

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

NATASHA MARCILI LAGANARO

ANÁLISE DE VARIABILIDADE GENÉTICA DO MUTUM-DE-PENACHO
(*Crax fasciolata*) (AVES, CRACIDAE)

Sorocaba – SP
Abril de 2013

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

NATASHA MARCILI LAGANARO

ANÁLISE DE VARIABILIDADE GENÉTICA DO MUTUM-DE-PENACHO
(*Crax fasciolata*) (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.

Orientador: Prof. Dr. Mercival Roberto
Francisco

Sorocaba – SP
Abril de 2013

Laganaro, Natasha Marcili

L172a Análise de variabilidade genética do mutum-de-penacho (*Crax Fasciolata*) (Aves, Cracidae)./ Natasha Marcili Laganaro. – – Sorocaba, 2013.

91 f. ; il. (color.) ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, *Campus* Sorocaba, 2013

Orientador: Mercival Roberto Francisco

Banca examinadora: Luís Fábio Silveira, Karina Martins

Bibliografia

1. Variabilidade genética. 2. *Crax Fasciolato*. 3. Aves - conservação. I. Título.
II. Sorocaba - Universidade Federal de São Carlos.

CDD 598

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

NATASHA MARCILI LAGANARO

**ANÁLISE DE VARIABILIDADE GENÉTICA DO MUTUM-DE-
PENACHO (*Crax fasciolata*) (AVES CRACIDAE)**

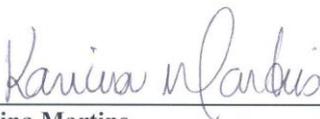
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação para obtenção do título de
mestre em Diversidade Biológica e Conservação.
Universidade Federal de São Carlos.
Sorocaba, 05 de abril de 2013.

Orientador:

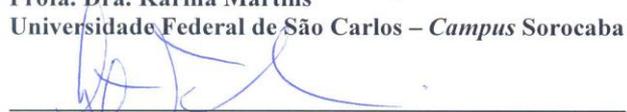


Prof. Dr. Mercival Roberto Francisco
Universidade Federal de São Carlos – *Campus* Sorocaba

Examinadores:



Profa. Dra. Karina Martins
Universidade Federal de São Carlos – *Campus* Sorocaba



Dr. Luis Fábio Silveira
Universidade de São Paulo - USP

Aos meus pais e irmão, pelo todo que abrange o tudo que são em minha vida. A minha equipe de trabalho e ao meu orientador, pela razão que me fez concluir esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado forças quando eu não mais tinha ânimo de persistir, luz quando me encontrava perdida e sem saber o que fazer, saúde para continuar, quando eu já nem mesmo tinha tempo cuidar de mim e auxílio, por parte dos meus familiares e amigos valorosos que tenho em meu caminho.

Gostaria de agradecer aos meus pais, meu irmão e meus amigos, que sempre me lembraram de que o mais importante é fazer o que conseguimos fazer, da melhor forma que nos é permitido e que as dificuldades existem para tudo aquilo que nos dispusemos a fazer e para elas temos apenas duas escolhas: continuar ou desistir. Meu muito obrigada por não permitirem que eu tivesse que chorar sozinha e por nem sempre estarem comigo em meus sorrisos, apenas sentindo a minha alegria.

Ao meu orientador paciente e dedicado, Prof. Dr. Mercival Roberto Francisco, que sempre esteve disponível para me ajudar, desde a minha época de graduação, no qual também foi meu orientador, na primeira vez na qual prestei exame de mestrado e não fui aprovada e durante todo esse longo período de aprendizado na prática da conservação de espécies. Meu muito obrigada por ter me permitido fazer parte da sua equipe mesmo sem ter nenhum projeto que eu pudesse chamar de meu no começo.

Aos criadores que se dispuseram a ceder informações válidas para execução deste trabalho, assim como amostras de seus plantéis. Obrigada por acreditarem que uma espécie pode ser salva, mesmo quando as chances dizem que não e por investirem tempo, cuidado e dinheiro em questões consideradas muitas vezes perdidas.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação pelo suporte oferecido e por buscarem sempre vir em meu auxílio quando precisei.

A CAPES/ REUNI pela bolsa concedida desde o início do meu mestrado, que me permitiu realizar a pesquisa e me sustentar ao longo desse um ano e sete meses, até os meses finais da minha defesa.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Luís Fábio Silveira e Prof^a Dr^a Karina Martins, pela disposição de me auxiliar no aprimoramento da minha pesquisa, seus comentários, ressalvas e ideias com certeza serão de grande auxílio para que este trabalho fique melhor.

A minhas companheiras de laboratório, Marie e Cris, sem as quais provavelmente tudo seria mais difícil, mas trabalhoso, mais demorado e menos feliz. Sem vocês meu trabalho seria apenas um trabalho, do qual eu com certeza não me orgulharia tanto. Meu muito obrigada pela horas que passaram me ajudando em tudo que eu precisei, pela amizade de vocês e por me mostrarem que tudo vai dar certo, porque tudo sempre dá certo quando você tem não somente companheiros, parceiros, como também amigos do seu lado.

Ao meu companheiro de laboratório, Juninho, que com certeza contribuiu para meu trabalho, me mostrando que para se fazer algo você deve pensar, re-pensar e pensar novamente no que está fazendo. Por seus conselhos sábios, sua experiência e sua orientação, como o chefinho dois do laboratório.

Ao técnico de laboratório, Msc Renato Kimura, que esteve sempre disponível a me ajudar, se mostrando prestativo e paciente com nossas lavagens semanais de laboratório e atento a nossa autoclave!

Meu muito obrigada a todos aqui citados e um obrigada especial aos mutum-de-penacho, por persistirem na luta pela sobrevivência, por se mostrarem tão interessantes para minha pesquisa e por serem mais que dados e trabalhos, mas sim uma espécie compartilhando do meio ambiente que também lhes pertence.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Conservação Ex situ	12
1.2. Família Cracidae.....	14
1.2.1. Origem e Irradiação da Família	14
1.2.2. Filogenia da Família	15
1.2.3. Distribuição e Características dos grupos	17
1.2.4. Ameaças para a Família.....	19
1.2.5. Conservação dos Cracídeos	20
1.2.6. A importância dos Cracídeos	21
1.3. O Mutum-de-penacho (<i>Crax fasciolata</i>)	22
1.3.1. Subespécies	23
1.4. Variabilidade Genética e Reprodução em Cativeiro	25
1.5. Marcadores moleculares microssatélites.....	27
1.6. Análises de Viabilidade Populacional	28
2. JUSTIFICATIVA.....	30
3. OBJETIVOS	32
4. METODOLOGIA	33
4.1. Área de estudo e Indivíduos amostrados	33
4.2. Extração de DNA	34
4.3. Amplificação dos loci microssatélites e genotipagens	34
5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	36
5.1. Detecção de Alelos Nulos e Desequilíbrio de Ligação	36
5.2. Estruturação Genética Populacional	36
5.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg e Análise de Variabilidade Genética	37

5.4. Cálculo de tamanho efetivo (N_E)	38
5.5. Indicação dos acasalamentos, ranking genético e sugestão de indivíduos aptos para reintrodução	39
5.6. Teste de Paternidade.....	39
5.7. Análise de Viabilidade Populacional	40
6. RESULTADOS.....	44
6.1. Análise dos loci	44
6.2. Estruturação Populacional	44
6.3. Número de Alelos e Alelos exclusivos	45
6.4. Variabilidade Genética	47
6.5. Ranking genético.....	51
6.6. Paternidade	56
6.7. Acasalamentos e Reintrodução	58
6.8. Comparação entre populações de <i>Crax fasciolata</i>	64
6.9. Comparações entre espécies de cracídeos.....	65
6.10. Comparações entre espécies ameaçadas	65
6.11. Análise de Viabilidade Populacional	66
6.11.1. Taxas de reprodução e Manejo genético.....	66
6.11.2. Análise de Viabilidade das populações.....	67
6.12. Análise das fêmeas de <i>Crax fasciolata pinima</i>	69
7. DISCUSSÃO	70
7.1. Estrutura Populacional e Variabilidade Genética	70
7.2. Aplicações para o manejo.....	75
7.2.1. Manejo das populações de cativeiro	75
7.2.2. Reintroduções na natureza.....	78
7.3. Análise de Viabilidade das Populações	81
8. CONCLUSÕES	84

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
10. ANEXOS	98

RESUMO

LAGANARO, Natasha Marcili. ANÁLISE DE VARIABILIDADE GENÉTICA DO MUTUM-DE-PENACHO (*Crax fasciolata*) (AVES, CRACIDAE). 2013. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica e Conservação) – Centro de Ciências e Tecnologias para Sustentabilidade, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2013.

Nos últimos tempos, muitas espécies entraram na lista de ameaça, tendo seu tamanho populacional reduzido ao ponto de se considerar que a melhor estratégia para sua conservação é a *ex situ*. A família Cracidae (Aves, Galliformes) é composta por 50 espécies, das quais 24 encontram-se em algum grau de ameaça. As populações trazidas para o cativeiro, no entanto, são compostas por um número pequeno de fundadores, estando sujeitas a endocruzamentos, deriva genética e efeitos fundadores. Assim, um dos grandes desafios para a reprodução é se amenizar essa perda, a longo prazo, da diversidade alélica e heterozigose. O manejo genético pode auxiliar propondo melhores acasalamentos, de maneira a maximizar os valores de heterozigose e preservar a riqueza alélica. No entanto, ao se propor essas análises os resultados não podem ser comparados, na maioria dos casos, com o cenário natural, simplesmente por não se haverem amostras dessas populações. Para o mutum-de-penacho há uma população originária da região da Usina Hidroelétrica de Porto Primavera que foi resgatada e trazida para o cativeiro da CESP Paraibuna. O objetivo desse trabalho foi analisar sua variabilidade genética e comparar com uma população já existente em cativeiro da mesma espécie e com dados da literatura para demais cracídeos ameaçados. Foram genotipados e analisados 64 *C. fasciolata*, sendo 50 da CESP e 14 do CCC Poços de Caldas, por meio de 10 *loci* de microssatélites. Os resultados demonstraram que não há diferença significativa entre a riqueza alélica e a heterozigose esperada da população natural com a mantida em cativeiro e com duas outras espécies de cracídeos ameaçados, bem como com demais espécies ameaçadas, sugerindo uma variação genética abaixo do desejável para se alcançar os objetivos proposto pela estratégia de conservação *ex situ*. Tabelas comparativas com valores de heterozigose e riqueza alélica para as matrizes de Porto Primavera e sua prole nascida em cativeiro demonstraram que não houve perda de alelos nas gerações, indicando ausência de endocruzamento e deriva. Tabelas de pareamento e *rankings* indicam as relações de parentesco e níveis de variabilidade genética para cada indivíduos analisado, apontando melhores pareamentos dentro de criatórios e indivíduos aptos para reintrodução.

