004).

A conservação *ex situ* de espécies animais desempenha importantes funções, dentre elas: (I) a criação de reservatórios genéticos e demográficos para reforçar populações nativas de espécies ameaçadas, (II) o desenvolvimento de estoques que possam fundar novas populações em áreas onde as espécies tenham sido extintas, (III) a garantia de um último reduto para a conservação de espécies que não apresentam condições imediatas para sobreviver na natureza, (IV) a substituição de populações naturais para a realização de estudos biológicos e (V) a produção de indivíduos que possam ser utilizados em programas educacionais sem que haja a necessidade da retirada de espécimes da natureza (Conway 1980; Ralls & Ballou 1986; Frankham 2008). O maior objetivo de programas de reprodução em cativeiro é a preservação da máxima variabilidade genética dentro da espécie (Pelletier et al. 2009). Por isso os fundadores devem ser retirados de diversas populações da espécie e cuidados devem ser tomados para que a população cativa não seja dominada por poucas linhagens genéticas. Porém, isso nem sempre é possível, principalmente nos casos em que apenas poucos indivíduos restaram (Hedrick et al. 1997), fazendo com que o efeito fundador seja geralmente drástico nas populações de cativeiro (Tzika et al. 2009; Leberg and Firmin 2008).

Atualmente, mais de 25 espécies de animais têm sido preservadas em cativeiro após terem sido extintas na natureza, muitas das quais puderam retornar posteriormente a seus habitats naturais através de programas de reintrodução (Wakefield et al. 2002; Wiseley et al. 2003; Frankham et al. 2004; Ralls & Ballou 2004). Como exemplos pode-se citar: o Cavalo-de-Przewalskii (*Equus przewalskii*), o Condor-da-Califórnia

(*Gymnogyps californianus*) e o Furão-de-Pés-Negros (*Mustela nigripes*) (Ralls et al. 2000; Wakefield et al. 2002; Wisely et al. 2003).

Porém, mesmo nos casos de maior sucesso, os mantenedores destes animais se depararam com problemas relacionados à perda de diversidade genética e de heterozigose (Ralls et al. 2000; Wakefield et al. 2002; Wisely et al. 2003), problemas originados pelo pequeno número de fundadores. A diversidade alélica é o que mantém os táxons aptos à adaptação e especiação de acordo com as mudanças ambientais (Templeton et al. 2001). Portanto, a perda de alelos em cativeiro pode gerar problemas futuros para as populações reintroduzidas. Por outro lado, a perda de heterozigose pode acarretar em sérios problemas populacionais devido ao aumento da probabilidade de os indivíduos serem homozigotos para alelos deletérios recessivos. Esta homozigose pode levar à baixa resistência a doenças, baixas taxas de sobrevivência, baixas taxas de crescimento, anomalias fenotípicas, tamanho reduzido dos adultos e baixa fertilidade (Young et al. 1998; Bryant & Reed 1999).

Estes problemas estão diretamente ligados com o número de indivíduos sexualmente ativos na população cativa, ou seja, quanto menor a população mais exposta ela se torna aos efeitos da deriva genética, endocruzamentos e efeitos fundadores (Shaffer, 1987; Lande & Barrowclough, 1987). Sendo assim, o número de indivíduos fundadores e o posterior manejo são os principais fatores determinantes do quanto de variabilidade genética pode ser mantido numa população de cativeiro (Lande & Barrowclough 1987; Frankham et al. 2004; Pelletier et al. 2009).

Um clássico exemplo destes problemas ocorreu com *G. californianus*. Embora atualmente existam mais de 200 indivíduos em quatro populações (uma em cativeiro e mais três reintroduzidas), todos os exemplares são descendentes de apenas 14 dos últimos sobreviventes da natureza, trazidos para o cativeiro em 1987 (Ralls & Ballou,

2004). Estima-se que 53% desses indivíduos sejam portadores de um alelo deletério recessivo responsável pela condrodistrofia, um tipo de nanismo que causa morte dos embriões, cuja frequência foi muito possivelmente aumentada devido ao efeito fundador (Ralls et al. 2000; Ralls & Ballou 2004).

1.3. Monitoramento e manejo genético de populações em cativeiro

O principal objetivo do monitoramento genético de uma espécie é evitar que ocorram endocruzamentos, reduzindo assim os níveis de homozigose. Este feito é alcançado lançando-se mão das informações registradas nos *studbooks* da população, que contêm as genealogias que permitem evitar o cruzamento entre indivíduos aparentados. O problema é que em muitos casos essas informações genealógicas são imprecisas ou mesmo inexistentes (Jones et al. 2002; Frankham et al. 2004).

Nas situações em que as genealogias não são conhecidas, a aplicação das técnicas de genética molecular permite calcular a distância genética entre os espécimes manejados, com o objetivo de direcionar os acasalamentos com indivíduos menos similares geneticamente (Kozfkay et al 2008; Lemay & Boulding 2009; Ruíz-Lopes et al 2009). Junto a isso, esse tipo de análise permite: (i) identificar aqueles indivíduos mais valiosos geneticamente por apresentarem alelos mais raros; (ii) garantir que a diversidade genética esteja representada em todos os criadouros envolvidos; (iii) garantir que a diversidade genética disponível em cativeiro seja inteiramente transferida para a natureza através dos programas de reintrodução; e (iv) identificar os indivíduos menos valiosos geneticamente para serem utilizados em exposição para programas educacionais e outros propósitos com exceção da reprodução (Frankham et al. 2004).

1.4. O Mutum-de-Alagoas, *Pauxi mitu*

Dentro da família Cracidae, o Mutum-de-Alagoas, *P. mitu*, é a espécie que tem maior risco de extinção, além de ser a única já extinta na natureza (Silveira et al. 2004; Bianchi 2006). Esta espécie foi considerada por mais de 300 anos uma subespécie de seu parente amazônico, o Mutum-Cavalo, *P. tuberosa*. A espécie foi ilustrada pela primeira vez pelo naturalista Marcgrave em 1648, que se baseou num exemplar encontrado em cativeiro no Recife. Posteriormente, foi descrita por Linnaeus em 1766, através de observações da ilustração e descrição apuradas de Marcgrave. Mesmo depois de descrita, sua existência ficou duvidosa, e muitos autores alegavam que o espécime da ilustração de Marcgrave não passava de um exemplar de Mutum-Cavalo, enquanto outros alegavam que a espécie nem existiu no Nordeste brasileiro (Silveira et al. 2008). Somente em 1951, com a captura de uma fêmea de *P. mitu*, sua existência foi reconhecida, mas ainda perduravam dúvidas quanto à sua validade. Por fim, no final do século XX, através de análises morfológicas mais detalhadas (Sick 1997; Silveira et al. 2004) e de DNA mitocondrial (Grau et al. 2003) confirmou-se que *P. mitu* era uma espécie plena e distinta. Morfologicamente Silveira e colaboradores (2004) sugeriram quatro características diagnósticas que diferem *P. mitu* de *P. tuberosa*: (1) bico bicolor; (2) região auricular com ausência de cobertura; (3) coloração da ponta da cauda amarelada e pálida [(cor 38 de Smithe (1975)] ao invés de branca e (4) retrizes centrais quase totalmente pretas.

Mesmo não tendo certeza da distribuição exata desta espécie, os registros mostram forte evidência de sua ocorrência no estado de Alagoas, porém, acredita-se que sua área de distribuição estendia-se até Recife, de onde, provavelmente, veio o espécime figurado por Marcgrave em 1648. Os mutuns se caracterizam por seu comportamento

estritamente florestal, habitando matas primárias e, em alguns casos, florestas secundárias em estágio avançado de regeneração (Brooks & Fuller 2006).

Sua área de ocorrência foi drasticamente impactada desde a época da colonização, principalmente devido ao desmatamento para o plantio de cana-de-açúcar. As plantações dominaram quase todas as regiões de baixa altitude da Mata Atlântica nordestina, restando alguns poucos fragmentos intactos de mata nativa. Com o programa Pro-álcool do Governo Federal em 1970 e a pouca preocupação com a conservação dos recursos naturais da região, as áreas de cobertura vegetal nativa de Alagoas e Pernambuco resumiram-se em menos de 2% da área total original. Junto a isso, *P. mitu*, por ser uma ave de grande porte, era muito procurada por caçadores, não fugindo à regra do grupo dos cracídeos (Silveira et al. 2008).

Em 1976 foram iniciadas tentativas para resgatar os últimos exemplares da natureza. Nardelli (1993) descreve seus esforços para o salvamento do último grupo de Mutum-de-Alagoas. Logo em 1976 uma fêmea foi capturada e levada ao cativeiro, morrendo alguns meses depois. P. M. Nardelli conseguiu nos próximos dois anos localizar mais um grupo de seis indivíduos e um ninho ativo, que por sinal, foi o único ninho observado e descrito em área natural. A área de Mata Atlântica de aproximadamente 10.000 ha próxima à cidade de Roteiro/AL, onde essa observação foi feita, foi destruída oito meses depois por uma usina de cana-de-açúcar. Somente em 1979 cinco indivíduos foram capturados próximos a São Miguel da Barra/AL. Nardelli uniu essas cinco aves capturadas e mais uma que recebeu de um cativeiro em Maceió, trazendo todas até seu criadouro no Rio de Janeiro. Uma das aves morreu, restando dois machos e três fêmeas separados em um casal e um trio. O par não se reproduziu e em 1990 havia nas instalações de Nardelli 19 aves, sendo 12 machos e 7 fêmeas, todos

descendentes do trio. Nardelli hibridou os machos excedentes com *P. tuberosa*, com a possibilidade de reverter a situação depois por retrocruzamento (Silveira et al. 2004).

Os híbridos se demonstraram férteis e em 1993 havia 42 indivíduos na Zoobotânica Mario Nardelli, atingindo 44 em 1999. Nesse ano o criadouro foi fechado e as aves destinadas para duas outras instituições: 20 delas (10 machos e 10 fêmeas) foram enviadas para o Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas no município de Poços de Caldas, MG, que pertence ao Sr. Moacyr de Carvalho Dias (no entanto, somente um único par dessas foi considerado puro); as outras 24 (11 machos e 13 fêmeas), das quais havia três machos e quatro fêmeas puros, foram enviadas para a Fundação Crax em Belo Horizonte, MG, a qual é dirigida pelo Sr. Roberto M. A. Azeredo.

No início dos anos 80, alguns exemplares foram observados em alguns fragmentos florestais de Alagoas, tendo a população remanescente sido estimada em menos de 60 indivíduos. O último registro na natureza data do final dos anos 80. Foram realizadas expedições em 2001 com fins de localizar a espécie na natureza nos estados de Alagoas, Pernambuco e Paraíba, porém estas não obtiveram sucesso (Silveira et al. 2004).

Em maio de 2005 as aves totalizavam 115 indivíduos, contudo, apenas 50% delas foram consideradas puras através da análise de caracteres morfológicos (Bianchi, 2006). Depois que a população foi dividida o controle de paternidade não foi realizado, assim, o *pedigree* das duas populações foi perdido. Dessa forma, não se sabe ao certo quantas das aves cativas são geneticamente puras e qual o grau de parentesco entre elas.

Em 2003, com auxílio da metodologia de DNA *fingerprinting* (minissatélites), Grau e colaboradores tentaram estimar qual era a variabilidade genética de 20 indivíduos que apresentavam caracteres morfológicos de *P. mitu*. Três destes indivíduos

amostrados nasceram antes da hibridação (antes de 1990) e com segurança apresentavam material genético puro. Através de análises de similaridade, eles viram que esses indivíduos apresentaram proximidade genética de parentes de primeiro grau, determinando assim uma grande perda de variabilidade genética. Com análises de seqüências do citocromo b e da região controladora do DNA mitocondrial das duas espécies, *P. mitu* e *P. tuberosa*, os autores viram também que outros três indivíduos de *P. mitu* apresentavam seqüências idênticas às de *P. tuberosa*. Pelo fato do DNA mitocondrial ter herança materna, estas aves foram definidas como híbridas, indicando que os caracteres morfológicos não seriam uma forma segura de se identificar a parte da população pura do Mutum-de-Alagoas. Além disso, pode ter havido cruzamentos entre machos de *P. tuberosa* e fêmeas de *P. mitu*, bem como retrocruzamentos, os quais não seriam identificados pela análise com DNA mitocondrial. Portanto, tem-se a necessidade de fazer a separação da população pura através de marcadores moleculares codominantes, como os microssatélites, que vem sendo a técnica mais utilizada e mais confiável para a resolução deste tipo de questão (Pritchard et al. 2000; Jones et al. 2002).

1.5. A técnica de microssatélites

Os microssatélites são repetições simples, de pequenas unidades do genoma, de um a seis pares de bases, organizadas em *tandem*, encontradas em todos os organismos eucariotos analisados até o momento. São amplamente dispersos pelo genoma e são bastante polimórficos em comprimento (número de repetições) e, diferente de alguns outros marcadores moleculares, os microssatélites são de herança codominante, uma vez que os heterozigotos são reconhecidos. A maioria dos *loci* ocorre em regiões não

codificadoras de proteínas e, portanto, provavelmente muitos deles não sofrem seleção (Zane et al. 2002). Tais características, associadas ao grande avanço na área das análises estatísticas específicas para este tipo de marcador, fazem da técnica dos microssatélites uma das ferramentas mais informativa para estudos de genética populacional e para a avaliação dos níveis de parentesco entre os indivíduos (Pritchard et al. 2000; Jones et al. 2002).

A variação dos *loci* de microssatélites é avaliada através da amplificação por PCR utilizando-se *primers* complementares às seqüências únicas flanqueadoras de cada *locus*, seguido de eletroforese. Dado que os *loci* são espécie-específicos, de uma maneira geral, precisam ser isolados para cada espécie que esteja sendo analisada pela primeira vez (Zane et al. 2002).

2. JUSTIFICATIVA

A IUCN (*The World Conservation Union*) recomenda a criação de populações cativas quando o número de indivíduos na natureza é inferior a 1000 (Ralls & Ballou 2004). No entanto, para *P. mitu* esta especificação não foi seguida, de maneira que o grau de afinamento populacional atingido por esta espécie está entre os mais severos conhecidos (três indivíduos fundadores), superando o nível de afinamento atingido por outros animais criticamente ameaçados, que têm, atualmente, sofrido os efeitos da perda da variabilidade genética, como o Condor-da-Califórnia (14 indivíduos fundadores) (Ralls & Ballou 2004) e o Cavalo-de-Przewalskii (12 indivíduos fundadores) (Wakefield et al. 2002).