Palavras-chave: *Crax fasciolata*, população natural, variabilidade genética, marcadores moleculares, *microssatélite*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Conservação Ex situ*

Dentre as alterações capazes de interferir na dinâmica dos ecossistemas os efeitos do crescimento populacional humano, bem como as estruturas para seu desenvolvimento, têm grande influência sobre as demais espécies, sendo que aquelas que competem com o ser humano por recursos e por hábitat têm suas populações ameaçadas devido à caça ou a fragmentação e destruição de ambientes. Assim, a ação antrópica é responsável por acelerar processos de extinção, sendo que espécies de distribuição mais restrita são mais influenciadas (Martin & Kelin, 1984; Reid & Miller, 1989; Smith *et al.*, 1993; Primack, 2001).

A melhor estratégia para a proteção em longo prazo da diversidade biológica é sem dúvida a preservação das populações e comunidades em seus habitats naturais, o que é chamado de conservação *in situ*. É apenas na natureza que as espécies são capazes de dar continuidade ao processo evolutivo de adaptação ao ambiente e suas mudanças (Conway, 1980; Primack, 2001).

No entanto, para muitas espécies raras (de distribuição restrita e/ou com tamanhos populacionais muito reduzidos) a conservação *in situ* pode não ser a estratégia mais viável para garantir sua permanência. É o caso de espécies nas quais os indivíduos são tão poucos e tão espalhados que os encontros entre machos e fêmeas para a reprodução se tornam improváveis; quando os efeitos estocásticos atuantes sobre dada espécie se tornam severos a ponto de causar grande redução no tamanho populacional (epidemias, catástrofes naturais, oscilações nas populações de presas e predadores); quando as populações remanescentes de uma espécie estão fora de unidades de conservação ou quando as populações estão em grande nível de ameaça a ponto de cada filhote ser vital para a manutenção da espécie (Conway, 1980; Seal, 1988; Ralls & Ballou, 2004).

A melhor estratégia nessas situações seria a preservação de uma espécie em condições artificiais, sob supervisão humana, definida como conservação *ex situ* (Conway, 1980), e graças a esta estratégia de conservação diversas espécies e

subespécies de animais criticamente ameaçados foram salvas da extinção nos últimos anos (Ralls *et al.*, 2000; Caparroz *et al.*, 2001; Wakefield *et al.*, 2002; Wisely *et al.*, 2003).

Dentre suas funções está garantir refúgio final para muitas espécies ameaçadas, compor reservas demográficas ou genéticas (mantendo indivíduos em condições de compor populações viáveis ao longo do tempo e garantir programas de reintrodução), promover pesquisas sobre a biologia das espécies (tanto para estudos de comportamento, desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de manutenção em cativeiro, como o desenvolvimento de dietas especializadas e estudos genéticos, microbiológicos, dentro outros) e a educação ambiental (Conway, 1980; Ralls & Ballou, 2004, Frankham *et al.*, 2004).

Dessa forma ambientes de conservação *ex-situ* (jardins zoológicos, aquários, criatórios conservacionistas e demais) que antes eram vistos como coleções de espécies exóticas e nativas para fins de *status* social, passaram a investir em instalações e uso de tecnologias para programas de reprodução visando a conservação de seus espécies. Além disso, pesquisas na área auxiliaram no crescente sucesso da criação em cativeiro de muitas espécies. Novas informações sobre as espécies mantidas em cativeiro podem então ser geradas, como quanto ao manejo adequado para cada espécie (exigências nutricionais, técnicas anestésicas, condições ideais de habitação/recintos, vacinas e antibióticos). Os *studbooks* também têm sido importantes para evitar acasalamentos consanguíneos que poderiam levar a depressão endogâmica das populações (Ralls & Ballou, 1983; Groombridge, 1992; Primack, 2001).

Essa estratégia deve ser entendida como um processo que envolve seis estágios, sendo eles: (1) reconhecer o declínio das populações selvagens e suas consequências genéticas, (2) fundar uma população em cativeiro, (3) aumentar a população de cativeiro para números seguros, (4) manter a população cativa ao longo das gerações, (5) escolher indivíduos para a reintrodução e (6) manejar a população reintroduzida na natureza (Frankham *et al.*, 2004).

De acordo com a IUCN (*The World Conservation Union*), quando o número de indivíduos restantes de uma espécie ameaçada está em acentuado declínio, parte ou toda a população natural deve ser trazida para o cativeiro como uma estratégia para se atingir condições mais seguras (Ralls & Ballou, 2004). Este procedimento foi aplicado com

sucesso para o falcão peregrino (*Falco peregrinus*), o grou americano (*Grus americana*), o mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*), o cavalo-de-przewalskii (*Equus przewalskii*), o condor-da-califórnia (*Gymnogyps californianus*) e o furão-de-pés-negros (*Mustela nigripes*) (Cade, 1988; Ralls *et al.*, 2000; Caparroz *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2002; Wakefield *et al.*, 2002; Wisely *et al.*, 2003), permitindo a fundação de novas populações e/ou o reforço das populações naturais já existentes. Assim pode-se entender que a sobrevivência de muitas das espécies depende da conservação *ex situ* aliada a programas de reintrodução (Witzenberger & Hochkirch, 2011).

1.2. Família Cracidae

A família Cracidae (Aves, Galliformes) é composta por aves Neotropicais de distribuição desde o sul do Texas ao Norte da Argentina e Uruguai que compõem um grupo primitivo dentro da ordem Galliformes, com cerca de 11 gêneros e 50 espécies. Dessas 24 são ameaçadas de extinção principalmente devido à degradação ambiental e a caça, segundo o livro vermelho da IUCN publicado pelo *Smithsonian Institution* e pelo Conselho Internacional de Preservação de Aves. No Brasil as espécies podem ser reconhecidas em quatro biótipos: aracuãs (gênero *Ortalis*), jacus (gênero *Penelope*), jacutingas (gênero *Aburria*) e mutuns (gêneros *Crax* e *Pauxi*) (Delacour & Amadon 1973; Collar *et al.*, 1992; Brooks, 2006; Grau, 2008).

1.2.1. Origem e Irradiação da Família

A origem dos primeiros cracídeos e sua irradiação ainda apresenta controvérsias, considerando-se duas teorias mais aceitas, com base em registros fósseis. A primeira teoria e também a mais aceita propõem uma origem na América Central e sul da América do Norte (Vuilleumier, 1965; Brooks, 2006). Baseia-se na presença de um ancestral de hábito arbóreo (como observado nos cracídeos atuais) que habitava a América do Norte há 40-50 milhões de anos (Ma), em condições de clima e vegetação tropicais (Brooks, 2006). A hipótese é ainda reforçada pela descoberta de um fóssil datado de 50 milhões de anos (Ma) encontrado em Wyoming (del Hoyo, 1994), de fósseis mais recentes (datados de 30 Ma) que se assemelham aos aracuãs (gênero *Ortalis*) encontrados no estado de Dakota do Sul (Tordoff & MacDonald, 1957) e de

fósseis encontrados em uma faixa contínua entre as Américas, com idade aproximada de 20.000 anos (del Hoyo 1994), sugerindo que os cracídeos de fato tiveram sua origem na América do Norte e irradiaram para a América do Sul.

A segunda hipótese é proposta por Darlington (1957), que aponta a ocorrência de um fóssil de *Ameripodius* (um ancestral primitivo da ordem Galliformes) datado do Oligoceno superior ou Mioceno inferior na formação de Tremembé, extremo leste do Estado de São Paulo (SP - Brasil), sugerindo que os cracídeos atuais teriam sua origem na América do Sul e que, portanto, o assunto ainda deve ser melhor debatido para se definir de fato a origem dos cracídeos atuais.

1.2.2. Filogenia da Família

A família, como já mencionado, é composta por cerca de 11 gêneros, divididos em quatro grupos: os mutuns (gêneros *Crax*, *Pauxi*, *Nothocrax* e *Mitu*), jacutingas e jacus (gêneros *Pipile*, *Chamaepetes*, *Penelopina*, *Penelope* e *Aburria*), aracuãs (gênero *Ortalis*) e *Oreophasis* (gênero monotípico) (Delacour & Amadon, 1973; Collar *et al.*, 1992; Brooks, 2002; Brooks, 2006). No entanto a taxonomia do grupo ainda apresenta grandes problemas, tanto quanto ao número de gêneros e principalmente com relação ao número de espécies, sendo o último pela adoção do conceito de subespécies que pode levar a um número subestimado de espécies (Silveira *et al.*, 2008). Isto é algo bastante relevante porque em geral programas de conservação não focam em subespécies, prejudicando a tomada de ações voltadas a sua conservação (Silveira & Olmos, 2007). Alguns táxons, como *Penelope superciliaris* e *Crax fasciolata* possuem subespécies listadas como ameaçadas de extinção (respectivamente, *P. s. alagoensis* e *C. f. pinima*), pela lista de animais ameaçados fornecidos pelo Ibama (2003), um importante reconhecimento que pode direcionar o foco de ações conservacionistas (Silveira *et al.*, 2008).

O estudo de Silveira & Olmos (2003), por exemplo, apresenta a importância da definição do *status* taxonômico do mutum-de-alagoas (*Pauxi mitu*) para a conservação da espécie, em especial para programas de reprodução em cativeiro e reintrodução, uma vez que em cativeiro os cracídeos facilmente podem formar híbridos. O estudo validou o mutum-de-alagoas como uma espécie e não como uma raça geográfica do mutum-cavalo (*P. tuberosa*), apresentou uma revisão do histórico da espécie na região de

ocorrência, definindo os caracteres morfológicos (coloração do bico, região auricular, par central de retrizes da cauda) e moleculares diagnósticos e realizou uma revisão de histórico em cativeiro para espécie, possibilitando avaliar as estratégias de conservação para futuros projetos de reintrodução.

A relações filogenéticas da família Cracidae foram mais recentemente analisadas com base em dados moleculares (Pereira *et al.*, 2003), dados morfológicos (Silveira, 2003) e em análises de evidência total (Frank-Hoeflich *et al.*, 2007) cruzando-se valores moleculares com valores morfológicos (incluindo plumagem e estudos comportamentais). Segundo esses estudos, cracídeos podem ser divididos em dois grandes grupos, os representantes terrícolas e os representantes arborícolas. Os últimos são representados no Brasil pelos gêneros *Aburria*, *Penelope* e *Ortalis*, enquanto os terrícolas são representados pelos gêneros *Crax*, *Pauxi* e *Nothocrax*. Além disso, a análise de evidência total inclui o gênero *Pipile* no gênero *Aburria* e representantes do gênero *Mitu*, como o mutum-de-alagoas (*Mitu mitu*) e o mutum-cavalo (*Mitu tuberosum*) no gênero *Pauxi*, tornando-se, respectivamente, *P.mitu* e *P.tuberosa* (Frank-Hoeflich *et al.*, 2007; Grau, 2008).

A filogenia do grupo passou por modificações, ao se incluir caracteres moleculares nas análises de parentesco. Um estudo recente aponta que representantes do gênero *Ortalis*, que anteriormente era grupo-irmão de jacus e jacutingas, é agora grupo-irmão dos mutuns, tornando a subfamília *Penelopinae* parafilética, como apresentado na Figura 1. (Frank-Hoeflich *et al.*, 2007; Grau, 2008).

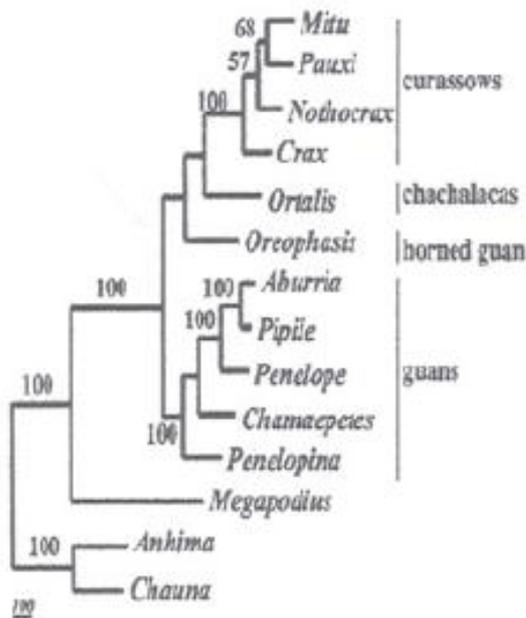


Figura 1. Filogenia geral da família Cracidae segundo estudo de Frank-Hoeflich *et al.* (2007), com base em dados moleculares, no qual o gênero *Ortalis*, antes grupo-irmão de jacutingas e jacus, agora aparece como grupo-irmão dos mutuns.

1.2.3. Distribuição e Características dos grupos

São aves endêmicas do Neotrópico, sendo que a maior diversidade encontra-se na América do Sul, embora ocorram desde o sul do Texas, nos Estados Unidos, até o delta do Paraná, norte da Argentina e Uruguai (Delacour & Amadon 1973; Grau, 2008). A maioria das espécies de cracídeos está restrita às florestas, desde áreas montanhosas até as várzeas, porém, algumas espécies de distribuição mais ampla, como o mutum-de-penacho, *Crax fasciolata*, e o jacupemba, *Penelope superciliaris*, habitam diferentes habitats, como o cerrado e áreas secundárias (Escalante, 1994; Garcia & Brooks, 1997; Brooks, 2006).

O vôo dos cracídeos é pesado e apresentam pescoço e cauda alongados e asas arredondadas. De acordo com sua anatomia e comportamento de forrageio podem ser divididos em dois grandes grupos, sendo que os terrícolas (gêneros *Crax*, *Pauxi* e *Nothocrax*) possuem membros posteriores mais longos e robustos, com dedos compridos para empoleirar-se, enquanto os representantes arborícolas (*Penelope*, *Aburria* e *Ortalis*) apresentam vôo mais ágil (Brooks, 2006; Silveira *et al.*, 2008).

Com relação ao dimorfismo sexual, pode ser avistado apenas em representantes do gênero *Crax*, sendo muito visíveis as bandas brancas nos topetes negros presentes

em todas as fêmeas desse gênero, enquanto os machos apresentam o topete negro, como visto na comparação presente na Figura 2 (A). (Silveira *et al.*, 2008).



Figura 2. Em (A) representação do dimorfismo sexual para a espécie *Crax rubra*, sendo a fêmea (à direita) com coloração marrom, com manchas brancas no topete preto, enquanto o macho (à esquerda) apresenta corpo preto, sem manchas brancas no topete. Em (B) casal de outro gênero da família Cracidae, representado pela espécie *Aburria jacutinga*, para a qual não há dimorfismo sexual (Fonte (A): Laganaro, N.M.; (B): Francisco, M.R.)

Os cracídeos apresentam uma vasta gama de coloração de penas e bicos, além de algumas ornamentações cefálicas, como expansões ósseas cobertas por queratina em *Pauxi tuberosa* [Figura 3. (A)] ou tecido conjuntivo em *Crax globulosa* [Figura 3 (B)] (Brooks, 2006; Silveira *et al.*, 2008).

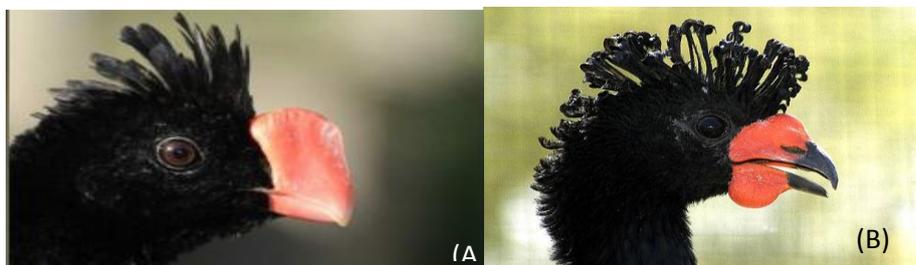


Figura 3. Em (A), representado as expansões cobertas de queratina no bico para o mutum-cavalo (*Pauxi tuberosa*) e em (B) o tecido conjuntivo no bico para o mutum-de-fava (*Crax globulosa*), algumas das ornamentações cefálicas conhecidas para família. Imagem *C.globulosa* disponível no site do *Cracids Specialist Group* (cracids.org).

Em geral representantes dessa família podem formar pequenos grupos compostos de um casal monogâmico e seus filhotes, no entanto podem ser avistados em grupos de jovens machos ainda no início da idade reprodutiva ou ainda individualmente (Pereira, 1996).

O tamanho pode variar desde espécies pequenas (com cerca de 40 cm e 400g de massa), como *Ortalis superciliaris* [Figura 4 (A)] e as jacutingas de tamanho semelhante a uma galinha, a espécies de tamanho semelhante ao peru (com cerca de 100 cm e 4 kg), no caso a espécie *Crax rubra* [Figura 4 (B)], que é a maior espécie entre os mutuns (Brooks, 2006; Silveira *et al.*, 2008).



Figura 4. Em (A) representante de uma espécie de tamanho pequeno (*Ortalis superciliaris*) e em (B) representante da espécie de maior porte *Crax rubra*. Imagens disponíveis no site do *Cracids Specialist Group* (cracids.org)

A dieta dos cracídeos tem relação com seu tamanho corporal e grande parte da família segue essa tendência, sendo que espécies de maior porte, como os mutuns, são com maior frequência frugívoras, alimentando-se pouco de folhas. Dessa maneira são importantes predadores de sementes, contribuindo na manutenção dos processos ecológicos e controlando a densidade de espécies vegetais, além de contribuir para dispersão de algumas sementes (Santamaria & Franco, 1994; Peres & van Roosmalen, 1996; Yumoto, 1999; Brooks, 2006). Espécies de menor porte, como os aracuãs, jacus e as jacutingas, têm sua dieta composta em sua maioria de folhas e poucas frutas, além de apresentarem uma razão de consumo de insetos maior que espécies de maior porte (Guzman *et al.*, 1999), atuando no processo de regeneração dos ecossistemas como dispersores de sementes, uma vez que engolem sementes inteiras (Galetti *et al.*, 1997; Bernardo *et al.*, 2011).

1.2.4. Ameaças para a Família

Em se tratando das aves neotropicais a família Cracidae é a que apresenta o maior número de representantes ameaçados. Vinte e quatro das 50 espécies existentes, além de oito subespécies, encontram-se sob alguma categoria de ameaça (Brooks, 2006). O Brasil abriga a segunda maior diversidade de cracídeos do mundo possuindo pelo menos 22 espécies (sendo a Colômbia a detentora da maior diversidade, com cerca de 25 espécies) (Silveira *et al.*, 2008). De acordo com a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN, dos taxa brasileiros dois se encontram Extintos na Natureza (*Pauxi mitu* e *Crax fasciolata pinima*), três se encontram na categoria Em Perigo (*Aburria jacutinga*, *Penelope superciliaris alagoensis* e *C. blumenbachii*) e dois na categoria Vulnerável (*Penelope ochrogaster* e *Penelope jacucaca*). As principais causas

deste declínio têm sido a caça e a destruição de seus habitats naturais (Thiollay, 1994, Brooks, 1999).

A caça é praticada em toda região neotropical e os cracídeos compõem importante fonte de proteína para populações indígenas (Brooks, 2006). O declínio populacional de alguns gêneros da família, principalmente *Aburria*, *Mitu* e *Crax*, têm forte relação com essa atividade. Estudos apontam inclusive a diminuição mais acentuada dessas populações quando ocorrem em áreas nas quais a atividade de subsistência é insustentável (Peres, 2001; Brooks, 2006). Outro agravante é que muitos representantes da família são particularmente suscetíveis à destruição de habitats, necessitando de áreas restritas/específicas e bem conservados (Brooks, 2006). (Santamaria & Franco, 1994; Peres & van Roosmalen, 1996; Galetti, 1997; Guzman *et al.*, 1999; Yumoto, 1999; Brooks, 2006; Bernardo *et al.*, 2011).

1.2.5. Conservação dos Cracídeos

Em 1990 foi criado o “*Cracid Specialis Group*” (CSG), pela IUCN, com o objetivo de demonstrar a importância da conservação por meio da execução de pesquisas relativas à família. Em 2000 foi elaborado o primeiro Plano de Ação para conservação dos Cracídeos, concluído em 2006 e que conta com uma lista de ações necessárias para a conservação das espécies (Brooks, 2006). Além disso, a família é também contemplada no Plano de Ação para Conservação de Galliformes (Silveira *et al.*, 2008), que possui tópicos específicos para a subespécie *Crax fasciolata pinima*, e dos planos de ação específicos para duas espécies, sendo elas o *Pauxi mitu* (Silveira *et al.*(b), 2008) e o *Crax blumenbachii* (Bianchii *et al.*, 2004), todos coordenados pelo ICMBio. Dos taxa brasileiros ameaçados alguns possuem ao menos um exemplar em cativeiro, são eles: *Penelope supercilialis alagoensis*, *Penelope jacucaca*, *Crax fasciolata pinima*, *Aburria jacutinga*, *Pauxi mitu* e *Crax blumenbachii* sendo que para os três últimos existem programas de reprodução *ex situ* estabelecidos, com populações distribuídas em criatórios conservacionistas do país, sob monitoramento do ICMBio (Silveira *et al.*, 2008).