Mesmo após passadas várias gerações, um programa sistemático de monitoramento genético ainda não foi implementado para *P. mitu*. Atualmente, os primeiros problemas relacionados com a perda de variabilidade genética têm surgido. No ano de 2005 houve o nascimento de indivíduos com anomalias morfológicas (M. C. Dias, pers. com.), o que demonstra a urgência da implantação de um programa de monitoramento genético na espécie. Os esforços deverão ser direcionados para a seleção de uma população reprodutiva pura em que serão acasalados os indivíduos menos similares geneticamente.

A única esperança para a sobrevivência de *P. mitu* se encontra na população mantida em cativeiro, uma vez que esta é uma espécie considerada extinta na natureza. Da mesma forma, a única maneira de se evitar que essa população cativa continue a perder variabilidade genética e heterozigose e sua capacidade de se adaptar às mudanças do ambiente natural, é através do manejo genético (Ralls & Ballou 2004).

O manejo genético é uma das medidas que compõem o Plano de Ação para Conservação do Mutum de Alagoas, documento elaborado sob coordenação do ICMBio (Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade). Os Planos de Ação são elaborados por pesquisadores, criadores e outros envolvidos com o objetivo principal de conservar uma determinada espécie, e são documentos que contêm informações da biologia básica espécie, suas ameaças e ações possíveis para mitigá-las.

3. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- ✓ genotipar todos os indivíduos restantes de *P. mitu*, além de uma população de cativeiro de *P. tuberosa*.
- ✓ identificar os indivíduos híbridos de *P. mitu* x *P. tuberosa*.
- ✓ fazer recomendações sobre os pares a serem acasalados de maneira a se garantir a maior heterozigose possível nas proles.
- ✓ fomentar, com base nos dados gerados, a criação de um *studbook* para *P. mitu*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras e extração de DNA

Os estudos foram realizados em colaboração com os dois atuais mantenedores da população restante de *P. mitu* (Figura 1), o Sr. Moacir de Carvalho Dias, do Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas, MG, e o Sr. Roberto Azeredo, do Criadouro Crax, de Belo Horizonte, MG, os quais forneceram as amostras para extração de DNA. As amostras de *P. tuberosa* (Figura 2) foram obtidas através da população de cativeiro de Poços de Caldas (CCCPC), além de amostras depositadas no Museu de Zoologia da USP (MZUSP).

Foram coletados aproximadamente 10 µl de sangue de cada indivíduo através de punção intravenosa. O sangue foi armazenado em etanol absoluto em tubos de 1,5 ml em freezer (-20 graus). O DNA será obtido de acordo com o protocolo convencional de extração utilizando-se Fenol:Clorofórmio: Álcool isoamílico (Sambrook et al. 1989). Por medida de padronização todas as amostras foram diluídas em solução tampão a 50ng/µl de concentração de DNA. A quantificação foi realizada através do espectrofotômetro de massa NanoVue Plus (GE).



Figura 1. Indivíduo adulto morfologicamente puro de *Pauxi mitu*.



Figura 2. Indivíduo adulto puro de *Pauxi tuberosa*.

4.2. Amplificação dos *loci* de microssatélites

As amplificações dos *loci* de microssatélites foram realizadas em termociclador *Eppendorff Mastercycler Gradient*, programado para uma desnaturação inicial de 94°C (3 minutos) e 35 ciclos de 94°C (30 segundos), temperatura de anelamento específica para cada par de *primers* (30 segundos) e 72°C (30 segundos), seguido de uma extensão final de 72°C (5 minutos). Em cada reação foram utilizados 0,2 mM de dNTPs, tampão de amplificação 1X, 3 mM de MgCl₂, 0,2 µM de cada *primer*, 1 U de *Taq polymerase* e 100 ng de DNA, completando um volume total de 10 µl. Para a amplificação foram utilizados oito *loci* isolados de uma biblioteca genômica parcial de *P. tuberosa* (Sousa et al. em preparação), além de cinco *loci* isolados de *Aburria jacutinga* (Camargo et al. em preparação), os quais estão identificados com o prefixo PAb (Tabela 1).

Tabela 1. *Loci* de microssatélites utilizados para a genotipagem da população de cativeiro de *Pauxi mitu*, com os tipos de repetições (*motifs*), amplitude de tamanho dos alelos, número de alelos e temperaturas de anelamento (T_A). A amplitude e número de alelos foram os encontrados em todos os indivíduos genotipados somente do plantel de *Pauxi mitu*.

Locus	Repetição	Amplitude	N.º de alelos	T_A (°C)
Pauxi1-4	(GATA) ₄ (GGTA) ₉ GGGA(GGTA) ₄	166-190	3	50.4
Pauxi1-13	(CTTT) ₁₃ (CTGT) ₁₀ (CTTT) ₂	210-268	7	58.5
Pauxi1- 37	(AG) ₆	148-180	2	53
Pauxi2- 2	(GATA) ₅ (GACA) ₄ (GATA) ₂	225-237	4	48.2
Pauxi2- 7	(CTGC) ₆	149-153	2	50.4
Pauxi2- 19	(TTCC) ₆ TTTC(TTCC) ₃ TTTC(TTCC) ₃	-		55.8
Pauxi2- 30	(GAAA) ₅	197-205	3	55.8
Pauxi3- 4	(GT) ₆	201-221	5	53
PAb21	(CA) ₁₅	135-153	4	58.5
PAb22	(AG) ₅ G(AG) ₁₀	302-326	6	58.5
PAb36	(GT) ₅ T(GT) ₁₅	452-454	2	46.4
PAb48	(TG) ₁₄	85-91	4	48.2
PAb49 II	(CA) ₂₀	181-205	2	46.4

4.3. Visualização dos resultados

Para a caracterização dos *loci* obtidos, os segmentos amplificados foram analisados em seqüenciador automático ABI 3730 (*Applied Biosystems*) utilizando *primers* marcados com fluorescência (FAM, HEX e NED). Dessa forma, até três *loci* com *primers* marcados com diferentes corantes fluorescentes foram analisados conjuntamente. Estas análises foram realizadas comercialmente no Instituto do Genoma Humano, USP, SP.

5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

5.1. Análises de variabilidade genética e equilíbrio de Hardy-Weinberg

O software MicroChecker 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) foi utilizado para identificar alelos nulos. Este programa constrói genótipos a partir da randomização de alelos observados para cada *locus* dentro da amostra. Em seqüência, os genótipos observados são comparados com a distribuição randômica gerada. Os valores de P são calculados pelo *ranking* das freqüências observadas na distribuição de genótipos randomizados. Um teste de Fisher para probabilidade combinada é então realizado utilizando-se os valores de P para todas as classes de tamanho de homozigotos. O software indicará a presença de alelos nulos se o teste de probabilidade combinada mostrar um excesso significativo de homozigotos e quando isto é distribuído uniformemente em todas as classes de homozigotos.

Os cálculos populacionais de *P. mitu* foram realizados somente com os indivíduos identificados morfologicamente como puros pela análise Bayesiana (Veja Item 6.2). O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi estimado para cada população/espécie comparando-se as heterozigoses observadas (H_O) e esperadas (H_E) e calculando-se o coeficiente de endocruzamento (F_{IS}). A significância das diferenças entre os valores de H_E e H_O foram obtidas através do teste exato implementado no Software GENEPOP (versão 4.0.10, Raymond & Rousset 1995). O F_{IS} foi calculado de acordo com Weir e Cockerham (1984). Para se verificar se os valores de F_{IS} diferem significativamente de zero, foi utilizado o procedimento de randomização do software FSTAT (Goudet 1995). A diversidade genética foi estimada para cada população calculando-se a riqueza alélica (A_r) de EI Mousadik e Petit (1996). O princípio deste

cálculo é estimar o número esperado de alelos através de uma adaptação do índice de rarefação de Hurlbert (1971) de forma a corrigir o problema de tamanho amostral, uma vez que o número de alelos observados é altamente dependente do tamanho da amostra. Para comparação entre espécies e populações presentes neste estudo e na literatura, foram realizados testes estatísticos de Mann-Whitney para os valores de H_E e A_r .

5.2. Detecção dos híbridos de *P. mitu* X *P. tuberosa*

Os caracteres morfológicos diagnósticos das duas espécies (região auricular, bico e cauda) foram fotografados em detalhes para todos os indivíduos analisados, para posterior comparação com os dados genéticos. Além disso, uma tabela contendo a identificação fenotípica de cada indivíduo foi implementada de acordo com suas características anotadas (Anexo.I).

Os três indivíduos de *P. mitu* fundadores da população hoje existente já não se encontram vivos e nenhum material destes foi guardado para extração de DNA. De acordo com os mantenedores da espécie, embora existam descendentes puros, devido à ausência de registros detalhados, estes hoje se encontram misturados entre potenciais híbridos e só podem ser identificados pela morfologia, o que não oferece total garantia de pureza, como demonstrado por Grau e colaboradores (2003) usando marcadores mitocondriais. Isto impede a implementação de métodos de identificação dos híbridos que envolvam a detecção de alelos diagnósticos (alelos que sejam exclusivos de cada uma das espécies puras) (Hänfling et al. 2005).

Por isto, foram utilizados métodos de identificação dos híbridos que levam em consideração o genótipo de cada indivíduo em diversos *loci* e as frequências dos alelos em cada espécie. Dado que existem muitos indivíduos puros de *P. tuberosa* sob posse

dos criadores que colaboram com este projeto, foi possível a caracterização da diversidade e frequências alélicas desta espécie. Posteriormente, foi calculada a probabilidade de cada indivíduo identificado morfologicamente como sendo *P. mitu* de pertencer à população de *P. tuberosa*, demonstrando a proporção do genoma de cada um destes indivíduos que é advinda de *P. tuberosa*. Para isto, foram utilizados *loci* polimórficos de microssatélites para *P. tuberosa* que também amplificaram e foram polimórficos nos indivíduos de *P. mitu*.

O método Bayesiano implementado no software STRUCTURE 2.1 (Pritchard et al. 2000) tem sido o mais utilizado para este propósito. Ele infere sobre o número (K) de conjuntos gênicos, que podem ser traduzidos em populações ou espécies, presentes numa amostra buscando-se por *clusters* que maximizem os níveis de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo cada população caracterizada por um conjunto distinto de frequências alélicas em cada *locus*. Com base nestas frequências alélicas estima-se a probabilidade (q_i) de cada genótipo (indivíduo) pertencer a uma (quando puro) ou mais populações parentais, caracterizando-os como híbridos.

Utilizou-se o modelo que admite ancestralidade múltipla (*admixture model*), onde se assume que cada indivíduo pode ter herdado frações variáveis de seu genoma das K populações, de maneira que quando aplicado a estudos de hibridação, q pode ser também interpretado como a fração de cada uma das espécies parentais que cada indivíduo apresenta em seu genoma (Barilani et al. 2005; Verardi et al. 2006). Foi utilizado também o modelo de frequências alélicas correlacionadas, onde assumimos que as frequências alélicas das populações, no caso espécies, podem ser parecidas devido a um ancestral comum recente, ou por migração ou hibridação. Todas as simulações foram geradas quatro vezes cada uma com 10^5 iterações (MCMC) seguidas de $2 \cdot 10^5$ de *burn-in* (Pritchard et al. 2000). O K, ou número potencial de populações ou

espécies pode variar de acordo com a análise, porém, neste caso que se trabalhou somente com duas espécies e o objetivo foi encontrar os híbridos, em todas as simulações foi estabelecido $K = 2$ (Blum et al. 2010; Jolly et al. 2011).

Vähä e Primmer (2006) testaram o acerto na atribuição dos indivíduos a suas populações e concluíram que quanto maior a quantidade de híbridos presentes na população estudada menor a eficiência em se identificar esses indivíduos. Por isso, foram geradas duas simulações: a primeira (I) foi calculada com os indivíduos que foram identificados como puros de *P. mitu* por caracteres morfológicos junto com os indivíduos de *P. tuberosa*; e a segunda (II) com três grupos identificados: (1) puros de *P.mitu* identificados fenotipicamente; (2) indivíduos de *P. tuberosa* e (3) fenotipicamente híbridos de *P. mitu*. Em ambas as simulações foi utilizada a função PRIOR do STRUCTURE 2.1. Esta função ativa o comando USEPOPINFO que considera o agrupamento pré-determinado dos dados de entrada para calcular as frequências alélicas em cada suposta população gerada na cadeia de Markov. Essa ferramenta é utilizada principalmente quando se tem números pequenos de amostra ou de *loci* (Pritchard et al 2000). Somente na segunda simulação usou-se a marcação dos indivíduos com “flag”. Esta marcação, quando ativada a função POPFLAG, sinaliza ao programa quais os indivíduos que ele deve utilizar para atualizar as frequências alélicas em cada aleatorização. Os indivíduos marcados foram os identificados como puros de *P. mitu* na primeira simulação e também os indivíduos de *P. tuberosa*.

5.3. Avaliação do poder da detecção de híbridos

Para avaliar o poder de detecção de híbridos dos marcadores utilizados, foram simuladas proles híbridas com o software HYBRIDLAB (Nielsen et al. 2001). Um

arquivo populacional foi montado contendo os indivíduos 100% puros de *P. mitu*, encontrados na análise Bayesiana, e os indivíduos de *P. tuberosa*, juntos com as proles geradas de F1, F2 e retro-cruzamentos de F1 (Retro F1 X *P. mitu*) e F2 (Retro F2 X *P. mitu*) com *P. mitu*. Como já informado, os machos excedentes de *P. mitu* foram reproduzidos com fêmeas de *P. tuberosa* e a partir deste ponto, os criadores sempre tentaram colocar híbridos para cruzar com puros de *P. mitu* evitando o retrocruzamento com *P. tuberosa* (Azeredo, pers. com.). Por isso, também foram simuladas a 2ª e 3ª geração de retrocruzamentos, chamadas aqui de Retro RF1 X *P. mitu* e Retro RRF1 X *P. mitu*.