A reprodução é essencial para manter o tamanho das populações cativas e para programas de reintrodução. Esses programas vêm sendo muito efetivos, dado que espécimes reintroduzidos atualmente conseguem reproduzir e readaptar-se ao ambiente natural. Esses programas, no entanto, devem ser monitorados, garantindo que os

indivíduos sejam soltos de forma a não causar conflitos aos indivíduos nativos (comportamento diferenciado, doenças adquiridas no cativeiro, dentre outros) (Pereira, 1996).

Ambientes preservados, de tamanho suficiente e com pouca interferência humana, são apontados como principais necessidades para a conservação dessas espécies. O controle da caça, principalmente em regiões de ocorrência de populações indígenas e em áreas protegidas, também é uma importante ação para conservação dos cracídeos, aliando a esse controle o conhecimento do ciclo reprodutivo de cada espécie. O uso de programas de educação ambiental e de ecoturismo também é importante para efetiva conservação de populações naturais (Brooks, 2006).

Uma das ações propostas da IUCN para conservação das espécies de cracídeos é a Análise da Dinâmica Populacional, através da elaboração de PHVAs (Análises de Viabilidade Populacionais e de Hábitats), que alia informações da história de vida, ecologia e distribuição das espécies tornando possível delimitar ações futuras, como a melhoria do habitat, controle de caça e reprodução em cativeiro, ajudando a estabelecer metas que diminuam o risco de extinção das populações trabalhadas (Brooks, 2006).

1.2.6. A importância dos Cracídeos

São aves restritas às florestas conservadas e suas populações são facilmente amostradas, o que as tornam indicadores de interferência humana no ambiente (Pereira, 1996; Brooks, 2006) podendo ser utilizadas (juntamente com demais espécies de aves e grupos de mamíferos) para gestão de Unidades de Conservação, indicando áreas de uso mais restrito e áreas que necessitam de recuperação (Strahl & Grajal, 1991; Brooks, 2006).

Além disso, como já mencionado, cracídeos são também importantes na recuperação do ambiente, atuando como importantes dispersores de sementes e na manutenção de florestas tropicais (Guix & Ruiz, 1997; Sedaghatkish *et al.*, 1999), além de auxiliarem no controle da densidade populacional de plantas da região onde ocorrem, por meio da predação de sementes (Érard *et al.*, 1991; Théry *et al.*, 1992; Caziani & Protomastro, 1994; Érard & Théry, 1994). Espécies florestais pertencentes às famílias Lauraceae, Arecaceae e Sapotaceae, que têm como característica uma semente de grande tamanho, são dispersas em sua maioria pelos cracídeos, sendo algumas delas utilizadas pelo homem (Sedaghatkish, 1996; Sedaghatkish *et al.*, 1999), fazendo de

representantes dessa família de aves espécies-chave para o ecossistema no qual ocorrem (Brooks, 2006).

1.3. O Mutum-de-penacho (*Crax fasciolata*)

O mutum-de-penacho (*Crax fasciolata*, Spix 1825) (Figura 5) apresenta uma ampla distribuição, ocorrendo, principalmente, em florestas semi-decíduas e matas de galeria, no leste-central e sul do Brasil, Paraguai, leste da Bolívia e extremo nordeste da Argentina (Sick, 1997). É de hábito terrestre, muitas vezes ocorrendo em bordas de floresta ou pequenas clareiras, mostrando certa preferência por proximidades de rios (Lowen *et al.*, 1996; Wallace *et al.*, 2001).



Figura 5. Casal de *C. fasciolata* presente no Criadouro da CESP em Paraibuna, sendo em (a) a fêmea e em (b) o macho, ambos originários da população natural de Porto Primavera.

São avistados geralmente em casais, apresentando comportamento monogâmico. Podem formar grupos ocasionais compostos por machos jovens, ainda não aptos a reprodução. Atingem a maturidade sexual aos 3 anos, podendo a fêmea botar em duas temporadas ao longo do ano, de 2 a 3 ovos por temporada (Lowen *et al.*, 1996; Sick, 1997; Wallace *et al.*, 2001).

Geralmente forrageiam no solo, consumindo frutos e sementes caídas e a conformação de seu bico mais robusto, quando comparado com jacus e jacutingas (dispersores de sementes), faz com que tenham um comportamento de consumir frutos em partes, não contribuindo com a dispersão das sementes. No entanto, em alguns casos

podem atuar como dispersores de sementes menores. Além disso, podem consumir insetos para complementar sua dieta (Yumoto, 1999; Brooks, 2006).

Seu *status* de ameaça é considerado como “Quase Ameaçado” pela *BirdLife International* (2011) e como não ameaçado pela IUCN (2008) devido a sua ampla distribuição e abundância. No entanto, a espécie é muito valorizada por caçadores, não havendo dados para definir o efeito dessa atividade no declínio das populações.

Em cativeiro se reproduzem com sucesso (Nogueira Neto, 1973; Delacour & Amadon, 2004), mas não há um controle genético das populações a fim de se sugerir os melhores cruzamentos, principalmente considerando-se o tamanho populacional pequeno de fundadores (Gilpin & Soule, 1986; Frankham *et al.*, 2010). A ausência de manejo genético pode levar à endogamia, perda de variabilidade genética e de heterozigidade (Ralls & Ballou, 2004), prejudicando a persistência da espécie em longo prazo.

1.3.1. Subespécies

Há três subespécies reconhecidas: *C. f. pinima*, presente no nordeste do Brasil, *C. f. grayi* no leste da Bolívia e *C. f. fasciolata* no Brasil central e sudoeste, Paraguai e Norte da Argentina (Figura 6) (Nardelli, 1993; Teixeira, 1997).



Figura 6. Áreas naturais de distribuição da espécie *Crax fasciolata* (Ridgely, 2005), disponível em cracids.org (fevereiro de 2013), sendo em linha cor-de-rosa a área que corresponderia à subespécie *C. f. pinima*, em linha amarela a área que corresponderia à subespécie *C. f. grayi* e em linha azul o correspondente à subespécie *C. f. fasciolata*.

Para as duas subespécies que ocorrem no Brasil (*C. f. fasciolata* e *C. f. pinima*) apenas as fêmeas podem ser diferenciadas com base na plumagem, sendo os machos idênticos. As fêmeas de *C. f. pinima* possuem fasciação branca mais fina e aparente, enquanto comparada às fêmeas de *C. f. fasciolata*, além disso, possuem topete negro manchado de branco e não o inverso, como ocorre com as fêmeas de *C. f. fasciolata* [como visto na Figura 7(A) e (B)] (Sick, 1997; Silveira *et al.*, 2008).



Figura 7. Fotos comparativas de peles presente no MZUSP entre fêmeas de *C. f. fasciolata* e *C. f. pinima*, sendo em (A) detalhe da fasciação branca, mas aparente em *C. f. fasciolata* (imagem A superior) e mais fina em *C. f. pinima* (imagem A inferior), além disso, em (B) detalhe da fasciação negra no dorso mais aparente em *C. f. pinima* (imagem B inferior) e ponta das retrizes da cauda em tom amarronzado na mesma subespécie e branco em *C. f. fasciolata* (imagem B superior). Em (A) e (B), detalhe do topete predominantemente branco em *C. f. fasciolata* e predominantemente negro em *C. f. pinima*.

Devido à sua ampla distribuição, a subespécie *C. f. fasciolata* é considerada de ocorrência comum (Stotz *et al.*; 1996). Além disso, ocupa uma área superior a 20.000 km² e não atinge um declínio populacional maior que 30% em dez anos ou três gerações, critérios definidos pela IUCN como limiares da categoria de Vulnerável (del Hoyo, 1994).

Por outro lado, a subespécie *C. f. pinima*, descrita por Pelzeln (1870), tem sido considerada extinta na natureza. Os últimos registros da subespécie são datados de 1990, na Reserva Biológica de Gurupi (Maranhão) e 1998 em Belém (Novaes & Lima, 1998; Yamashita, 2001). Nestas áreas a prática de caça para consumo é intensa, assim como demais atividades consideradas como ilegais, como a extração madeireira e a devastação da mata nativa, de modo que a presença da subespécie no local é incerta e a probabilidade é de que não mais ocorra (IBAMA, 2003). O Centro de Endemismo, no qual se localiza a Reserva de Gurupi, já perdeu mais de 75% de sua cobertura florestal original, principalmente decorrente da extração ilegal madeireira, da agropecuária e

extração de carvão, restando atualmente somente a área da Reserva em situação crítica de conservação (Silveira *et al.*, 2008).

No ano de 2009, cinco exemplares de *C. fasciolata* (três fêmeas e dois machos) foram apreendidos do tráfico e encaminhados para um criatório conservacionista do Estado de Santa Catarina. Após uma análise detalhada do padrão de plumagem, foi confirmado que, pelo menos no caso das fêmeas, tratava-se de três exemplares de *C. f. pinima*. Tragicamente, durante as tempestades que devastaram o Estado de Santa Catarina no início do ano de 2010, um deslizamento de terras atingiu o recinto no qual estes animais estavam alocados, causando a morte de uma fêmea e de um dos machos. Em 2010, duas outras fêmeas foram localizadas no Criatório Científico e Cultural de Poços-de-Caldas, MG (Luiz Fábio Silveira, comunicação pessoal). No total, as quatro fêmeas localizadas nestes criatórios e o potencial macho (dado que morfologicamente é idêntico a machos de *C. f. fasciolata*) são os únicos indivíduos vivos conhecidos desta subespécie.

1.4. Variabilidade Genética e Reprodução em Cativeiro

Um dos grandes desafios para manutenção a longo prazo de uma espécie fora de seu ambiente natural é amenizar a perda de diversidade alélica e de heterozigose (Seal, 1988; Frankham *et al.*, 2010). A perda de variabilidade é mais pronunciada em populações pequenas (como é o caso da maioria de populações mantidas em cativeiro), uma vez que são mais suscetíveis aos eventos de deriva genética, endocruzamento e efeitos fundadores (Lande & Barrowclough, 1987; Shaffer, 1987; Frankham, Ballou & Briscoe, 2009).

A deriva genética diminui a variabilidade genética intrapopulacional, mas aumenta a variação interpopulacional, enquanto o fluxo gênico entre populações é capaz de aumentar a variabilidade intrapopulacional, tendo efeito contrário à deriva. Espécies mantidas em cativeiro, no entanto, sofrem mais efeito da deriva genética e não possuem fluxo gênico, reduzindo a variabilidade genética e impedindo o fluxo de complexos gênicos adaptativos, prejudicando assim seu sucesso de sobrevivência ao longo das gerações (Templeton *et al.*, 2001).

Dentre os efeitos negativos da perda de heterozigose está a maior probabilidade de que os indivíduos sejam homozigotos para alelos deletérios recessivos, o que implica em baixa resistência a doenças, baixas taxas de sobrevivência e de crescimento, anomalias fenotípicas, tamanho reduzido dos adultos e baixa fertilidade (Young *et al.*, 1998; Bryant & Reed, 1999). Além disso, a perda de diversidade alélica pode ter efeito na adaptação e especiação dos táxons frente a alterações do ambiente, uma vez que é essa diversidade que compõem o material necessário para adaptação a condições adversas (Templeton *et al.*, 2001; Frankham *et al.*, 2010).

Portanto, o tamanho da população, o número de indivíduos fundadores e o manejo genético (propondo pareamentos a fim de se evitar acasalamentos consanguíneos) são os principais fatores determinantes do quanto de variabilidade genética pode ser mantido numa espécie ou população cativa (Lande & Barrowclough, 1987; Frankham, Ballou & Briscoe, 2009; Frankham *et al.*, 2010).

Para conservação de espécies mantidas em cativeiro a principal estratégia é se evitar a ocorrência de endocruzamentos e, mais específico no caso de subespécies, evitar o cruzamento entre as mesmas, garantindo a preservação na variação em ambas. Comumente isso é feito com auxílio das genealogias presentes em *studbooks* (Jones *et al.*, 2002), no entanto, quando as genealogias são desconhecidas, ou mesmo quando o tamanho populacional torna-se tão reduzido que todos os indivíduos provavelmente possuem certo grau de parentesco, a melhor estratégia é a aplicação de técnicas de genética molecular.

Estas técnicas tornam possível o cálculo da distância genética entre os espécimes a serem manejados, para que se possa acasalar os indivíduos menos similares geneticamente com o intuito de minimizar a homozigose. Além do que, tais análises permitem identificar os indivíduos com alelos mais raros e heterozigotos, garantem que a diversidade genética esteja representada em todos os criadouros envolvidos, asseguram que toda a variabilidade genética disponível em cativeiro seja transferida para a natureza em programas de reintrodução e identifica indivíduos mais comuns geneticamente para que possam ser utilizados também em outros propósitos que não a reprodução, como a exposição em programas educacionais ou tentativas experimentais de reintrodução na natureza (Frankham *et al.*, 2004; Ralls & Ballou, 2004).

No entanto, para a maioria das espécies, pouco se sabe sobre os níveis de variabilidade genética em populações naturais, o que seria importante para programas de manejo em cativeiro que visem futuras reintroduções.

1.5. Marcadores moleculares microsatélites

Os microsatélites são repetições simples, de pequenas unidades do genoma, de um a seis pares de bases, organizadas em *tandem*, encontradas em todos os organismos eucariotos. São amplamente dispersos pelo genoma e são bastante polimórficos em comprimento (número de repetições) e apresentam herança codominante, uma vez que os heterozigotos são reconhecidos (Tautz, 1989). 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 avanço na área das análises estatísticas específicas para este tipo de marcador, fazem dos microsatélites a ferramenta mais informativa para estudos de variabilidade genética e níveis de parentesco entre indivíduos (Pritchard *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2002). Além disso, também são adequados para a identificação molecular de espécies crípticas, através da determinação de alelos diagnósticos ou análises probabilísticas (Pritchard *et al.*, 2000; Hanfling *et al.*, 2005; Verardi *et al.*, 2006; Luo *et al.* 2007).

A variação dos *loci* de microsatélites é avaliada através da amplificação por PCR utilizando-se *primers* complementares às sequências únicas flanqueadoras de cada *locus*, seguido de eletroforese em gel. 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). No entanto, ao se considerar que em muitos casos não há tempo, condições laboratoriais ou mesmo recurso financeiro para se isolar marcadores para a espécie alvo da análise, há a possibilidade de transferência de *loci* descritos na literatura para espécies aparentadas, se possível de mesmo gênero ou família.

O sucesso do isolamento de novos *loci* de microsatélites depende não apenas do número de *loci* obtidos, mas também do grau de polimorfismo apresentado por estes. O grau de variação de um *locus* de microsatélite depende de sua taxa de mutação. Enquanto o DNA de cópia única evolui principalmente através da acumulação de substituições de bases, o mecanismo predominante na evolução dos microsatélites é o deslizamento (*slippage*) da DNA polimerase. O deslizamento da polimerase ocorre durante a síntese do DNA. Neste

processo, as duas fitas podem ocasionalmente se separar e voltarem a se realinhar em posição incorreta, resultando em alças não pareadas. Muitas destas alças são corrigidas pelos mecanismos de reparo da célula, e apenas uma pequena fração que não sofre reparo resulta em ganho ou perda de uma ou mais unidades repetitivas (Bachtrog *et al.*, 2000; Harr *et al.*, 2000; Kruglyak *et al.*, 2000).

1.6. Análises de Viabilidade Populacional

Para conservação de uma determinada população é interessante obter estimativas de viabilidade em diferentes cenários. Essa visão permite traçar estratégias mais direcionadas para que ocorra o sucesso de um projeto voltado a garantir a permanência de uma população em seu meio natural, ou mesmo em cativeiro (Shaffer, 1991; Boyce, 1992; Ruggiero *et al.*, 1994).

Uma das formas de se conseguir essa visão é através da aplicação da modelagem computacional, capaz de medir riscos de declínio e extinção a partir do fornecimento de dados sobre o comportamento da população (como taxas de natalidade e mortalidade, taxas reprodutivas, dispersão), ou parâmetros referentes ao manejo humano (como alteração nas taxas de endogamia, suplementação, remoção). Em um contexto geral, esse tipo de modelagem permite avaliar a probabilidade de persistência de uma população, sendo conhecidas como análises de viabilidade populacional (PVA) (Shafer, 1991; Boyce, 1992; Primack, 2001; Lacy *et al.*, 2005).

A maneira mais utilizada para se realizar PVAs é a aplicação do software Vórtex (versão 9.93) (Lacy *et al.*, 2005), capaz de simular efeitos de forças determinísticas e eventos demográficos, ambientais e genéticos aleatórios. É baseado na amostragem aleatória prevista do método de Monte Carlo e modela a dinâmica de populações como eventos discretos regrados por probabilidades específicas (Lacy, 1993, 2000; Miller & Lacy, 2003).

Funciona primeiramente criando-se indivíduos para formar a população inicial (com o valor de entrada que o pesquisador sugere) e segue através dos eventos do ciclo de vida, baseado em dados da biologia básica da espécie fornecidos pelo pesquisador (tais como, valores relativos à reprodução, mortalidade, dispersão, catástrofes, etc.). O sucesso reprodutivo, tamanho da prole, sexo dos filhotes e sobrevivência são determinados aleatoriamente, sendo assim, cada uma das repetições representam apenas

um dos possíveis resultados para o quadro apresentado. Executando-se a análise repetidas vezes é possível criar uma distribuição dos resultados mais prováveis, com uma probabilidade associada, que irá permitir ao pesquisador avaliar estratégias mais adequadas para desenvolver com a população (Lacy, 1993, 2000; Miller & Lacy, 2003).

Esta análise permite combinar não somente os dados de biologia básica para o *Crax fasciolata*, como também incluir dados relativos a sua variabilidade genética, adicionando ao programa uma tabela contendo valores de ocorrência de alelos por *locus* analisados, para cada população estudada. Assim, não somente permitiria inferir sobre os níveis de variabilidade genética, como também estimar de fato o efeito na sobrevivência das populações e sugerir manejos direcionados já com estimativas de sucesso realizadas pelo programa.

2. JUSTIFICATIVA

Uma das dificuldades em se estabelecer metas para as populações de cativo, por exemplo, quanto aos níveis de heterozigose, é o desconhecimento sobre a variabilidade genética das populações da natureza. Para os cracídeos, embora algumas espécies ainda tenham grandes populações que possivelmente preservem os níveis originais de variabilidade, as dificuldades de captura para a realização de amostragens impedem o desenvolvimento de análises genético-populacionais.

Para *Crax fasciolata*, uma população originária da região da Usina de Porto Primavera foi resgatada assim que os reservatórios foram inundados e levada para o cativo da Companhia Energética de São Paulo, localizado na cidade de Paraibuna (CESP). Essa amostra de uma população natural é a única oportunidade conhecida até o momento para se analisar a variabilidade genética de uma população natural de uma espécie de Cracidae. Além disso, estudos genéticos em *C. fasciolata* teriam serventia na conservação *ex situ* da própria espécie. Embora não seja atualmente classificada como ameaçada, muitas populações têm desaparecido devido às pressões de desmatamento e caça, que recaem sobre todos os grandes cracídeos brasileiros. Por isto, iniciativas de conservação *ex situ* desta espécie já se encontram em andamento. Alguns casais são mantidos dispersos em diferentes zoológicos e populações são mantidas em criatórios conservacionistas, sendo o criatório da CESP o principal detentor dessa espécie, com 50 indivíduos. Além disso, o Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas abriga o que se pode dizer a segunda maior população mantida em cativo, com um total de 14 indivíduos. No entanto, não existe um manejo genético ainda implementado para estas populações de cativo.

Gonçalves *et al.* (2010) analisou a variabilidade genética de *C. fasciolata* com base em três marcadores microssatélites desenvolvidos por Hughes & Larson (2000) para a espécie *C. globulosa*, sendo inconclusivo devido ao baixo número de marcadores utilizados. Um estudo feito por Pereira & Wajntal (2001), com exemplares também capturados durante o enchimento da hidrelétrica de Porto Primavera, utilizando-se DNA *fingerprint*, encontrou uma diversidade genética comparável com uma população de

cativeiro de *Penelope* spp. que tinha um conhecido histórico de gargalo populacional, demonstrando a necessidade da realização de estudos mais aprofundados.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral foi analisar a variabilidade genética de uma população natural de mutum-de-penacho, utilizando-se marcadores moleculares microssatélites, e comparar com os indivíduos mantidos em cativeiro.

Os objetivos específicos foram:

- ✓ Analisar a variabilidade genética de uma população natural de mutum-de-penacho;
- ✓ Testar se a variabilidade genética dos indivíduos fundadores, oriundos de população natural, é maior do que a das suas proles;
- ✓ Avaliar se a heterozigose e a diversidade alélica tida no cativeiro é compatível com a população natural;
- ✓ Comparar os níveis de variabilidade genética desta população natural com os níveis de variabilidade genética de populações *ex situ* de cracídeos ameaçados;
- ✓ Verificar o grau de parentesco entre os indivíduos analisados a fim de gerar dados necessários a confecção de um *studbook* para *Crax fasciolata*;
- ✓ Realizar recomendações quanto aos melhores pares a serem acasalados de modo a conservar os maiores níveis de variação genética possível para a espécie em estudo;
- ✓ Identificar indivíduos mais adequados para reintrodução na natureza;
- ✓ Avaliar a viabilidade das populações estudados e testar se com o manejo genético as populações têm maiores probabilidades de sobreviver ao longo das gerações.