Esses genótipos híbridos foram criados a partir de amostragem randômica de alelos de acordo com sua frequência nas populações parentais (Nielsen et al 2001). Os resultados foram usados para se testar a análise Bayesiana (STRUCTURE 2.1) quanto a sua eficiência. Os parâmetros utilizados na análise de teste foram iguais aos descritos para a Simulação II no tópico 6.2. A eficiência da análise consiste em calcular a proporção de indivíduos sabidamente híbridos corretamente identificados como tal (Vaha & Primmer 2006). Esse cálculo foi feito para cada nível de hibridação, uma vez que se sabe de qual prole cada indivíduo faz parte. Os retrocruzamentos são as proles de maior interesse sabendo-se do histórico de *P. mitu*.

5.4. Análises de parentesco

Para estabelecer a importância genética dos indivíduos foram utilizadas as seguintes métricas moleculares:

- *Mean kinship* (mk) – Esta métrica é bastante utilizada para estabelecer *rankings* de valores de importância genética para os indivíduos de programas de reprodução

(Gonçalves da Silva et al. 2010). Ela é definida como sendo a média dos coeficientes de parentesco (f) de cada indivíduo com todos os outros membros da população, incluindo ele próprio (Ballou & Lacy 1995). Os valores dos coeficientes de parentesco são obtidos das genealogias (*pedigrees*) e refletem a probabilidade de homozigose por descendência (Falconer 1981). No entanto, quando dados moleculares são utilizados, principalmente em situações em que as genealogias são inexistentes ou incompletas, outros estimadores de parentesco devem ser utilizados em substituição aos valores de f (Russello & Amato 2004, Ivy et al. 2009). Aqui, os valores de f foram substituídos pelos valores de máxima verossimilhança das estimativas de *Relatedness* (r) obtidos com o software ML-Relate ;

- $(1 - P_s)$, onde P_s é a proporção de alelos em comum ao longo de todos os *loci* entre um par de indivíduos (Bowcock et al. 1994; Ramirez et al. 2006). Para tal foi utilizada a planilha eletrônica de Park (2001), disponível em <http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/>; e

- heterozigose (MLH), cálculo simples da proporção de *loci* heterozigotos para cada indivíduo (Ruíz-Lopez et al. 2009).

5.5. Cálculo de tamanho efetivo (N_E)

O tamanho efetivo populacional (N_E) foi estimado para o conjunto total de indivíduos e para cada população separadamente, utilizando-se o método baseado em desequilíbrio de ligação (Waples 2006), implementado no Software LDNE, versão 1.3.1. (Waples & Do 2008). O desequilíbrio de ligação entre alelos de dois *loci* é definido como sendo a diferença entre as frequências observadas dos gametas com os alelos dos dois *loci* e a frequência esperada de cada tipo de gameta obtida pela associação randômica dos alelos de acordo com suas frequências na população Um

coeficiente de correlação pode ser obtido entre estas frequências observadas e esperadas (r).

Com isto obtém-se:

$\hat{r}_{\Delta\Delta}$ = correlação de Burrow das frequências alélicas entre *loci*;

\hat{r}^2 = média dos quadrados dos valores de \hat{r}_{Δ} de todos os *loci* em uma replicação;

$\bar{\hat{r}}^2$ = média dos valores de \hat{r}^2 ao longo de todas as replicações;

$E(\hat{r}^2)$, $V(\hat{r}^2)$ = valor esperado e variância de \hat{r}^2 .

É esperado que a média dos quadrados dos valores de correlação das frequências alélicas inter-loci (\hat{r}_{Δ}^2) seja inversamente proporcional a N_E e S , sendo S o tamanho amostral:

$$E(\hat{r}_{\Delta}^2) \approx \frac{2}{3N_E} + \frac{1}{S}$$

Que simplificando (Park 2001):

$$\hat{N}_E = \frac{2}{3(\hat{r}^2 - 1/S)}$$

6. RESULTADOS

6.1. Amostragem e amplificação dos *loci*

Ao todo foram coletadas 151 amostras de sangue, sendo 121 de toda a população cativa de *P. mitu*, 21 indivíduos de *P. tuberosa* da população cativa do criatório de Poços de Caldas e nove amostras de *P. tuberosa* cedidas pelo MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo).

Dos 13 *loci* polimórficos genotipados para *P. tuberosa* somente o Pauxi2-19 apresentou alelos nulos em homozigose em indivíduos de *P. mitu*. Este *locus* foi excluído da análise. Portanto, foram genotipados ao todo 12 *loci* para todas as amostras. Para a leitura dos alelos, devido a problemas na utilização dos fluorocromos NED, os produtos de PCR foram genotipados somente com marcadores FAM e HEX.

6.2. Caracterização dos *loci*

Nas análises preliminares para Desequilíbrio de Ligação (DL) e alelos nulos, somente os indivíduos de *P. tuberosa* foram testados, uma vez que os *loci* foram isolados para esta espécie e, inclusive, não se tinha ainda a certeza de quais indivíduos de *P. mitu* seriam puros. Mesmo entre *P. tuberosa*, não foram considerados na tabela de entrada dos programas os indivíduos cedidos pelo MZUSP. Assim, somente os 21 indivíduos de cativeiro de *P. Tuberosa*, por comporem uma população, são representados nestas análises.

Tabela 2 Cálculo de Desequilíbrio de Ligação para 12 *loci* de microssatélites isolados para *Pauxi tuberosa*. Ajuste de Bonferroni utilizado: 5% = 0.000758; 1% = 0.000152.

<i>Loci</i>	Pauxi1-13	Pauxi1-37	Pauxi 1-4	Pauxi 2-7	Pauxi 2-2	PAb48	Pauxi 3-4	Pauxi2-30	PAb21	PAb22	Pab36
Pauxi1-37	0.10242										
Pauxi 1-4	0.01303	0.00015**									
Pauxi 2-7	0.01030	0.67106	0.01773								
Pauxi 2-2	0.12561	0.49000	0.10409	0.25455							
PAb48	0.21121	0.22030	0.34409	0.04682	0.09318						
Pauxi 3-4	0.04803	0.94955	0.60742	0.11712	0.73485	0.77152					
Pauxi2-30	0.03561	1.00000	0.10015	0.11091	0.68818	0.47742	0.41409				
PAb21	0.18803	0.32242	0.27394	0.11061	0.23348	0.06530	0.84000	0.24727			
PAb22	0.73152	0.16015	0.02136	0.69076	0.03288	0.21015	0.28288	0.48455	0.24061		
Pab36	0.04379	0.63045	0.71258	0.00773	0.67273	0.24152	0.00758	0.37727	0.48727	0.68136	
Pab49II	0.14742	0.14515	0.31955	0.09970	0.34742	0.01212	0.31424	0.03409	0.77758	0.62758	0.15197

** significante a 0,01

Ao se analisar os *loci* par a par na análise de DL (Tabela 2), foi encontrado um valor significativo a 1%, de acordo com a correção de Bonferroni para análises em conjunto. Esse valor é indicativo para os *loci* Pauxi1-37 e Pauxi1-4, portanto o *locus* Pauxi1-37 não foi utilizado para as análises populacionais ou de detecção de híbridos.

Dessa forma, 11 dos 12 *loci* genotipados foram utilizados nas análises Bayesianas de detecção de híbridos e cálculo da diversidade genética das populações/espécies. Foi notado que os *loci* Pauxi1-13, Pauxi2-2 e PAb21 apresentaram alelos não condizentes com sua repetição, mesmo todos os três sendo tetranucleotídeos houve alelos que variaram apenas duas bases.

6.3. Detecção dos Híbridos

Na simulação I foram analisados os 71 indivíduos (58,7%) de *P. mitu* identificados como puros fenotipicamente (Anexo I) e os 30 indivíduos de *P. tuberosa*. O limiar do valor de q_i para se considerar um indivíduo puro nesta simulação foi estabelecido em 0,013, sendo esta a maior proporção do genótipo de *P. mitu* atribuída a um indivíduo de *P. tuberosa*.

Com esse limiar, foram identificados 14 híbridos entre os quais, *a priori*, 71 foram considerados puros por meio dos caracteres morfológicos. Sendo assim, com essa análise obteve-se a atribuição de 57 possíveis puros de *P. mitu*, representando 47,1% de todo o plantel da espécie ($n = 121$) (Figura 3).

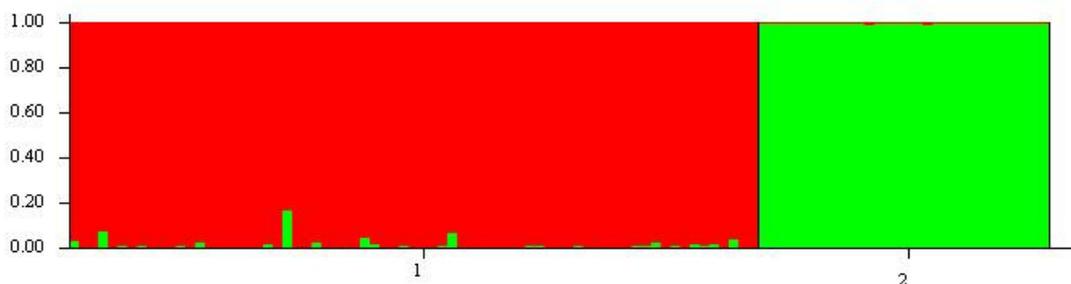


Figura 3. Simulação I com os indivíduos puros fenotipicamente de *Pauxi mitu* (1) e *Pauxi Tuberosa* (2). Cada barra representa um indivíduo.

Na simulação II (Figura 4) foram contabilizados ao todo 55 puros no plantel que correspondem ao limiar estabelecido ($q_i < 0,05$) (ANEXO I), sendo 25 machos e 30 fêmeas. Quanto aos híbridos identificados fenotipicamente, o Software STRUCTURE 2.1 atribuiu todos como híbridos também (Figura 4).

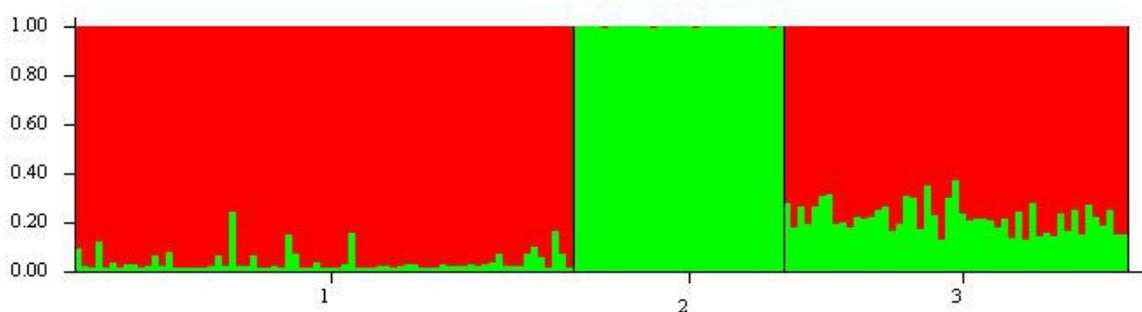


Figura 4. Simulação II com todos os indivíduos de *Pauxi mitu* e *Pauxi tuberosa*. Cada barra representa um indivíduo, sendo divididos em três grupos: (1) fenotipicamente puros de *P.mitu*; (2) indivíduos de *P. tuberosa* e (3) híbridos fenotipicamente.

6.4. Eficiência e acurácia da análise Bayesiana

As gerações simuladas com o Software HYBRIDLAB (Nielsen et al. 2001) foram analisadas com o Software STRUCTURE 2.1 (Pritchard et al 2000), usando a

opção USEPOPINFO. Todos os indivíduos foram atribuídos acertadamente como híbridos, resultando em 100% de eficiência na análise Bayesiana usando os 11 *loci* deste trabalho, inclusive para as simulações de retrocruzamento de 3ª geração (Retro RRF1 X *P. mitu*). Na Figura 5, pode-se observar a atribuição para os parentais e para os indivíduos simulados, cada barra representa um indivíduo.

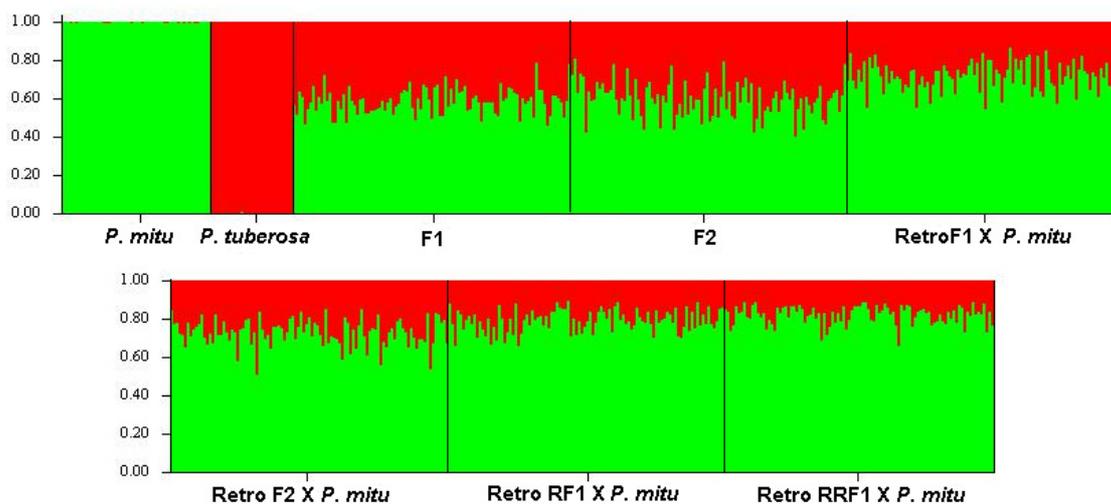


Figura 5 Análise de gerações híbridas entre *Pauxi mitu* e *Pauxi tuberosa* criadas usando o Software HybridLab (Nielsen et al. 2001).

6.5. Variabilidade genética e estatísticas populacionais

Nenhum *loci* apresentou desvio significativo de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e o mesmo aconteceu com os testes globais. A heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O) da população cativa de *P. mitu*, considerando-se somente os indivíduos identificados como puros, foi respectivamente de 0,36 e 0,40. A população cativa de *P. tuberosa*, no entanto, obteve valores maiores, tendo como média 0,56 e 0,57 (Tabela 3). A H_E de *P. mitu* foi significativamente menor do que a população cativa de *P. tuberosa* ($U=25,0$; $p=0,01$) e *Crax globulosa* ($H_E=0,72 \pm 0,04$) ($U=0,0$; $p=0,0005$; seis *loci* em 23 indivíduos) (Hughes & Larson 2000). A riqueza alélica (A_r) corrigida pela menor amostra de nove indivíduos (*P. tuberosa* MZUSP) segundo El Mousadik e Petit (1996)

foi de $2,32 \pm 0,6$ (1,3 – 3,07) para *P. mitu* e de $3,62 \pm 1,8$ (2 a 7,95) para população cativa de *P. tuberosa*.

Por questão de comparação foram calculados os parâmetros populacionais dos nove indivíduos de *P. tuberosa* tombados no MZUSP, considerados como uma população da natureza. A H_E e H_O foi de 0,62 e 0,39, sendo o valor de EHW significativo para déficit de heterozigotos. A riqueza alélica teve média de 5,54 ($\pm 2,7$; 1 - 10), o que diferiu em comparação a população cativa de *P. tuberosa* ($U=42,0$; $p=0,011$). O N_E foi de 11,6 (CI 95%: 5,5 – 34,4).

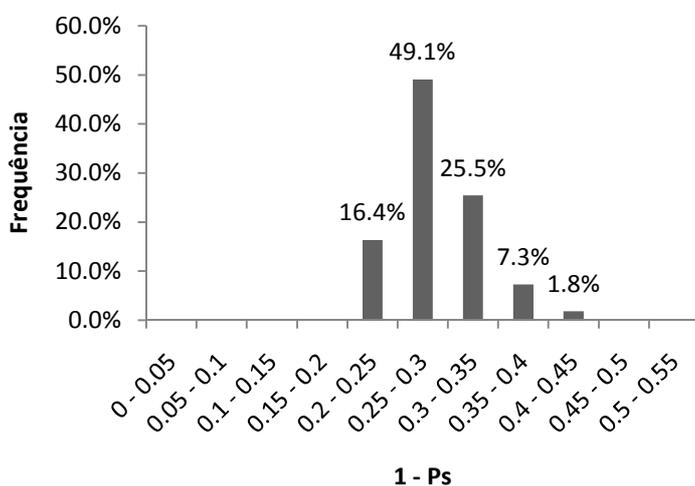
Os valores de A_r para a população de Mutum de Alagoas foi menor em comparação com as populações cativas ($U=29,0$; $p=0,0193$) e da natureza ($U=13,0$; $p=0,0009$) de *P. tuberosa* e, também, para população de cativeiro de *C. globulosa* ($A_r = 5,7$) ($U=0,0$; $p=0,0005$) (Hughes e Larson 2000). As populações efetivas (N_E) de *P. mitu* e *P. tuberosa*, segundo o Software LDNe (Waples & Do 2008), foram respectivamente de 3,8 (CI 95%: 2,6 – 8,5) e 7,7 (CI 95%: 3,8 – 13,4).

Tabela 3 Valores populacionais para os 11 *loci* para as populações de *Pauxi mitu* puro e *Pauxi tuberosa* mantidas em cativeiro. São apresentados os números de alelos e as riquezas alélicas, corrigidas por El Mousadik e Petit (1996), para cada um dos *loci*; a heterozigosidade observada (H_O) e heterozigosidade esperada (H_E); além dos valores de coeficiente de endogamia (F_{IS}). Cada valor é seguido pela média \pm DP. No caso do F_{IS} foi calculado o valor total em análise conjunta para todos os *loci*.

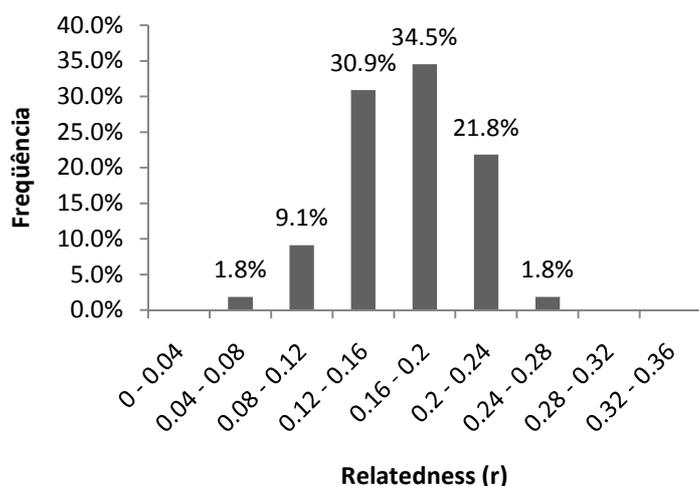
<i>Loci</i>	A		Ar		H_O		H_E		F_{IS}	
	<i>P. mitu</i>	<i>P. tuberosa</i>								
Pauxi1-4	3.00	6.00	2.79	5.32	0.42	0.95	0.41	0.81	-0.016	-0.178
Pauxi1-13	4.00	11.00	3.07	7.95	0.67	0.76	0.58	0.78	-0.17	0.023
Pauxi2- 2	3.00	6.00	2.93	4.50	0.62	0.71	0.51	0.61	-0.225	-0.179
Pauxi2- 7	2.00	3.00	1.96	2.82	0.25	0.62	0.25	0.47	-0.015	-0.32
Pauxi2- 30	4.00	3.00	2.67	2.43	0.55	0.43	0.47	0.49	-0.151	0.122
Pauxi3- 4	3.00	4.00	2.51	3.11	0.38	0.43	0.39	0.58	0.019	0.262
PAb21	2.00	3.00	2.00	2.25	0.45	0.10	0.45	0.18	-0.009	0.477
PAb22	3.00	5.00	2.87	4.48	0.73	0.52	0.58	0.65	-0.25	0.201
Pab36	2.00	3.00	1.87	2.99	0.20	0.67	0.18	0.64	-0.102	-0.041
PAb48	2.00	2.00	1.30	2.00	0.04	0.43	0.04	0.47	-0.009	0.091
Pab49 II	2.00	2.00	1.52	2.00	0.07	0.62	0.07	0.44	-0.029	-0.429
Média / Total	2.73	4.36	2.32	3.62	0.40	0.57	0.36	0.56	-0.116	-0.02
\pm DP	0.79	2.62	0.61	1.82	0.24	0.22	0.19	0.18		

6.6. Ranking genético e pareamento de casais

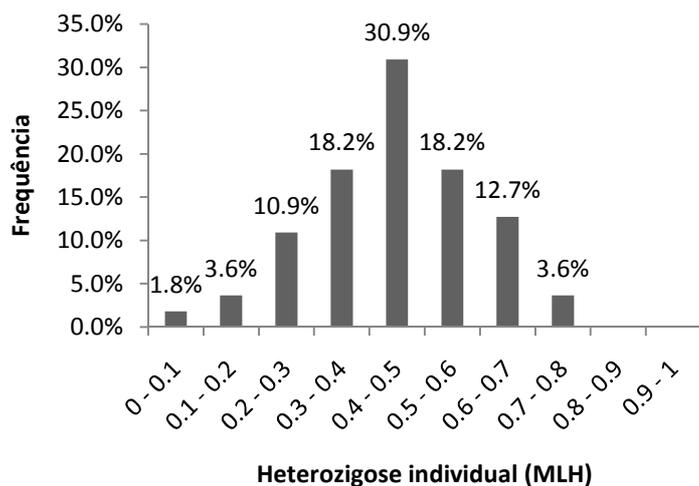
Os valores de $1-P_s$, calculados pela planilha de Parks (2001) estão elencados na Tabela 4, do maior para o menor valor, variando de 0,22 a 0,40, com maior frequência (49,1%) entre 0,25 e 0,30 (Figura 4a). Os valores de r ficaram entre 0,07 a 0,24 com maior frequência (34,5%) entre 0,16 e 0,20 (Figura 4b). O r médio para a população ficou em 0.168. Para os valores de heterozigose (MLH), dois indivíduos (Mitu129 e Mitu158) foram classificados com mais de 70% de heterozigose. No entanto, nas outras duas métricas ambos são classificados bem abaixo na Tabela 4.



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Histograma de frequência de (a) 1-Ps, (b) *Relatedness* (r) e (c) Heterozigose (MLH). Cálculo para os indivíduos da população de *Pauxi mitu* considerados puros.

De forma a facilitar a visualização das métricas 1-Ps e r e auxiliar na escolha dos melhores casais, foram construídas matrizes pareando todas as fêmeas com todos os machos (ANEXO III e ANEXO IV). Foram destacados os casais que já estão formados dentro de cada criatório. Lembrando que estão presentes nas matrizes somente os indivíduos puros. Entre as fêmeas oito delas estão pareadas com machos híbridos e 13 não estão pareadas com nenhum macho fixo. Entre os machos nove estão pareados com fêmeas híbridas e outros seis não têm fêmea fixa (ANEXO V). Ao todo, são nove casais onde ambos os indivíduos são puros, sendo quatro alocados no Criatório Poços de Caldas e os outros cinco no Criatório CRAX.

Utilizando da métrica r , cinco dentre os nove casais já formados não são aparentados, um tem parentesco provável de primos de primeiro grau (0,08), um de meio-irmãos (0,28) e dois de pai-prole ou irmãos legítimos (0,46 e 0,52) (ANEXO IV). Como não há padronização na métrica de 1-Ps, esta classificação realizada para r não pôde ser feita, no entanto, pode-se notar que cinco casais estão abaixo de 0,25 e apenas dois acima de 0,40 (ANEXO III).

Tabela 4. Lista com ranking genético com três diferentes métricas. 1 – Ps (Ramirez et al. 2006); r (relatedness; ML-Relate) e MLH (Ruíz-Lopez et al. 2009).

Ranking	ID	1-Ps	Sexo	ID	Relatedness (r)	Sexo	ID	Heterozigose	Sexo
1º	Mitu164	0.400826446	M	Mitu164	0.074094545	M	Mitu129	0.727272727	F
2º	Mitu35	0.371900826		Mitu39	0.09428	F	Mitu158	0.727272727	F
3º	Mitu118	0.369421488	M	Mitu41	0.098825455	M	Mitu37	0.636363636	M
4º	Mitu45	0.367768595		Mitu160	0.105796364	M	Mitu101	0.636363636	F
5º	Mitu53	0.366942149	M	Mitu166	0.115196364	F	Mitu133	0.636363636	F
6º	Mitu145	0.327272727	M	Mitu57	0.117783636	M	Mitu150	0.636363636	F
7º	Mitu50	0.324793388	M	Mitu154	0.125550909	M	Mitu156	0.636363636	M
8º	Mitu188	0.32231405		Mitu53	0.126929091	M	Mitu164	0.636363636	M
9º	Mitu161	0.320661157	F	Mitu145	0.129047273	M	Mitu167	0.636363636	M
10º	Mitu162	0.320661157	F	Mitu106	0.129916364	M	Mitu29	0.545454545	
11º	Mitu166	0.319834711	F	Mitu122	0.133549091	F	Mitu48	0.545454545	M
12º	Mitu148	0.318181818	M	Mitu37	0.133594545	M	Mitu118	0.545454545	M
13º	Mitu52	0.315702479	F	Mitu45	0.137510909		Mitu124	0.545454545	M
14º	Mitu37	0.314049587	M	Mitu59	0.140450909	F	Mitu148	0.545454545	M
15º	Mitu154	0.312396694	M	Mitu159	0.14124	F	Mitu155	0.545454545	F
16º	Mitu106	0.310743802	M	Mitu29	0.143631481		Mitu161	0.545454545	F
17º	Mitu113	0.308264463	M	Mitu155	0.143821818	F	Mitu162	0.545454545	F
18º	Mitu59	0.301652893	F	Mitu133	0.144154545	F	Mitu166	0.545454545	F
19º	Mitu41	0.3	M	Mitu52	0.145323636	F	Mitu172	0.545454545	M
20º	Mitu153	0.297520661	F	Mitu35	0.148654545		Mitu36	0.454545455	F
21º	Mitu137	0.295867769	F	Mitu101	0.152612727	F	Mitu39	0.454545455	F
22º	Mitu39	0.295041322	F	Mitu50	0.155225455	M	Mitu40	0.454545455	F
23º	Mitu121	0.295041322	F	Mitu153	0.158469091	F	Mitu45	0.454545455	
24º	Mitu122	0.291735537	F	Mitu188	0.162283636		Mitu49	0.454545455	F
25º	Mitu160	0.290082645	M	Mitu148	0.1649	M	Mitu105	0.454545455	F
26º	Mitu30	0.287603306		Mitu118	0.168845455	M	Mitu108	0.454545455	F
27º	Mitu29	0.283471074		Mitu150	0.169750909	F	Mitu113	0.454545455	M
28º	Mitu150	0.282644628	F	Mitu121	0.171841818	F	Mitu119	0.454545455	F
29º	Mitu133	0.279338843	F	Mitu156	0.173390909	M	Mitu120	0.454545455	F
30º	Mitu47	0.278512397		Mitu40	0.174001818	F	Mitu122	0.454545455	F
31º	Mitu101	0.278512397	F	Mitu162	0.175494545	F	Mitu137	0.454545455	F
32º	Mitu155	0.275206612	F	Mitu113	0.178036364	M	Mitu152	0.454545455	F
33º	Mitu105	0.274380165	F	Mitu125	0.178763636	F	Mitu153	0.454545455	F
34º	Mitu114	0.273553719	F	Mitu114	0.178769091	F	Mitu154	0.454545455	M
35º	Mitu125	0.273553719	F	Mitu161	0.179061818	F	Mitu159	0.454545455	F
36º	Mitu40	0.271900826	F	Mitu172	0.179430909	M	Mitu188	0.454545455	
37º	Mitu156	0.261983471	M	Mitu137	0.183185455	F	Mitu30	0.363636364	
38º	Mitu172	0.259504132	M	Mitu124	0.187776364	M	Mitu41	0.363636364	M
39º	Mitu159	0.258677686	F	Mitu48	0.187789091	M	Mitu47	0.363636364	
40º	Mitu158	0.256198347	F	Mitu129	0.190430909	F	Mitu52	0.363636364	F
41º	Mitu167	0.256198347	M	Mitu158	0.190434545	F	Mitu53	0.363636364	M
42º	Mitu57	0.256198347	M	Mitu167	0.190434545	M	Mitu57	0.363636364	M
43º	Mitu129	0.256198347	F	Mitu105	0.20124	F	Mitu104	0.363636364	F
44º	Mitu108	0.253719008	F	Mitu108	0.201287273	F	Mitu121	0.363636364	F
45º	Mitu48	0.250413223	M	Mitu119	0.203534545	F	Mitu160	0.363636364	M
46º	Mitu124	0.250413223	M	Mitu152	0.208765455	F	Mitu184	0.363636364	M
47º	Mitu152	0.242975207	F	Mitu126	0.209225455	M	Mitu33	0.272727273	M
48º	Mitu126	0.239669421	M	Mitu30	0.210036364		Mitu59	0.272727273	F
49º	Mitu104	0.230578512	F	Mitu47	0.219296364		Mitu106	0.272727273	M
50º	Mitu119	0.228099174	F	Mitu184	0.224905455	M	Mitu125	0.272727273	F
51º	Mitu49	0.224793388	F	Mitu104	0.229674545	F	Mitu126	0.272727273	M
52º	Mitu120	0.224793388	F	Mitu36	0.235318182	F	Mitu145	0.272727273	M
53º	Mitu36	0.224793388	F	Mitu49	0.235323636	F	Mitu35	0.181818182	
54º	Mitu184	0.22231405	M	Mitu120	0.235327273	F	Mitu114	0.181818182	F
55º	Mitu33	0.220661157	M	Mitu33	0.245803636	M	Mitu50	0.090909091	M

7. DISCUSSÃO

7.1. Detecção de híbridos

Neste estudo foram identificados os híbridos presentes na população em cativeiro de *P. mitu* utilizando-se microssatélites como marcadores moleculares. Na simulação I, que considerou somente os indivíduos morfologicamente puros de *P. mitu*, foram mostrados alguns indivíduos com proporções variáveis do genótipo de *P. tuberosa*, corroborando os resultados de Grau et al. (2003) de que a identificação morfológica não é totalmente confiável (Blum et al. 2010; Jolly et al. 2011).