4. METODOLOGIA

4.1. Área de estudo e Indivíduos amostrados

Foram coletadas amostras de sangue 19 indivíduos de mutum-de-penacho originária da região do rio Paraná, entre os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, na qual em 1999 foi construída uma represa para a Usina Hidroelétrica de Porto Primavera (Figura 8 - nas coordenadas 228250S e 528550W), que compõe a maior barragem em extensão do Brasil, com 10.186,20 m de comprimento e um reservatório de 2.250 km². A região era de ocorrência natural do mutum-de-penacho e com a inundação a população remanescente nos fragmentos de mata inundados foi resgatada e transferida para o Criadouro Científico da CESP, atualmente na Unidade de Paraibuna, SP.

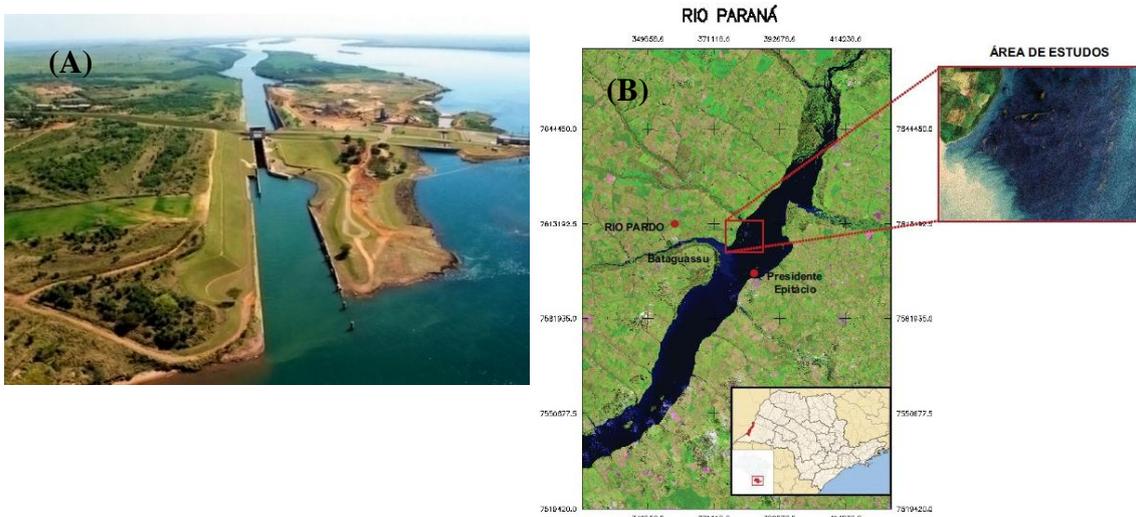


Figura 8. Localização da região onde atualmente encontra-se a Usina Hidroelétrica de Porto Primavera (A) e que anteriormente era o habitat natural dos 19 indivíduos que compõem a população de *Crax fasciolata* analisada no estudo (B). (FONTE: site oficial da CESP)

Essa população natural compõe a maior parte das matrizes do criadouro da CESP, tendo 26 indivíduos de mutum-de-penacho considerados como filhotes originários dessas matrizes, que também tiveram amostras de sangue coletados, compondo a população total desse criadouro analisada. O criadouro também possui cinco indivíduos de origem desconhecida que foram utilizados para formar casais com os fundadores de Porto Primavera.

Foram coletadas também amostras de 14 indivíduos de mutum-de-penacho do Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas (sendo todas as matrizes em reprodução do criadouro), compondo a população considerada de cativeiro. Além disso, seis indivíduos capturados na natureza pelo Museu de Zoologia da USP (MZUSP) e dois indivíduos da subespécie *C. fasciolata pinima* encontrados em cativeiro também foram amostrados.

A coleta das amostras de sangue foi realizada por veterinário, por meio de uma punção intravenosa na asa e o sangue extraído (cerca de 10 µL) conservado em etanol absoluto em microtubos de 1,5 mL, no freezer (-20°C), para posterior extração do DNA, após devida identificação e catalogação das amostras em uma planilha eletrônica.

4.2. Extração de DNA

A metodologia empregada foi a proposta por Sambrook *et al.* (1989), conhecida como metodologia Fenol/ Clorofórmio/ Álcool Isoamílico. Segundo essa metodologia é possível separar a amostra em três fases, a mais densa conterá fenol e as proteínas contidas no sangue, a camada intermediária é composta por clorofórmio e lipídeos contidos na amostra e a camada superior, menos densa, apresentará o álcool e o DNA. Após obter o DNA, a amostra foi quantificada para um padrão de concentração em torno de 50 a 60 ng/µL utilizando o equipamento NanoVue Plus (GE).

4.3. Amplificação dos loci microssatélites e genotipagens

Os *primers* utilizados foram descritos por Sousa *et al.* (2012) para a espécie *Pauxi tuberosa*. A transferibilidade dos *primers* foi testada, por Costa *et al.* (em preparação), obtendo-se 10 *loci* de *P. tuberosa* polimórficos em *C. fasciolata*, descritos na Tabela 1. A amplificação desses *loci* foi feita em termociclador *Eppendorf Mastercycler Gradient*, realizando-se uma PCR com: 1 µL de DNA extraído (100 ng); tampão de amplificação 1x; 1 µL de MgCl₂ (3 mM); 1,6 µL de DNTPs (0,2 mM); 1 µL de cada primer (0,2 µM) (Sigma® Life Science); 0,2 µL de Taq polimerase (1 U) e 3,2 µL de água miliQ, completando o volume para 10 µL. O programa da PCR teve temperatura inicial de desnaturação de 94 °C (3 minutos) e 35 ciclos de 94 °C (30 segundos), 45 – 65 °C (30 segundos) (temperatura de *annealing* variando para cada *primer*), seguido de uma extensão final de 72°C (5 segundos).

Utilizou-se *primers forward* marcados com fluorescência (FAM e HEX), além de um marcador de peso molecular ROX (*GenScan 500 – Applied Biosystems*). A genotipagem desses indivíduos foi feita comercialmente pelo Centro de Estudos do Genoma Humano da USP, em sequenciador automático ABI 3730 (*Applied Biosystems*).

Table 1. Abreviatura dos nomes dos *primers*, motivo da repetição, amplitude (em pares de base), número de alelos e temperatura de *annealing* (Ta °C) dos dez loci utilizados para genotipagem de 64 da espécie *C. fasciolata*.

<i>Locus</i>	Repetição	Amplitude (pb)	Nº de Alelos	Ta (°C) <i>annealing</i>
P1-4	(GATA) ₄ (GGTA) ₉ GGGA (GGTA) ₄	190 - 234	12	50,4
P1- 13	(CTTT) ₁₂ (CTGT) ₁₀	139 - 151	4	58,5
P1- 16	(GAAA) ₅	236 - 244	2	63,1
P1- 29	(GTTT) ₃ GG(GTTT)T(GT TT) ₄	119 - 123	2	58,5
P1- 30	(CAAA) ₅	294 - 302	2	53
P1- 36	(AAAG) ₆	289 - 377	16	55,8
P1- 37	(AG) ₆	167 - 179	2	53
P2- 19	(TTCC) ₆ TTTC(TTCC) ₃ T TTC(TTCC) ₃	177 - 193	6	55,8
P2- 30	(GAAA) ₅	193 - 201	2	55,8
P3- 1	(TTTC) ₅	166 - 184	5	53

5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

5.1. Detecção de Alelos Nulos e Desequilíbrio de Ligação

A identificação de alelos nulos foi feita por meio do software MicroChecker (versão 2.2.3 – Van Oosterhout *et al.*, 2004), que constrói para cada *locus* dentro da amostra genótipos a partir da randomização de alelos observados. Esse genótipos observados são então comparados com a distribuição randômica gerada. Os valores de *P* são calculados pelo *ranking* das frequências observadas, que são utilizados em um teste de Fisher para probabilidade combinada para todas as classes de tamanho de homozigotos. Caso exista um excesso significativo de homozigotos e quando esse excesso for distribuído uniformemente em todas as classes, o programa indicará a presença de alelos nulos. Essa análise foi realizada apenas considerando a população de Porto Primavera (19 indivíduos apenas, sem considerar filhotes), uma vez que se sabe ser essa a única população natural, originária de uma mesma localidade.

O desequilíbrio de ligação foi calculado pelo software FSTAT (versão 4.0 – Goudet *et al.*, 1996). Para tanto, foi feita uma tabela de rejeição para cada par de *loci*, utilizando-se a estatística *G*, de modo que a zona de rejeição é definida como a soma das probabilidades de todas as tabelas (com os mesmos valores genotípicos marginais como os observados) que possuem um valor calculado *G* na tabela derivada gênica superior ou igual ao valor de *G* observada. Assim é possível se estimar se os genótipos de determinado *locus* eram independente de outro *locus* em termos de frequência de ocorrência.

5.2. Estruturação Genética Populacional

Para se verificar se há estruturação genética nas populações analisadas foi utilizado o procedimento Bayesiano, por meio do software STRUCTURE (versão 2.3.3, Pritchard *et al.*, 2000). O modelo Bayesiano assume que há distintos grupos gênicos (*K*) em um conjunto de genótipos *multilocus*, com diferentes frequências alélicas para cada *locus*, ou seja, o modelo irá inferir sobre (*K*) de conjuntos gênicos presentes em uma amostra buscando-se por grupos que maximizem os níveis de EHW, sendo cada população caracterizada por um conjunto de frequências alélicas em cada *locus*. A partir

dessas frequências alélicas estima-se a probabilidade (Q) de cada indivíduo pertencer a determinada população.

As análises foram realizadas para $K = 1$ até $K = 5$, com dez corridas independentes para cada K e 1.000.000 de reamostragens pelo método de MCMC (Markov Chain Monte Carlo) e 500.000 período de “*burn-in*”, utilizando-se frequência correlacionada de alelos e o modelo que permite mistura de genomas (*admixture model*). Para encontrar o valor de K mais adequado para os dados foi utilizado o valor máximo da média de $\ln P(D)$ (log da probabilidade estimada dos dados) para os diferentes valores de K (Pritchard *et al.*, 2000; Miotto *et al.*, 2011; Yang & Jiang, 2011).

A estruturação indicada pelo programa foi confirmada considerando-se todos os *loci* em um conjunto, por meio do cálculo do índice de fixação (F_{ST}), de acordo com Weir e Cockerham (1984). Para testar se os valores diferem significativamente de zero foi utilizada a randomização no software FSTAT (versão 2.9.3.2, Goudet, 1995), não assumindo o EHW.