A acurácia e a eficiência do método bayesiano de identificação de híbridos estão condicionadas ao valor limite de q_i (Vähä & Primmer 2006). Valores de 0,10 ou menores, têm sido utilizados em estudos mais conservadores, onde se deseja que o mínimo de híbridos sejam erroneamente classificados como puros. Dessa forma, a redução no limite de q_i para 0,05 foi uma decisão bastante conservadora na expectativa que não haja a inclusão de híbridos na população pura selecionada (Barilani et al. 2007). No entanto, não significa que os indivíduos dados como híbridos, mas que apresentam morfologia de puros, não possam ser utilizados no futuro para suplementarem a população pura em casos de emergência (Wakefield et al. 2002), principalmente aqueles cujos valores de q_i estão dentro dos padrões adotados na literatura. Algo a ser notado é que a identificação morfológica foi confiável no apontamento dos híbridos, ou seja, a identificação de uma característica híbrida denota com 100% de acerto a origem híbrida do indivíduo, porém o que pode acontecer é essa característica não ser identificada, aumentando o erro ao reconhecer os puros.

Os 11 *loci* apresentados foram satisfatórios na identificação dos híbridos. O teste realizado no STRUCTURE 2.1 com as gerações criadas pelo HYBRIDLAB (Nielsen et al. 2001) mostrou uma eficiência de 100% nas atribuições para todas as simulações de híbridos. Testes na literatura com oito *loci* se mostraram deficientes na atribuição dos retrocruzamentos em 10% (Barilani et al. 2007). No entanto, com os *loci* utilizados aqui, mesmo na 3ª geração de retrocruzados com *P. mitu* a análise se manteve eficiente em identificá-los.

Vale salientar que mesmo com todos os cuidados tomados é possível que alguns indivíduos classificados como puros sejam descendentes de exemplares híbridos, que após diversas gerações de retrocruzamentos com exemplares puros tenham perdido sinais detectáveis de hibridização (Pritchard et al. 2000; Vähä & Primmer 2006; Barilani et al. 2007).

A população cativa de *P. mitu*, apresentou no geral um alto nível de indivíduos híbridos, como era esperado. Dos 121 indivíduos, 66 (54,6%) podem ser considerados híbridos pelas análises moleculares e morfológicas em conjunto. Considerando-se apenas a população pura, esta passa a ser a ave mais ameaçada de extinção do Brasil, superando a Ararinha Azul, *Cyanopsitta spixii*, em grau de ameaça ($n = 60$ indivíduos).

7.2. Variabilidade genética

Os parâmetros populacionais de variabilidade genética calculados neste trabalho se mostraram preocupantes principalmente quanto aos valores de H_E e A_r . Ambos foram significativamente menores quando comparados com *P. tuberosa* e *C. globulosa* (Hughes e Larson 2000). Valores similares foram calculados para *Canis simensis* para populações selvagens de Web Valley ($n = 9$ indivíduos; $H_E = 0,355$ e $A_r = 2,8$) e Sanetti

($n = 9$ indivíduos; $H_E = 0,201$ e $A_r = 2,0$) (Gotelli et al. 1994). *C. simensis* passou por um gargalo populacional drástico e mantém uma população natural reduzida, sendo considerado um dos canídeos mais ameaçados do mundo (Gotelli et al. 1994).

Witzenberg e Hochkirch (2011) fizeram um trabalho de revisão de todos os trabalhos que utilizaram marcadores moleculares para estudar e auxiliar no manejo de populações cativas. Eles argumentaram que as populações naturais têm um H_E médio de 0,60 e visto que o objetivo de um programa de reprodução em cativeiro é manter 90% dessa diversidade por 100 anos (Frankham et al. 2010), eles sugeriram que em uma população de cativeiro, seria desejável um H_E em torno de 0,54. O valor de H_E calculado aqui (0,36) representaria aproximadamente 60% da H_E de uma população natural. Para que uma população cativa represente e seja capaz de manter a diversidade de uma espécie, autores sugerem números de indivíduos fundadores entre 15 (Witzenberg & Hochkirch 2011), 20 a 30 (Pritchard et al. 2010) e até 100 indivíduos (Lacy 1987), bem diferente da realidade da população cativa de *P. mitu*, onde apenas três indivíduos deram origem a toda população cativa atual. Há alguns relatos (Azeredo, pers. com.) de que uma das fêmeas da trinca de fundadores não tenha de fato se reproduzido, desse modo, os fundadores seriam apenas dois indivíduos. Os dados de variabilidade aqui apresentados corroboram essa hipótese, visto que, entre os puros nenhum dos *loci* apresentou mais de quatro alelos.

Sendo assim, esses fatos demonstram que existe a possibilidade de que os valores diminutos encontrados para H_E e A_r para a população cativa de *P. mitu*, podem ter sido causados pelo efeito fundador drástico (pelo que tudo indica foram apenas dois indivíduos fundadores) (Frankham et al. 2004; Rudnick & Lacy 2008). Além disso, outro fator influenciado pelo número e parentesco dos fundadores é o de tamanho

populacional efetivo (N_E), que apresentou valor de 3,8 indivíduos, próximo do que seria a população fundadora.

7.2.1. *P. tuberosa* em cativeiro x selvagem

Estudos como este podem ser úteis para se comparar a diversidade genética cativa e selvagem (Norton & Ashley 2004; Henry et al 2009). Isto mostra o quanto a população de cativeiro representa da população selvagem. Nesse caso, a população cativa de *P. tuberosa*, comparando as H_E , retém 87% da diversidade genética que supostamente teria a espécie na natureza. Um número próximo do objetivo colocado para os programas de reprodução em cativeiro (90%; veja em: Frankham et al. 2010). Mas visto que o objetivo seria manter 90% mesmo depois de 100 anos de programa, esse dado mostra que um manejo genético adequado nesta população é recomendável, uma vez que esta espécie está sendo mantida em cativeiro por não mais que 30 anos.

Mesmo com o H_E aceitável, não diferindo significativamente, os valores de riqueza alélica entre a população selvagem e cativa diferiram. Provavelmente isso se deve ao baixo número de indivíduos efetivos na população de cativeiro ($N_E = 7,7$ com $N_{amostral}=21$) (Frankham et al. 2004; Witzenberg & Hochkirch 2011), o que mais uma vez reforça a necessidade de se implementar um manejo efetivo nesta população. Mesmo que *P. tuberosa* não se encontra em ameaça de extinção, todos os cracídeos têm passado por uma forte pressão de caça e redução da área de vida (Brooks & Fuller 2006), por isso qualquer espécie deste grupo deve ser resguardada e programas de cativeiro devem ser iniciados ou melhor manejados.

7.3. *Ranking* genético

No *ranking* genético apresentado aqui, os indivíduos ocupam posições diferentes dependendo de cada métrica utilizada. Isso varia devido a natureza de cada uma delas. Para o cálculo de 1-Ps são calculados os valores de cada indivíduo de acordo com a quantidade de alelos não compartilhados com cada um dos outros indivíduos e então é calculada a média desses valores, ou seja, é uma medida direta de distância entre um indivíduo com todos os outros e explicita a quantidade de alelos não compartilhados entre eles (Gonçalves Dias et al. 2009). Assim, na seleção de casais busca-se o maior valor de 1-Ps entre o casal pretendido. No caso do cálculo de r os valores são gerados de acordo com o pareamento de cada possível casal e então é inferido o valor f de um possível descendente dos dois (Kalinowski et al. 2006). Assim como no 1-Ps a média de todas as relações é calculada e é apresentado um valor único que mostra, nesse caso, indiretamente, quais os níveis de parentesco do indivíduo com toda a população. Os melhores casais são os que apresentam os menores valores de r dentre as opções. O MLH, diferente das outras duas, foca-se somente no indivíduo, pois é a proporção simples dos *loci* heterozigotos dentro de um indivíduo. Valores abaixo de 0,50 evidenciam aqueles indivíduos que podem estar sofrendo homozigose deletéria (Pritchard et al. 2004), mas não necessariamente ele é um indivíduo descartável para a população, pois seus alelos podem ser de frequência rara na população cativa.

Como demonstrado, cada métrica apresenta uma interpretação e uma tomada de decisão diferente (Ruíz-Lopez et al 2009). Por isso, aqui é sugerido o uso de todas elas de acordo com a etapa de decisão a ser tomada e o que se pretende. Por exemplo, para selecionar os melhores casais a melhor métrica seria a de 1-Ps, pois ela resguarda a informação direta de distância entre os indivíduos pretendidos. Ela é adequada para o

caso do *P. mitu* a partir do momento que se busca aumentar a heterozigidade populacional, de forma que, reproduzindo indivíduos com a maior parte dos alelos diferentes garante esse aumento pretendido (Ballou 1983; Ballou & Lacy 1995; Ivy et al., 2009).

Normalmente, as métricas 1-Ps e r são complementares e acabam apresentando resultados semelhantes. No entanto, de forma a confirmar a escolha feita por meio do 1-Ps, é sugerido que se verifique o valor de r para o pareamento desejado. Além disso, essa métrica é calculada em substituição ao *mk* (*mean kinship*) o que facilita em situações que existem dados comparáveis e como há uma padronização, diferente do 1-Ps, ela pode ser classificada de acordo com seu valor (por exemplo: 0,25 = meio-irmãos; 0,5 = pai e prole ou irmãos legítimos).

O uso do MLH pode auxiliar no controle neo-natal dos indivíduos que apresentam alto nível de homozigose, que pode ocasionar em aumento da mortalidade (Ralls et al. 1979) e também pode comprometer a reprodução (Fredrickson et al. 2007) e a longevidade (Charpentier et al. 2008). Correlações entre os valores de MLH e componentes da aptidão individual têm sido amplamente relatadas na literatura, incluindo: sobrevivência (Coltman et al. 1998; Coulson et al. 1998), fecundidade (Amos et al. 2001.), resistência a doenças (Coltman et al. 1999; Acevedo-Whitehouse et al. 2003) e sucesso reprodutivo (Slate et al. 2000).

Além dos dados presentes na literatura, dados preliminares com *Aburria jacutinga* (Oliveira Junior, dados não publicados) indicam uma correlação positiva entre número de posturas e sobrevivência do filhote com o nível de MLH da fêmea. Com isso, essa métrica pode ser utilizada pelos mantenedores de forma a identificar problemas fisiológicos nas fêmeas com MLH abaixo de 0,50, que representam 66,7% de todas as fêmeas puras de *P. mitu*. Somente 10 fêmeas entre as puras apresentam MLH

acima de 0,50 que seria o limiar desejável (Taylor et al. 2010; Chapman & Sheldon 2011).

7.4. Manejo e monitoramento genético e o futuro da conservação de *Pauxi mitu*

O uso de ferramentas genéticas para o manejo *ex-situ* desempenha uma grande importância para se alcançar os objetivos da conservação (Russello & Amato 2007; Hedrick & Fredrickson 2008; Bowkett 2009).

Por exemplo, um dado preocupante elucidado aqui é o número de híbridos presentes no plantel (66 indivíduos), sendo 50 identificados morfológicamente e com níveis moleculares acima dos aceitos pela literatura [$qi \leq 0,10$ (Vähä & Primmer 2006; Barilani et al. 2007)]. Por isso, pode parecer que a manutenção de todo o plantel existente se mostra um desperdício, pois somente a manutenção dos híbridos morfológicos resulta em quase a metade dos recursos sendo mal alocados. Este montante poderia ser utilizado para manejar de forma mais efetiva os indivíduos que realmente interessam. No entanto, tendo em vista que esta espécie é talvez a mais ameaçada de extinção que a ciência tem como exemplo no momento, mesmo esses híbridos talvez possam ser úteis no futuro se houver problemas na reprodução desta população indicada como pura, podendo ser utilizados, por exemplo, como amas de crias. Dessa forma, a sugestão dada aqui é que esses indivíduos híbridos morfológicamente sejam mantidos protegidos e utilizados de forma a aumentar a renovação anual dos puros. Com mesma importância, alguns indivíduos podem também ser devidamente esterilizados e utilizados em programas de educação ambiental, tanto em seu local de origem (Estado de Alagoas) como em outros estados brasileiros, sendo distribuídos aos principais Zoológicos.

Outra possibilidade é utilizá-los como teste de reintrodução nas áreas pretendidas, lembrando da importância da esterilização desses indivíduos para evitar a possível reprodução e recontaminação da população pura quando esta for reintroduzida. Vale lembrar também que o motivo de se realizar tais testes é o fato de nem sempre a reintrodução resultar em sucesso, pois esta etapa depende de vários fatores da área escolhida e da própria conscientização da população do entorno (Bernardo et al. 2011a, 2011b).

Mesmo que todos os passos sejam seguidos corretamente no programa de cativeiro de *P. mitu* e que todos os cuidados elencados aqui sejam tomados, a população indicada como pura pode ter problemas em se reproduzir devido à baixa variabilidade genética ou a presença de alelos deletérios (Ralls et al. 2000), como já visto em outras populações. Em vista deste problema futuro, sugere-se que os indivíduos morfologicamente puros, mas que não passaram pelo limiar estabelecido na análise molecular, não devem ser desperdiçados. O ideal é a formação de uma população *step* com indivíduos com valores de *qi* entre 0,05 e 0,10, que pode um dia auxiliar a população de puros. O uso de fundadores híbridos já foi realizado com *Equus ferus przewalskii* (Wakefield et al. 2002) que obteve sucesso em seus programas de reintrodução.

De fato, este trabalho conseguiu satisfatoriamente cumprir seus objetivos de separar os híbridos dos puros com o nível de eficiência desejado. Os dados contidos aqui serão úteis para os mantenedores do plantel manejarem devidamente a população existente, de acordo com as limitações comportamentais de cada indivíduo.. Entretanto, é importante para o manejo de uma população de cativeiro o conhecimento de seu *pedigree* (Ballou & Lacy 1995), por isso também é sugerido aqui a criação de um arquivo de dados dos novos indivíduos nascidos após a coleta deste estudo. Este arquivo

será de grande valia para que quando estes animais estiverem em condições de reprodução eles sejam pareados com indivíduos com baixo nível de parentesco. Essa informação pode ser conseguida pelo valor de r de seus parentais já apresentados.

Um valor que merece atenção é o r médio da população, que foi de 0,168. Isso representa um nível de parentesco equivalente ao de meio-irmãos. Para *Gymnogyps californianus*, o *mean kinship* calculado para a população foi de 0,086 (Ralls & Ballou 2004), o que seria o equivalente a primos de primeiro grau. Esta espécie também teve em seu histórico um efeito fundador drástico, porém o manejo foi feito de forma adequada, conhecendo o *pedigree* completo da população e tomando os devidos cuidados com cruzamentos entre indivíduos aparentados (Ralls et al. 2000). Contudo, a população cativa de *G. californianus* teve 14 fundadores aparentes (Ralls & Ballou 2004), diferente de *P. mitu*, e mesmo com todo o manejo executado corretamente, a população sofreu com a presença do alelo deletério da condrodistrofia (Ralls et al. 2000).

8. CONCLUSÃO

- Com auxílio de marcadores de microssatélites isolados para *P. tuberosa* e *A. jacutinga* todos os indivíduos de *P. mitu* e *P. tuberosa* foram identificados geneticamente;
- A análise Bayesiana utilizando 11 *loci* foi satisfatória em identificar os híbridos presentes no plantel;
- Mesmo com a existência de híbridos, inclusive retrocruzados, a população cativa de *P. mitu* ainda conta com indivíduos puros que devem ser usados prioritariamente para o programa de reprodução *ex situ* da espécie;
- Devido à baixa variabilidade genética encontrada na população de puros e o baixo N_E , sugere-se que uma população *step* com indivíduos que apresentam q_i entre 0,05 e 0,10 de contaminação;
- Tabelas com pareamento das fêmeas com os machos puros foram apresentadas, elas poderão ser utilizadas pelos mantenedores do plantel de forma a selecionar os melhores pares;
- Recomendações foram dadas aos mantenedores e aos interessados sobre como utilizar os dados contidos neste trabalho e um *studbook* da espécie está em elaboração utilizando esses dados.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-WHITEHOUSE K. et al. Disease susceptibility in California sea lions. *Nature*, v. 422, p. 35, 2003.
- AMOS W. et al. The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proceedings of Royal Society of London Biology Science*, v. 268, p. 2021–2027 2001.
- BALLOU, B. Calculating inbreeding coefficients from pedigrees. In: SHONEWALD-COX, C.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, V. C. (eds). *Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations*. Menlo Park (NY): Benjamin/Cummings Publishing Company, 1983. p. 373–401.
- BALLOU J. D.; LACY R. C. Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in pedigreed populations. In: BALLOU J. D.; GILPIN M.; FOOSE T. J. (eds) *Population management for survival & recovery: Analytical methods and strategies in small population conservation*. New York: Columbia University Press, 1995.
- BARILANI, M. et al. Detecting hybridization in wild (*Coturnix c. coturnix*) and domesticated (*Coturnix c. japonica*) quail populations. *Biological Conservation*, v. 126, p. 445-455, 2005.
- BARILANI, M. et al. Detecting introgressive hybridization in rock partridge populations (*Alectoris graeca*) in Greece through Bayesian admixture analyses of multilocus genotypes. *Conservation Genetics*, v. 8, p. 343–354, 2007.
- BERNARDO, C. S. S. et al. Modelling post-release survival of reintroduced Red-billed Curassows *Crax blumenbachii*. *Ibis*, v. 153, p. 562-572, 2011a.
- _____ et al. Using post-release monitoring data to optimize avian reintroduction programs: a 2-year case study from the Brazilian Atlantic Rainforest. *Animal Conservation*, v. 14, p. 676-686, 2011b.
- BIANCHI, C. A. Alagoas Curassow (*Mitu mitu*). In: BROOKS, D.M. (ed.). Conserving Cracids: The most Threatened Family of Birds in the Americas. Houston/TX: Miscellaneous Publications of the Houston Museum of Natural Science, 2006.
- BLUM, M. J. et al. Hybridization between Schoenoplectus sedges across Chesapeake Bay marshes. *Conservation Genetics*, v. 11, p. 1885–1898, 2010.
- BOWCOCK, A. M. et al. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellite. *Nature*, v. 368, p. 455-457, 1994.

BROOKS, D. M. *Pipile* as a protein source to rural hunters and Amerindians. In: BROOKS, D.M.; BEGAZO, A.J.; OLMOS, F. (eds) *Biology and Conservation of the Piping Guans (Pipile)*. Spec. Monogr. Ser. CSG 1. 1999.

_____; Fuller, R. A. Biology and Conservation of Cracids. BROOKS, D.M. (ed.). *Conserving Cracids: The most Threatened Family of Birds in the Americas*. Houston/TX: Miscellaneous Publications of the Houston Museum of Natural Science, 2006.

BRYANT, E.H.; REED, D.H. Fitness decline under relaxed selection in captive populations. *Conservation Biology*, v. 13, p. 665-669, 1999.

BOWKETT, A. E. Recent captive-breeding proposals and the return of the ark concept to global species conservation. *Conservation Biology*, v. 23, p. 773-776, 2009.

BUTCHART S. et al. Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, v. 328, p. 1164-1168, 2010.

COLTMAN D.W.; DON BOWEN W.; WRIGHT, J. M. Birth weight and neonatal survival of harbour seal pups are positively correlated with genetic variation measured by microsatellites. *Proceedings of Royal Society of London Biology Science*, v. 265, p. 803-809, 1998. _____ et al. Parasite-mediated selection against inbred Soay sheep in a free-living, island population. *Evolution*, v. 53: p. 1259-1267, 1999.

CONWAY, W.G. An overview of captive propagation. In: SOULÉ, M. E.; WILCOX, B. A. (eds.) *Conservation Biology: An Evolutionary-Ecological Perspective*. Massachusetts: Sinauer Associates INC, 1980.

COULSON T. N. et al. Microsatellites reveal heterosis in red deer. *Proceedings of Royal Society of London Biology Science*, v. 265, p. 489-495, 1998.

EL MOUSADIK, A.; PETIT, R. J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 92, p. 832-839, 1996.

FALCONER D. S.; MACKAY T. F. C. *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Harlow, Inglaterra: Longman, 1999.

FISCHER, J.; LINDENMAYER, D. B. An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation*, v. 96, p. 1-11, 2000.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 2004.

_____. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, v. 17, p. 325-333, 2008.

_____; BALLOU J. D.; BRISCOE, D. A. *Introduction to conservation genetics*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.

GOUDET, J. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, v. 86, p. 485-486, 1995.

GONCALVES DA SILVA, A.; LALONDE, D. R.; QUSE, V. et al. Genetic approaches refine *ex situ* Lowland Tapir (*Tapirus terrestris*) conservation. *Journal of Heredity*, v. 101, p. 581-590, 2010.

GRAU, E. T. et al. Molecular markers contribute to a breeding programme of the extinct-in-the-wild Alagoas Curassow *Mitu mitu* and confirm the validity of the species. *Bird Conservation International*, v. 13, p. 115-126, 2003.

HÄNFLING, B. et al. A molecular approach to detect hybridization between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius* spp. and *Cyprinus carpio*). *Freshwater Biology*, v. 50, p. 403-417, 2005.

HEDRICK, P. W.; FREDRICKSON, R. J. Captive breeding and the reintroduction of Mexican and red wolves. *Molecular Ecology*, v. 17, p. 344-350, 2008.

_____ et al. Genetic evaluation of the three captive Mexican wolf lineages. *Zoo Biology*, v. 16, p. 47-69, 1997.

HENRY, P. et al. *In situ* population structure and *ex situ* representation of the endangered Amur tiger. *Molecular Ecology*, v. 18, p. 3173-3184, 2009.

HUGHES, C. R.; LARSON, E. D. Characterization of microsatellite *loci* developed for the Wattled Curassow, *Crax globulosa*. *Molecular Ecology*, v. 9, p. 632, 2000.

HURLBERT, S. H. The non concept of species diversity: a critique and alternative parameters. *Ecology*, v. 52p, 577-586, 1971.

IUCN. *IUCN Policy Statement on Captive breeding*. Alpes Suíços: IUCN, 22nd Meeting of the IUCN Council, 1987.

IVY, J. A. et al. Methods and prospects for using molecular data in captive breeding programs: an empirical example using Parma wallabies (*Macropus parma*). *Journal of Heredity*, v. 100, p. 441-454, 2009.

JONES, K. L. et al. Refining the Whooping crane studbook by incorporating microsatellite DNA and leg-banding analyses. *Conservation Biology*, v. 16, p. 789-7999, 2002.

JOLLY, M. T.; MAITLAND, P. S.; GENNER, M. J. Genetic monitoring of two decades of hybridization between allis shad (*Alosa alosa*) and twaite shad (*Alosa fallax*). *Conservation Genetics*, v. 12, p. 1087-1100, 2011.

JIGGINS, C. D.; MALLET, J. Bimodal hybrid zones and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 15, p. 250–255, 2000.

KALINOWSKI S. T.; WAGNER A. P.; TAPER M. L. ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, v. 6, p. 576-579, 2006.

KOZFKAY, C. C.; CAMPBELL, M. R.; HEINDEL, J. A. et al. A genetic evaluation of relatedness for brood stock management of captive, endangered Snake River sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Conservation Genetics*, v. 9, p. 1421–1430, 2008.

LANDE, R.; BARROWCLOUGH, G. Effective population size, genetic variation, and their use in population management. In: SOULÉ, M. E. (ed.) Viabile Populations for Conservation. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.

LEBERG, P. L.; FIRMIN, B. D. Role of inbreeding depression and purging in captive breeding and restoration programmes. *Molecular Ecology*, v. 17, p. 334–343, 2008.

LEMAY, M. A.; BOULDING, E. G. Microsatellite pedigree analysis reveals high variance in reproductive success and reduced genetic diversity in hatchery-spawned northern abalone. *Aquaculture*, v. 295, p. 22–29, 2009.

NARDELLI, P. M. *A preservação do Mutum-de-Alagoas Mitu mitu*. Nilópolis, Rio de Janeiro: Zôo-botânica Mário Nardelli, 1993.

NORTON, J. E.; ASHLEY, M. V. Genetic variability and population differentiation in captive Baird's tapirs (*Tapirus bairdii*). *Zoo Biology*, v. 23, p. 521–531, 2004.

PARK, S. D. E. Trypanotolerance in west african cattle and the population genetic effects of selection. Tese (Doutorado) - Universidade de Dublin, 2001

PELLETIER, F. et al. Value of captive populations for quantitative genetics research. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 24, p. 263–270, 2009.

PRIMACK, R. *A Primer of Conservation Biology*. Sunderland, EUA: Sinauer Associates, 1995. 277 p.

PRITCHARD, J. K.; MATTHEW, S.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, v. 155, p. 945-959, 2000.

_____; BALLOU, J. Captive breeding programs for populations with a small number of founders. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 1, p. 19–22, 1986

_____ et al. Genetic management of Chondrodystrophy in California condors. *Animal Conservation*, v. 3, p. 145-153, 2000.

_____; BALLOU, J. D. Genetic status and management of California Condors. *The Condor*, v. 106, p. 215-228, 2004.

RAMIREZ, O. et al. Genetic assessment of the Iberian wolf *Canis lupus signatus* captive breeding program. *Conservation Genetics*, v. 7, p. 861-878, 2006.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. Genepop, Version 1.2: Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, v. 86, p. 248-249, 1995.

RUDNICK, J. A.; LACY, R. C. The impact of assumptions about founder relationships on the effectiveness of captive breeding strategies. *Conservation Genetics*, v. 9, p. 1439-1450, 2008.

RUIZ-LOPEZ, M. J. et al. Pedigrees and microsatellites among endangered ungulates: what do they tell us? *Molecular Ecology*, v. 18, p. 1352–1364, 2009.

RUSSELLO, M. A.; AMATO, G. *Ex situ* population management in the absence of pedigree information. *Molecular Ecology*, v. 13, p. 2829–2840, 2004.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SHAFFER, M.L. Minimum viable populations: coping with uncertainty. In: SOULÉ, M. E. (ed.). *Viable Populations for Conservation*. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.

SICK, H. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

SILVEIRA, L. F.; OLMOS, F.; LONG, A. J. Taxonomy, history, and status of Alagoas Curassow *Mitu mitu* (Linnaeus, 1766), the world's most threatened cracid. *Ararajuba*, v. 12, p. 43-50, 2004.

SILVEIRA, L. F. et al. A. *Plano de ação para a conservação do Mutum-de-Alagoas*. Brasília-DF: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2008, 48 p.