Os genótipos foram permutados aleatoriamente entre os pares de populações e a probabilidade da distribuição alélica ser idêntica entre elas foi obtida através do “*log-likelihood (G) exact test*”, (Goudet *et al.*, 1996). Com isto, obteve-se uma distribuição de valores de G (distribuição nula) que puderam ser comparados com o valor de G obtido para a amostra observada. A proporção de valores de G obtidos por randomização que foram maiores ou iguais ao valor observado representa a probabilidade de F_{ST} diferir significativamente de zero.

5.3. Equilíbrio de Hardy-Weinberg e Análise de Variabilidade Genética

Para cada população analisada, avaliou-se se os genótipos que estavam nas proporções esperadas pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), comparando-se as heterozigoses observadas (H_O) e esperadas (H_E) e calculando-se o índice de fixação de Wright (F_{IS}). Por meio do software GENEPOP (versão 4.0.10, Raymond & Rousset, 1995), foi calculada a significância das diferenças entre os valores de H_E e H_O , com o teste exato, e o cálculo de F_{IS} foi feito de acordo com Weir & Cockerham (1984).

A diversidade genética para cada população foi estimada calculando-se a riqueza alélica (R_s) de El Mousadik & Petit (1996), estimando o número esperado de alelos por

meio de uma adaptação do índice de rarefação de Hurlbert (1971), uma vez que o número de alelos observados é altamente dependente do tamanho da amostra.

Para comparar a variabilidade genética da população fundadora de mutum-de-penacho vinda da natureza com sua prole, bem como com a população de cativeiro de Poços-de-Caldas e com outros cracídeos ameaçados, os valores de riqueza alélica e de H_e foram comparados através de testes de Mann-Whitney, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal, utilizando-se o software BioStat 2.0 (Ayres *et al.*, 2000).

5.4. Cálculo de tamanho efetivo (N_E)

O tamanho efetivo populacional (N_E) foi estimado, por meio do software LDNE (versão 1.3.1. Waples & Do, 2008), para um conjunto total de indivíduos e para cada população, por meio do método baseado em desequilíbrio de ligação (Waples, 2006). O desequilíbrio de ligação entre alelos de dois *loci* pode ser definido como sendo a diferença existente entre as frequências observadas dos gametas com os alelos dos dois *loci* e a frequência esperada para cada tipo de gameta (obtida pela associação randômica dos alelos de acordo com suas frequências na população), obtendo-se um coeficiente de correlação (r), no qual:

$\hat{r}\Delta$ = Correlação de Burrow das frequências alélicas entre *loci* (Waples, 2006);

\hat{r}^2 = média dos quadrados dos valores de $\hat{r}\Delta$ 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 .

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

$$E(\hat{r}^2\Delta) \approx 2/3 N_e + 1/S$$

Simplificado por Park (2001), obtêm-se:

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

5.5. Indicação dos acasalamentos, ranking genético e sugestão de indivíduos aptos para reintrodução

Para definição dos indivíduos mais, ou menos, aparentados e indicação dos melhores acasalamentos, foi calculado a distância genética entre eles, utilizando-se a medida de $(1 - P_s)$, sendo P_s a proporção de alelos em comum ao longo de todos os *loci* para cada par de indivíduos analisados (Bowcock *et al.*, 1994; Ramirez *et al.*, 2006).

Para se criar um ranking genético de importância dos indivíduos em termos de presença de alelos raros, foi utilizado o *mean kinship* (mk), que é definido como a média dos coeficientes de parentesco (f) de cada indivíduo com todos os demais membros da população, incluindo o próprio indivíduo (Ballou & Lacy, 1995). É uma métrica bastante utilizada para se estabelecer *rankings* de valores de importância genética para programas de reprodução (Gonçalves *et al.*, 2010). Os coeficientes de parentesco são obtidos de genealogias, conhecidas como *pedigrees*, e refletem a probabilidade de homozigose por descendência (Falconer, 1981). Em casos que essas genealogias são incompletas ou inexistentes, devem ser utilizados outros estimadores de parentesco em substituição dos valores de f (Russello & Amato, 2004; Ivy *et al.*, 2009). Assim, para o trabalho, uma vez que não há genealogias conhecidas para todos os indivíduos coletados, os valores de f foram substituídos pelos valores de máxima verossimilhança das estimativas de *Relatedness* (r), obtidos com o software ML-Relate (Kalinowski *et al.*, 2006).

Para a indicação de indivíduos aptos para a reintrodução em termos de níveis de heterozigose individual foi aplicado o valor de MLH, que mede a proporção de *loci* genotipados que são heterozigotos por indivíduo (Ruiz-López *et al.*, 2009).

5.6. Teste de Paternidade

A paternidade dos 26 filhotes presentes na CESP Paraibuna se baseou na exclusão alélica através da comparação *locus* por *locus*, considerando todos os 10 pares de *loci* polimórficos da espécie. Com isso, o conjunto de alelos de cada um dos 26 filhotes foi comparado com os 10 casais reprodutivos identificadas pelo criatório a fim de se estabelecer o provável casal progenitor de cada filhote.

5.7. Análise de Viabilidade Populacional

A viabilidade das populações de cativeiro de *C. fasciolata* foi avaliada através da utilização do software Vórtex (versão 9.93). Essa ferramenta computacional permite também traçar estratégias para conservação da espécie alterando-se padrões como, número de casais reprodutivos e taxas de natalidade e mortalidade, dentre outras possibilidades. Para tanto, os parâmetros analisados foram:

Número de repetições (interações) : 100 - Foram realizadas 100 repetições para cada cenário proposto no Modelo (população de CCCPC e CESP, respectivamente).

Número de Anos: 100 anos - Para número de anos foi adotado o valor padrão de entrada sugerido pelo Programa Vórtex, ou seja, 100 anos.

Definição de Extinção: somente um sexo sobrevive - Foi adotado que a extinção da população ocorre quando restam exemplares de um único sexo.

Número de Populações: Uma população - Para este estudo, foram consideradas duas populações, uma mantida no Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas (CCCPC - 14 indivíduos) e a mantida na Companhia Energética de São Paulo, no Criatório de Paraibuna (CESP – 50 indivíduos), no entanto ambas foram analisadas separadamente.

Dispersão entre Populações: Não - Uma vez considerando que as populações são mantidas em criatórios, não há dispersão entre as mesmas.

Tamanho da População Inicial: 14 e 50 indivíduos – Respectivamente, CCCPC e CESP Paraibuna.

Capacidade Suporte: 1000 - Sendo a população mantida em cativeiro, considerou-se uma elevada capacidade suporte para que não haja interferência no Modelo Vórtex.

Depressão por Endogamia: sim - O tamanho inicial das populações é pequeno (população de 14 e 50 indivíduos), sendo assim, os efeitos da endogamia são consideráveis e os parâmetros adotados para equivalentes letais (3,14) e efeito da endogamia devido a alelos recessivos letais (50%) foram aqueles fornecidos pelo modelo-base do Vórtex.

Concordância entre Reprodução e Sobrevivência: Sim - Apesar de ser uma população mantida em ambiente artificial, as variações ambientais decorrentes de clima ou demais alterações que ocorram nos recintos podem afetar as taxas de reprodução e isso,

diretamente, afetaria as taxas de sobrevivência da população, sendo que em um ano que não há muitos nascimentos a probabilidade que esta população seja extinta é maior.

Sistema de Acasalamento: Monogamia - O Mutum-de-penacho é uma espécie monogâmica, na qual são formados casais estáveis até que ocorra a morte de um dos parceiros. Esse tipo de monogamia pode ser considerado de longo prazo. No entanto, em cativeiro, os casais podem ser desmanchados e novamente pareados a fim de se obter maiores taxas de sobrevivência, evitando-se endocruzamentos e buscando um aumento dos níveis de heterozigose. Assim, uma vez considerando que os indivíduos analisados estão em ambientes cativos o tipo de sistema reprodutivo escolhido é a monogamia.

Idade da primeira cria: três anos – Estima-se que a maturidade sexual para representantes do gênero *Crax* esteja entre 2,5 a 3 anos (Azeredo, 1998).

Idade Máxima para Reprodução: 18 anos - Os valores de idade máxima para reprodução para o mutum-de-penacho em cativeiro foi o mesmo descrito para o mutum-de-penacho, segundo Azeredo (1998), uma vez que são espécies pertencentes ao mesmo gênero *Crax* e os dados específicos para o mutum-de-penacho não estavam descrito na literatura para o cativeiro. Assim, adultos em cativeiro podem se reproduzir até os 18 anos, uma vez que a longevidade é estimada entre 23-24 anos. Na natureza o máximo para idade reprodutiva é de 15 anos. **Número Máximo de Ninhadas por Ano: 1** - Em geral, como é avistado em demais representantes do gênero, o mutum-de-penacho possui uma ninhada ao longo do ano.

Número Máximo de Progênes por cria: 2 filhotes - Para *Crax fasciolata*, o número médio de filhotes por ninhada é de dois filhotes (Brooks, 2006).

Razão entre Sexo no Nascimento, para machos: 50% - Obtendo-se o total de nascimentos de todos os anos, considerando como base a maior população (CESP Paraibuna), como sendo de 26 filhotes, o percentual de filhotes do sexo masculino é igual a 50%.

Reprodução Dependente da Densidade: Não - A reprodução é independente da densidade.

Percentual de fêmeas/machos adultos em Reprodução: 70% dos indivíduos para CCCPC e 28% dos indivíduos para CESP Paraibuna – Considerando que uma das análises do trabalho irá identificar a paternidade dos filhotes nascidos na CESP

Paraibuna, os dados quanto a porcentagem de fêmeas e machos em reprodução será obtido após essa análise e extrapolado para população do CCCPC.

Distribuição de Ninhadas por Ano: 14,3% dos casais com uma ninhada/ano– Esses valores também serão estimados após a análise de paternidade do plantel da CESP Paraibuna e incluídos na análise.

Taxas de Mortalidade (para indivíduos acima de 1 ano) : 5 % - Valores de mortalidade para adultos (de um ano a dois, de dois anos a três e de três anos para frente) não constavam disponíveis na literatura para a espécie foco do trabalho (*C. fasciolata*), assim, dados disponíveis em literatura para uma espécie próxima, o mutum-do-sudeste (*C. blumenbachii*), também mantida em cativeiro (zoológicos do Brasil) foram utilizados na análise (Laganaro, 2009).

Taxas de Mortalidade (para indivíduos de 0 a 1 ano) : 17% - Assim como valores de mortalidade para adultos, a mortalidade para filhotes (de 0 a 1 ano) foi extrapolada do mesmo estudo realizado com *C. blumenbachii* mantidos em zoológico do Brasil (Laganaro, 2009).

Número de Catástrofes: Nenhuma - As populações de estudo são mantidas em cativeiro e, para o modelo, será considerado como se não existissem catástrofes ambientais.