SLATE, J. et al. Inbreeding depression influences lifetime breeding success in a wild population of red deer (*Cervus elaphus*). *Proceedings of Royal Society of London Biology Science*, v. 267, p. 1657–1662, 2000.

STRAHL, S. D.; GRAJAL, A. Conservation of large avian frugivores and the management of Neotropical protected areas. *Oryx*, v. 25, p. 50-55, 1991.

TEMPLETON, A. R. et al. Disrupting evolutionary processes: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, p. 5426-5432, 2001.

THIOLLAY, J.M. Structure, density and rarity in an Amazonian rainforest bird community. *Journal of Tropical Ecology*, v. 10, p. 449-481, 1994.

_____. Effects of hunting on Guianan forest game birds. *Biodiversity and Conservation*, v. 14, p. 1121-1135, 2005.

TZIKA, A. C. et al. Molecular genetic analysis of a captive-breeding program: the vulnerable endemic Jamaican yellow boa. *Conservation Genetics*, v. 10, p. 69-77, 2009.

VÄHÄ, J.; PRIMMER, C. R. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. *Molecular Ecology*, v. 15, p. 63-72, 2006.

VAN OOSTERHOUT, C. et al. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, v. 4, p. 535-538, 2004.

VERARDI, A.; LUCCHINI, V.; RANDI, E. Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis. *Molecular Ecology*, v. 15, p. 2845-2855, 2006.

WAKEFIELD, S. et al. Status and action plan for the Przewalski's horse (*Equus ferus przewalskii*). In: MOEHLMAN, P. D. (ed.) Status survey and conservation action plan – Equids: Zebras, Asses and Horses. IUCN/SSC Equid Specialist Group, 2002.

WAPLES, R. S. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics*, v. 7, p. 167-184, 2006.

WAPLES, R. S.; DO, C. LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, v. 8, p. 753-756, 2008.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, v. 38, p. 1358-1370, 1984.

WISELY, S. M.; MCDONALD, D. B.; BUSKIRK, S. W. Evaluation of the genetic management of the endangered Black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Zoo Biology*, v. 22, p. 287-298, 2003.

WITZENBERG, K. A.; HOCHKIRCH, A. *Ex situ* conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodiversity Conservation*, v. 20, p. 1843-1861, 2011.

YOUNG, D. L. et al. DNA fingerprint variation and reproductive fitness in the plain pigeon. *Conservation Biology* 12: 225-227 1998.

YUMOTO, T. Seed dispersal by Salvin's Curassow, *Mitu salvini* (Cracidae), in a Tropical forest of Colombia: direct measurements of dispersal distance. *Biotropica*, v. 31, p. 654-660, 1999.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, v. 11, p. 1-16, 2002.



ANEXO I. Tabela de identificação das amostras dos indivíduos puros e híbridos coletados nos dois criatórios (CCCPC e Crax). Valor q_i é o valor de atribuição retornado pelo STRUCTURE na Simulação II.

ID	Anilha / Tombo	Criatório	Sexo	Fenótipo	Recinto	Valor de q		STRUCTURE (5%)	Observações
						Mitu	Tuberosa		
Mitu28	CPC1253	CCCPC		Puro	215	0.903	0.097	Hib	
Mitu29	ZMN0392	CCCPC		Puro	215	0.978	0.022	Puro	
Mitu30	CPC73501	CCCPC		Puro	216	0.979	0.021	Puro	
Mitu31	CPC74001	CCCPC	M	Puro	216	0.873	0.127	Hib	
Mitu32	CPC33399	CCCPC	F	Híbrido	219	0.721	0.279	Hib	
Mitu33	CPC61901	CCCPC	M	Puro	219	0.98	0.02	Puro	
Mitu34	ZMN0492	CCCPC	M	Híbrido	221	0.818	0.182	Hib	
Mitu35	CPC1356	CCCPC		Puro	221	0.963	0.037	Puro	
Mitu36	ZMN0498	CCCPC	F	Puro	223	0.981	0.019	Puro	
Mitu37	ZMN0394	CCCPC	M	Puro	223	0.969	0.031	Puro	
Mitu38	ZMN0292	CCCPC	M	Híbrido	224	0.732	0.268	Hib	
Mitu39	ZMN0795	CCCPC	F	Puro	224	0.967	0.033	Puro	
Mitu40	ZMN0692	CCCPC	F	Puro	225	0.979	0.021	Puro	
Mitu41	CPC1254	CCCPC	M	Puro	225	0.974	0.026	Puro	
Mitu42	CPC33199	CCCPC	M	Puro	228	0.934	0.066	Hib	
Mitu43	CPC33299	CCCPC	F	Híbrido	228	0.805	0.195	Hib	Coxim plantar
Mitu44	CPC73901	CCCPC	F	Híbrido	229				
Mitu45	ZMN0198	CCCPC		Puro	229	0.976	0.024	Puro	
Mitu46	CPC1259	CCCPC	M	Puro	232	0.917	0.083	Hib	
Mitu47	CPC1258	CCCPC		Puro	232	0.982	0.018	Puro	
Mitu48	ZMN0493	CCCPC	M	Puro	235	0.983	0.017	Puro	
Mitu49	ZMN00891	CCCPC	F	Puro	235	0.981	0.019	Puro	
Mitu50	CPC97802	CCCPC	M	Puro	19	0.983	0.017	Puro	Tumor ventro-caudal
Mitu51	CPC100502	CCCPC	F	Híbrido	19	0.735	0.265	Hib	
Mitu52	CCCPC3486	CCCPC	F	Puro	11	0.982	0.018	Puro	

Mitu53	ZMN0295	CCCPC	M	Puro	11	0.974	0.026	Puro	
Mitu54	CPC96302	CCCPC		Híbrido	26	0.69	0.31	Hib	Bico não puro
Mitu55	CPC98402	CCCPC	M	Híbrido	26	0.682	0.318	Hib	Bico não puro
Mitu56	CPC1314	CCCPC	F	Puro	21	0.93	0.07	Hib	
Mitu57	CPC1328	CCCPC	M	Puro	21	0.976	0.024	Puro	
Mitu58	CPC1141	CCCPC		Puro	51	0.757	0.243	Hib	
Mitu59	CPC1311	CCCPC	F	Puro	112	0.973	0.027	Puro	
Mitu60	CPC95702	CCCPC	M	Híbrido	112	0.803	0.197	Hib	
Mitu101	ZMN0792	CRAX-BH	F	Puro	73	0.978	0.022	Puro	
Mitu102	CRAXBRASIL105	CRAX-BH	M	Puro	74	0.933	0.067	Hib	
Mitu103	ZMN0189	CRAX-BH	F	Híbrido	75	0.796	0.204	Hib	
Mitu104	ZMN0397	CRAX-BH	F	Puro	36	0.983	0.017	Puro	
Mitu105	ZMN0390	CRAX-BH	F	Puro	35	0.984	0.016	Puro	
Mitu106	IBDF19858302	CRAX-BH	M	Puro	34	0.978	0.022	Puro	
Mitu107	ZMN0297	CRAX-BH	F	Híbrido	33	0.818	0.182	Hib	
Mitu108	ZMN0494	CRAX-BH	F	Puro	32	0.982	0.018	Puro	
Mitu109	CRAXBRASIL472	CRAX-BH	F	Híbrido	31	0.774	0.226	Hib	
Mitu110	CRAXBRASIL455	CRAX-BH	M	Híbrido	31	0.785	0.215	Hib	
Mitu111	CRAXBRASIL454	CRAX-BH	M	Puro	30	0.844	0.156	Hib	
Mitu112	IBDF198584001	CRAX-BH	M	Puro	29	0.927	0.073	Hib	
Mitu113	CRAXBRASIL465	CRAX-BH	M	Puro	26	0.982	0.018	Puro	
Mitu114	CRAXBRASIL116	CRAX-BH	F	Puro	26	0.983	0.017	Puro	
Mitu115	provisória17	CRAX-BH	M	Híbrido	25	0.778	0.222	Hib	
Mitu116	CRAXBRASIL470	CRAX-BH	M	Híbrido	24	0.745	0.255	Hib	Fímbrias brancas
Mitu117	CRAXBRASIL110	CRAX-BH	M	Híbrido	23	0.73	0.27	Hib	
Mitu118	CRAXBRASIL106	CRAX-BH	M	Puro	22	0.963	0.037	Puro	
Mitu119	CRAXBRASIL0010	CRAX-BH	F	Puro	21	0.982	0.018	Puro	
Mitu120	ZMN0389	CRAX-BH	F	Puro	20	0.981	0.019	Puro	Saco com penas
Mitu121	ZMN0398	CRAX-BH	F	Puro	19	0.983	0.017	Puro	

Mitu122	provisória2 (azul)	CRAX-BH	F	Puro	18	0.97	0.03	Puro	
Mitu123	provisória 22 (vermelha)	CRAX-BH	M	Puro	17	0.839	0.161	Hib	
Mitu124	IBDF498584002	CRAX-BH	M	Puro	16	0.983	0.017	Puro	Provável natureza
Mitu125	CRAXBRASIL113	CRAX-BH	F	Puro	15	0.981	0.019	Puro	Penas marrons no pescoço
Mitu126	CRAXBRASIL456	CRAX-BH	M	Puro	15	0.981	0.019	Puro	
Mitu127	CRAXBRASIL457	CRAX-BH	F	Híbrido	55C	0.835	0.165	Hib	
Mitu128	provisória15 (vermelha)	CRAX-BH	M	Híbrido	55C	0.803	0.197	Hib	
Mitu129	CRAXBRASIL487	CRAX-BH	F	Puro	54C	0.974	0.026	Puro	
Mitu130	CRAXBRASIL0309	CRAX-BH	M	Híbrido	54C	0.686	0.314	Hib	
Mitu131	provisória16 (azul)	CRAX-BH	F	Híbrido	51C	0.695	0.305	Hib	
Mitu132	CRAXBRASIL0315	CRAX-BH	M	Híbrido	51C	0.823	0.177	Hib	
Mitu133	CRAXBRASIL452	CRAX-BH	F	Puro	48C	0.977	0.023	Puro	
Mitu134	CRAXBRASIL0336	CRAX-BH	F	Híbrido	48C	0.645	0.355	Hib	
Mitu135	provisória25 (vermelha)	CRAX-BH	F	Híbrido	47C	0.768	0.232	Hib	
Mitu136	provisória08 (vermelha)	CRAX-BH	M	Híbrido	47C	0.866	0.134	Hib	
Mitu137	CRAXBRASIL554	CRAX-BH	F	Puro	46C	0.981	0.019	Puro	
Mitu138	CRAXBRASIL556	CRAX-BH	M	Híbrido	46C	0.694	0.306	Hib	
Mitu139	provisória19 (vermelha)	CRAX-BH	F	Híbrido	41C	0.628	0.372	Hib	
Mitu140	provisória1 (verde)	CRAX-BH	F	Híbrido	41C	0.758	0.242	Hib	
Mitu141	CRAXBRASIL473	CRAX-BH	M	Híbrido	30C	0.791	0.209	Hib	
Mitu142	CRAXBRASIL466	CRAX-BH	F	Híbrido	30C	0.78	0.22	Hib	
Mitu143	CRAXBRASIL451	CRAX-BH	M	Híbrido	29C	0.779	0.221	Hib	
Mitu144	provisória7 (verde)	CRAX-BH	F	Híbrido	29C	0.79	0.21	Hib	
Mitu145	provisória23 (verde)	CRAX-BH	M	Puro	28C	0.978	0.022	Puro	
Mitu146	326	CRAX-BH	M	Híbrido	28C	0.821	0.179	Hib	
Mitu147	CRAXBRASIL479	CRAX-BH	F	Híbrido	27C	0.784	0.216	Hib	
Mitu148	CRAXBRASIL480	CRAX-BH	M	Puro	27C	0.971	0.029	Puro	
Mitu149	CRAXBRASIL477	CRAX-BH	F	Híbrido	27C	0.86	0.14	Hib	
Mitu150	CRAXBRASIL560	CRAX-BH	F	Puro	24C	0.97	0.03	Puro	

Mitu151	provisória6 (vermelha)	CRAX-BH	M	Híbrido	24C	0.755	0.245	Hib	
Mitu152	CRAXBRASIL494	CRAX-BH	F	Puro	23C	0.983	0.017	Puro	
Mitu153	provisória8 (azul)	CRAX-BH	F	Puro	23C	0.983	0.017	Puro	
Mitu154	CRAXBRASIL505	CRAX-BH	M	Puro	22C	0.98	0.02	Puro	
Mitu155	CRAXBRASIL489	CRAX-BH	F	Puro	22C	0.969	0.031	Puro	
Mitu156	provisória17 (azul)	CRAX-BH	M	Puro	21C	0.977	0.023	Puro	
Mitu157	CRAXBRASIL491	CRAX-BH	F	Híbrido	21C	0.869	0.131	Hib	
Mitu158	CRAXBRASIL553	CRAX-BH	F	Puro	16C	0.974	0.026	Puro	
Mitu159	CRAXBRASIL498	CRAX-BH	F	Puro	16C	0.978	0.022	Puro	
Mitu160	CRAXBRASIL0320	CRAX-BH	M	Puro	14C	0.971	0.029	Puro	
Mitu161	provisória17 (vermelha)	CRAX-BH	F	Puro	14C	0.977	0.023	Puro	
Mitu162	provisória15 (azul)	CRAX-BH	F	Puro	13C	0.971	0.029	Puro	
Mitu163	provisória22 (azul)	CRAX-BH	F	Híbrido	13C	0.721	0.279	Hib	
Mitu164	CRAXBRASIL0317	CRAX-BH	M	Puro	12C	0.958	0.042	Puro	
Mitu165	CRAXBRASIL117	CRAX-BH	F	Puro	12C	0.925	0.075	Hib	
Mitu166	provisória18 (azul)	CRAX-BH	F	Puro	11C	0.973	0.027	Puro	
Mitu167	provisória (verde)	CRAX-BH	M	Puro	11C	0.972	0.028	Puro	N. anilha apagado
Mitu168	CRAXBRASIL101	CRAX-BH	M	Híbrido	10C	0.854	0.146	Hib	
Mitu169	CRAXBRASIL102	CRAX-BH	F	Híbrido	10C	0.841	0.159	Hib	
Mitu170	CRAXBRASIL0105	CRAX-BH	M	Híbrido	9C	0.853	0.147	Hib	
Mitu171	CRAXBRASIL0102	CRAX-BH	F	Híbrido	9C	0.763	0.237	Hib	Fímbrias brancas
Mitu172	CRAXBRASIL104	CRAX-BH	M	Puro	8C	0.978	0.022	Puro	
Mitu173	CRAXBRASIL0011	CRAX-BH	F	Puro	8C	0.926	0.074	Hib	
Mitu174	CRAXBRASIL0013	CRAX-BH	F	Híbrido	7C	0.83	0.17	Hib	
Mitu175	ZMN0291	CRAX-BH	M	Híbrido	7C	0.749	0.251	Hib	
Mitu176	CRAXBRASIL9904	CRAX-BH	F	Híbrido	6C	0.846	0.154	Hib	
Mitu177	CRAXBRASIL0008	CRAX-BH	M	Híbrido	6C	0.727	0.273	Hib	
Mitu178	CRAXBRASIL0103	CRAX-BH	M	Puro	5C	0.895	0.105	Hib	Catarata olho esquerdo
Mitu179	CRAXBRASIL0015	CRAX-BH	F	Puro	5C	0.941	0.059	Hib	

Mitu180	provisória13 (azul)	CRAX-BH	F	Híbrido	4C	0.778	0.222	Hib	
Mitu181	CRAXBRASIL0009	CRAX-BH	F	Híbrido	4C	0.812	0.188	Hib	
Mitu182	CRAXBRASIL103	CRAX-BH	F	Híbrido	3C	0.749	0.251	Hib	
Mitu183	CRAXBRASIL0001	CRAX-BH	M	Híbrido	3C	0.845	0.155	Hib	Bico igual mutum-cavalo
Mitu184	CRAXBRASIL496	CRAX-BH	M	Puro	2C	0.984	0.016	Puro	
Mitu185	CRAXBRASIL492	CRAX-BH	F	Puro	2C	0.831	0.169	Hib	
Mitu186	CRAXBRASIL0104	CRAX-BH	M	Híbrido	1C	0.849	0.151	Hib	Fímbrias brancas
Mitu187	CRAXBRASIL9902	CRAX-BH	F	Puro	1C	0.925	0.075	Hib	
Mitu188	provisória1 (amarelo)	CRAX-BH	M	Puro	#	0.979	0.021	Puro	Filhote (4-5 meses)

ANEXO II. Tabela com a identificação das amostras de *P. tuberosa* coletadas no CCCPC e as cedidas pelo MZUSP. Valor q é o valor de atribuição retornado pelo STRUCTURE na última simulação. Valor de q_i referente à Simulação II.

ID	Anilha (Tombo)	Criatório	Recinto	Valor de q	
				Mitu	Tuberosa
Tub198	ZMN 0294	CCCPC	138	0	1
Tub199	CCCPC 2922	CCCPC	138	0	1
Tub200	CCCPC 2656	CCCPC	136	0	1
Tub201	CCCPC 2658	CCCPC	136	0	1
Tub202	ZMN 0494	CCCPC	133	0.001	0.999
Tub203	ZMN 0195	CCCPC	133	0	1
Tub204	CCCPC 2647	CCCPC	125	0	1
Tub205	CCCPC 2655	CCCPC	125	0	1
Tub206	CCCPC 130	CCCPC	123	0	1
Tub207	CCCPC 131	CCCPC	123	0	1
Tub208	CCCPC 737	CCCPC	121	0	1
Tub209	CPC 1197	CCCPC	121	0.001	0.999
Tub210	CPC 1276	CCCPC	118	0	1
Tub211	CPC 1277	CCCPC	118	0	1
Tub212	CPC 1188	CCCPC	114	0	1
Tub213	CPC 1192	CCCPC	114	0	1
Tub214	CPC 751	CCCPC	112	0	1
Tub215	CPC 150	CCCPC	112	0.001	0.999
Tub219	188041	CCCPC	131	0	1
Tub220	MICROCHIP	CCCPC	131	0	1
Tub222	CCCPC 1168	CCCPC	102	0	1
Tub244	TOMBO 79216 (07)	MZUSP 7		0	1
Tub245	TOMBO 245 (08)	MZUSP 8		0	1
Tub246	TOMBO 168 (09)	MZUSP 9		0	1
Tub247	TOMBO 81980 (11)	MZUSP 11		0	1
Tub263		MZUSP 10		0	1
Tub264		MZUSP 12		0	1
Tub265		MZUSP 13		0	1
Tub266		MZUSP 14		0.001	0.999
Tub267		MZUSP 15		0	1

ANEXO III. Pareamento de todas as fêmeas com todos os machos puros de *Pauxi mitu* de acordo com o Relatedness (*r*).

			M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M			
			CPC61901	CPC1356	ZMN0394	CPC1254	ZMN0198	ZMN0493	CPC97802	ZMN0295	CPC1328	IBDF19858302	ZMN0494	CRAXBRASIL465	CRAXBRASIL106	IBDF498584002	CRAXBRASIL456	provisória23 (verde)	CRAXBRASIL480	CRAXBRASIL505	provisória17 (azul)	CRAXBRASIL0320	CRAXBRASIL0317	provisória (verde)	CRAXBRASIL104	CRAXBRASIL496	provisória1 (amarelo)
			33	35	37	41	45	48	50	53	57	106	108	113	118	124	126	145	148	154	156	160	164	167	172	184	188
ZMN0392	F	29	0.17	0.07	0.15	0.00	0.05	0.00	0.50	0.00	0.00	0.20	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.29	0.06	0.07	0.00	0.16	0.00	0.00	0.77	0.00	0.23
CPC73501	F	30	0.20	0.07	0.35	0.07	0.26	0.00	0.11	0.17	0.27	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
ZMN0498	F	36	0.72	0.38	0.03	0.00	0.25	0.01	0.02	0.02	0.13	0.00	0.74	0.00	0.00	0.01	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.41	0.34	0.00
ZMN0795	F	39	0.10	0.00	0.19	0.38	0.00	0.03	0.00	0.00	0.34	0.16	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.20	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	0.35	0.00
ZMN0692	F	40	0.37	0.00	0.22	0.46	0.00	0.12	0.09	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.43	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.50	0.42	0.12
CPC1258	F	47	0.17	0.29	0.37	0.00	0.24	0.29	0.50	0.28	0.23	0.00	0.54	0.00	0.00	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.51	0.00	0.00
ZMN00891	F	49	0.72	0.38	0.03	0.00	0.25	0.01	0.02	0.02	0.13	0.00	0.74	0.00	0.00	0.01	0.50	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.41	0.34	0.00
CCCPC3486	F	52	0.00	0.00	0.00	0.16	0.28	0.48	0.00	0.00	0.61	0.23	0.50	0.23	0.00	0.48	0.50	0.00	0.11	0.34	0.25	0.00	0.00	0.25	0.04	0.46	0.06
CPC1311	F	59	0.09	0.19	0.61	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.61	0.07	0.32	0.19	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
ZMN0792	F	101	0.00	0.00	0.32	0.15	0.22	0.30	0.00	0.09	0.14	0.49	0.15	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00
ZMN0397	F	104	0.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.21	0.00	0.00	0.00	0.61	0.00	0.00	0.21	0.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.57	0.00
ZMN0390	F	105	0.00	0.00	0.00	0.10	0.18	0.65	0.00	0.00	0.00	0.00	0.52	0.26	0.00	0.65	0.50	0.00	0.00	0.41	0.26	0.00	0.00	0.06	0.00	0.61	0.00
CRAXBRASIL116	F	114	0.19	0.00	0.07	0.50	0.00	0.00	0.30	0.11	0.18	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.09	0.00	0.36	0.03	0.00	0.00	0.50	0.00
CRAXBRASIL0010	F	119	0.73	0.36	0.00	0.00	0.17	0.43	0.04	0.05	0.00	0.35	0.30	0.04	0.00	0.43	0.50	0.00	0.00	0.10	0.02	0.10	0.00	0.04	0.43	0.37	0.00
ZMN0389	F	120	0.72	0.38	0.03	0.00	0.25	0.01	0.02	0.02	0.13	0.00	0.74	0.00	0.00	0.01	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.41	0.34	0.00
ZMN0398	F	121	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00	0.53	0.04	0.49	0.41	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.53	0.50	0.50
provisória2 (azul)	F	122	0.09	0.13	0.38	0.27	0.00	0.00	0.18	0.04	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	0.00	0.50	0.26	0.00	0.00	0.09	0.00
CRAXBRASIL113	F	125	0.50	0.00	0.18	0.57	0.00	0.08	0.16	0.16	0.00	0.26	0.00	0.00	0.00	0.08	0.28	0.00	0.00	0.12	0.00	0.21	0.03	0.00	0.07	0.54	0.00
CRAXBRASIL487	F	129	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.52	0.53	0.11	0.04	0.00	0.48	0.00	0.83	0.00	0.20	0.89	0.00	0.00	0.33
CRAXBRASIL452	F	133	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.43	0.14	0.68	0.07	0.00	0.06	0.39	0.00	0.15	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.06
CRAXBRASIL554	F	137	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.12	0.00	0.02	0.54	0.50	0.15	0.00	0.18	0.01	0.01	0.50	0.37	0.37	0.36	0.00	0.00	0.65
CRAXBRASIL560	F	150	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	0.58	0.00	0.00	0.27	0.50	0.00	0.52	0.01	0.06	0.56	0.00	0.00	0.17
CRAXBRASIL494	F	152	0.44	0.15	0.13	0.24	0.00	0.82	0.50	0.30	0.00	0.39	0.37	0.00	0.00	0.82	0.50	0.00	0.00	0.55	0.06	0.00	0.00	0.00	0.44	0.80	0.00
provisória8 (azul)	F	153	0.00	0.00	0.00	0.17	0.42	0.64	0.13	0.00	0.00	0.58	0.15	0.00	0.00	0.64	0.21	0.00	0.00	0.56	0.10	0.00	0.01	0.00	0.00	0.15	0.04
CRAXBRASIL489	F	155	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.14	0.50	0.00	0.00	0.37	0.56	0.00	0.36	0.22	0.06	0.37	0.00	0.00	0.00
CRAXBRASIL553	F	158	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.52	0.53	0.11	0.04	0.00	0.48	0.00	0.83	0.00	0.20	0.89	0.00	0.00	0.33
CRAXBRASIL498	F	159	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.50	0.00	0.00	0.62	0.64	0.00	0.28	0.37	0.00	0.02	0.00	0.12	0.42
provisória17 (vermelha)	F	161	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.50	0.50	0.11	0.00	0.00	0.00	0.11	0.28	0.08	0.14	0.50	0.00	0.00	0.50
provisória15 (azul)	F	162	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.54	0.62	0.00	0.00	0.32	0.42	0.00	0.38	0.17	0.08	0.41	0.00	0.00	0.54
provisória18 (azul)	F	166	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.27	0.06	0.00	0.00	0.34	0.00	0.83	0.00	0.33	0.52	0.00	0.19	0.00

ANEXO V. Situação atual dos indivíduos puros de *Pauxi mitu* identificando com quais híbridos eles estão pareados.

	ID	Espécie	Anilha	Sexo	Par	Anilha do par	ID	Espécie	Anilha	Sexo	Par	Anilha do par
CCCCPC	29	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0392	F	28 híbr	CPC1253	33	<i>Pauxi mitu</i>	CPC61901	M	32 híbr	CPC33399
	30	<i>Pauxi mitu</i>	CPC73501	F	31 híbr	CPC74001	35	<i>Pauxi mitu</i>	CPC1356	M	sem fêmea	
	36	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0498	F			37	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0394	M		
	39	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0795	F	38 híbr	ZMN0292	41	<i>Pauxi mitu</i>	CPC1254	M		
	40	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0692	F			45	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0198	M	44 híbr	CPC73901
	47	<i>Pauxi mitu</i>	CPC1258	F	46 híbr	CPC1259	48	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0493	M		
	49	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN00891	F			50	<i>Pauxi mitu</i>	CPC97802	M	51 híbr	CPC100502
	52	<i>Pauxi mitu</i>	CCCCPC3486	F			53	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0295	M		
	59	<i>Pauxi mitu</i>	CPC1311	F	60 híbr	CPC95702	57	<i>Pauxi mitu</i>	CPC1328	M	56 híbr	CPC1314
FUNDAÇÃO CRAX	101	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0792	F	sem macho		106	<i>Pauxi mitu</i>	IBDF19858302	M	sem fêmea	
	104	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0397	F	sem macho		108	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0494	M	sem fêmea	
	105	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0390	F	sem macho		113	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL465	M		
	114	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL116	F			118	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL106	M	sem fêmea	
	119	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL0010	F	sem macho		124	<i>Pauxi mitu</i>	IBDF498584002	M	sem fêmea	
	120	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0389	F	sem macho		126	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL456	M		
	121	<i>Pauxi mitu</i>	ZMN0398	F	sem macho		145	<i>Pauxi mitu</i>	provisória23 (verde)	M	146 híbr	CRAXBRASIL326
	122	<i>Pauxi mitu</i>	provisória2 (azul)	F	sem macho		148	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL480	M	147/149 híbs	CRAXBRASIL479/CRAXBRASIL477
	125	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL113	F			154	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL505	M		
	129	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL487	F	130 híb	CRAXBRASIL0309	156	<i>Pauxi mitu</i>	provisória17 (azul)	M	157 híb	CRAXBRASIL491
	133	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL452	F	sem macho		160	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL0320	M		
	137	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL554	F	138 híb	CRAXBRASIL556	167	<i>Pauxi mitu</i>	provisória (verde)	M		
	150	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL560	F	151 híb	provisória6 (vermelha)	172	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL104	M	173 híb	CRAXBRASIL0011
	152	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL494	F	sem macho		184	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL496	M	185 híb	CRAXBRASIL492
	153	<i>Pauxi mitu</i>	provisória8 (azul)	F	sem macho		188	<i>Pauxi mitu</i>	provisória1 (amarelo)	M	Juvenil	
	155	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL489	F								
	158	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL553	F	sem macho							
	159	<i>Pauxi mitu</i>	CRAXBRASIL498	F	sem macho							
	161	<i>Pauxi mitu</i>	provisória17 (vermelha)	F								
	162	<i>Pauxi mitu</i>	provisória15 (azul)	F	sem macho							
166	<i>Pauxi mitu</i>	provisória18 (azul)	F									