Remoção (harvest): não - Não foram considerados valores de remoção para esta modelagem,.

Suplementação: não - Não foi considerada a suplementação com indivíduos de outra população.

Manejo Genético: – Foi utilizada a matriz de microssatélites obtida no presente trabalho.

Na tabela 2 é apresentado um sumário dos valores de entrada do programa utilizados para o cálculo inicial.

Table 2. Sumário dos Valores de Entrada dos Parâmetros Usados no Modelo-Vórtex para as populações de *Crax fasciolata* mantida nos criatórios de CCCPC e CESP Paraibuna.

Parâmetro	Valor de Entrada
Número de populações	1
Tamanho Inicial da População	14 (CCCPC) – 50 (CESP)
Número de Anos	100
Capacidade Suporte*	1000
Depressão por Endogamia	3,14 LE

Parâmetro	Valor de Entrada
% efeitos na reprodução devido a alelos letais	50
Sistema Reprodutivo	Monogamia
Idade Reprodutiva Inicial	3 anos
Idade Reprodutiva Máxima	18 anos
% anual de fêmeas em Idade Reprodutiva*	28% e 70%
% anual de machos em Idade Reprodutiva*	28% e 70%
Reprodução Depende da Densidade	Não
Número Máximo de Ninhadas por ano	1
Número Máximo de Filhotes por Ninhada	2
Distribuição de Ninhadas por Ano	-
% de casais com 0 ninhadas*	85,7%
% de casais com 1 ninhada*	14,3%
Razão sexual da Prole	50% machos
% mortalidade de 0-1 ano	17 %
EV da % mortalidade de 0-1 ano	0,3
% mortalidade adulto (acima 1 ano)	5 %
EV da % mortalidade	0,07
Catástrofe	Não
Remoção	Não
Suplementação	Não
Manejo genético	A ser obtido

- *Os valores de desvio padrão serem considerados como igual a zero.

6. RESULTADOS

6.1. Análise dos loci

Os *loci* utilizados não demonstraram a ocorrência de alelos nulos, que foi verificada pelo software MICROCHECKER. A análise de desequilíbrio de ligação não apresentou valores significativos de P após a correção de Bonferroni, evidenciando a independência dos *loci* entre si (Anexo 1).

6.2. Estruturação Populacional

Nas análises de estruturação genética da população de *C. fasciolata*, observa-se que $K = 4$ apresenta o maior valor, sendo portanto o número de conjuntos gênicos sugeridos através dos valores médios de $\ln P(D)$ (Tabela 3). A Figura 2 representa graficamente a composição genética característica de cada um dos conjuntos gênicos e também a proporção que os indivíduos possuem deste padrão.

Table 3. Valores médios de $\ln P(D)$ que indicam a estrutura genética da população cativa de *Crax fasciolata* (70 indivíduos).

Número de populações	$\ln P(D)$
K=1	-1.354,1
K=2	-1.229,8
K=3	-1.170,2
K=4	-1.160,8
K=5	-1.238,8

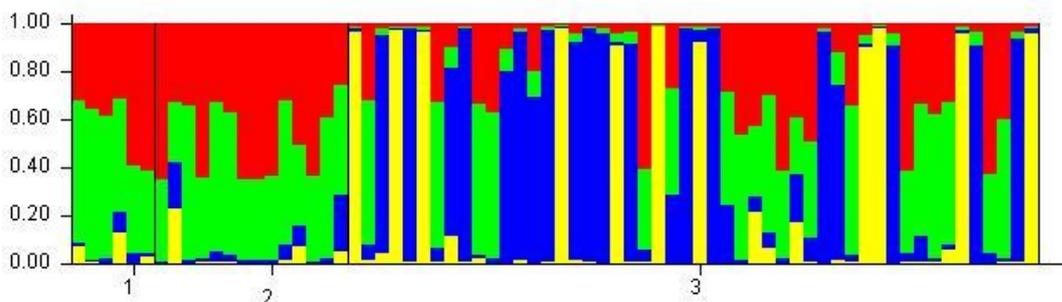


Figura 9. Gráfico de saída o software STRUCTURE indicando a presença de três conjuntos gênicos, sendo que as cores indicam a proporção genética que cada indivíduo possui de cada um dos conjuntos gênicos. População do MZUSP (1) – domínio do verde, População de Poços de Caldas (2) – domínio do vermelho, População da CESP (3) – domínio do azul e verde.

Para verificar se essa diferenciação entre as populações é significativa foi calculado o F_{ST} entre elas (Tabela 4). Os valores de P demonstram que elas são significativamente distintas.

Table 4. Valores de F_{ST} obtidos por comparação entre as populações indicadas pelo software STRUCTURE.

Populações	Valor de F_{ST}
Pop 1 x Pop 2	0,0912
Pop 1 x Pop 3	0,1444
Pop 1 x Pop 4	0,3190
Pop 2 x Pop 3	0,0967
Pop 2 x Pop 4	0,3016
Pop 3 x Pop 4	0,3912

6.3. Número de Alelos e Alelos exclusivos

A frequência de alelos por *locus* é fornecida na Tabela 5, bem como o número de alelos por *locus* em cada população analisada. A população do MZUSP apresenta 4 alelos exclusivos, a população de CCCPC apresenta 2 alelos exclusivos e a população da CESP em conjunto (indivíduos de porto primavera, prole de porto primavera e indivíduos de origem desconhecida) 10 alelos exclusivos.

Table 5. Frequência alélica entre as diferentes populações de *Crax fasciolata*, para os 10 loci analisados. Sendo MZ os 6 indivíduos coletados pelo Museu de Zoologia da USP, PC a população de 14 indivíduos mantidos no Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas, PP os 19 indivíduos advindos de Porto Primavera, que compõem as matrizes da CESP Paraibuna, PPP os 26 indivíduos que compõem a prole de Porto Primavera mantida na CESP Paraibuna e CE os 5 indivíduos também presentes na CESP Paraibuna, mas que não são originários de Porto Primavera nem compõem sua prole.

	Alelos	MZ	PC	PP	PPP	CE
<i>Pauxi</i> 1-13	139	8,33	14,29	-	-	-
	143	83,33	75,00	81,58	76,92	70,00
	147	8,33	3,57	18,42	23,08	30,00
	151	-	7,14	-	-	-
<i>Pauxi</i> 1-37	162	-	-	5,26	-	-
	167	66,67	89,29	92,11	86,54	100,00
	179	33,33	10,71	2,63	13,46	-
<i>Pauxi</i> 1-4	190	8,33	17,86	5,26	7,69	20,00
	194	50,00	28,57	34,21	38,46	30,00
	198	8,33	-	-	-	-
	202	-	7,14	5,26	3,85	-
	206	-	-	2,63	1,92	-
	210	-	10,71	-	-	-
	214	-	3,57	-	-	20,00
	218	8,33	10,71	-	-	-
	222	16,67	3,57	15,79	19,23	20,00
	226	8,33	17,86	13,16	5,77	-
	230	-	-	15,79	21,15	10,00
234	-	-	7,89	1,92	-	
<i>Pauxi</i> 2-30	193	-	14,29	21,05	30,77	10,00
	201	100,00	85,71	78,95	69,23	90,00
<i>Pauxi</i> 1-30	294	41,67	17,86	39,47	44,23	10,00
	302	58,33	82,14	60,53	55,77	90,00
<i>Pauxi</i> 3-1	166	8,33	-	-	-	-
	172	50,00	50,00	7,89	5,77	-
	176	8,33	17,86	42,11	50,00	50,00
	180	25,00	28,57	50,00	44,23	50,00
	184	8,33	3,57	-	-	-
<i>Pauxi</i> 2-19	177	16,67	21,43	18,42	46,15	30,00
	181	-	7,14	5,26	1,92	20,00
	185	-	-	5,26	-	-
	189	16,67	42,86	21,05	19,23	20,00
	191	8,33	-	-	-	-
	193	58,33	28,57	50,00	32,69	30,00
<i>Pauxi</i> 1-16	236	-	-	15,79	21,15	10,00
	244	100,00	100,00	84,21	78,85	90,00

	Alelos	MZ	PC	PP	PPP	CE
<i>Pauxi</i> 1-36	289	-	-	3,13	-	-
	297	16,67	-	-	-	-
	301	-	3,85	12,50	15,38	-
	305	8,33	34,62	28,13	38,46	30,00
	309	16,67	3,85	3,13	-	-
	313	25,00	7,69	15,63	3,85	-
	317	-	26,92	12,50	9,62	-
	321	8,33	7,69	9,38	-	20,00
	325	-	7,69	-	1,92	-
	329	-	7,69	3,13	19,23	20,00
	333	-	-	6,25	-	10,00
	341	8,33	-	-	-	-
	351	16,67	-	3,13	11,54	-
	355	-	-	3,13	-	-
	373	-	-	-	-	10,00
	377	-	-	-	-	10,00
<i>Pauxi</i> 1-29	119	-	7,69	21,05	5,77	-
	123	100,00	92,31	78,95	94,23	100,00

6.4. Variabilidade Genética

A heterozigose média observada (H_o) para as amostras coletadas pelo MZUSP (6 indivíduos) foi de 0,417 (amplitude: 0,158-0,737), enquanto a heterozigose média esperada (H_e) foi de 0,438 (amplitude: 0,00-0,909) (Tabela 6). É observado para os *locus Pauxi* 2-30, *Pauxi* 1-16 e *Pauxi* 1-29 valores de heterozigose iguais a zero.

Table 6. Heterozigose observada (H_o), heterozigose esperada (H_e), índice de fixação (F_{IS}) e probabilidade de valores de F_{IS} diferirem significativamente de zero para déficit (P_D) para os indivíduos de *Crax fasciolata* coletados pelo Museu de Zoologia da USP (MZUSP – 6 indivíduos).

<i>Locus</i>	MZUSP			
	H_o	H_e	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi</i> 1-13	0,333	0,318	-0,053	1,000
<i>Pauxi</i> 1-37	0,333	0,485	0,333	0,510
<i>Pauxi</i> 1-4	0,833	0,758	-0,111	0,920
<i>Pauxi</i> 2- 30	0,000	0,000	NA	NA
<i>Pauxi</i> 1-30	0,833	0,530	-0,667	1,000
<i>Pauxi</i> 3-1	0,667	0,727	0,091	0,290
<i>Pauxi</i> 2-19	0,667	0,652	-0,026	0,740
<i>Pauxi</i> 1-16	0,000	0,000	NA	NA

<i>Locus</i>	MZUSP			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi</i> 1-36	0,500	0,909	0,474	0,010
<i>Pauxi</i> 1-29	0,000	0,000	1	NA
Média	0,417	0,438	0,053	0,054
Desvio Padrão	0,335	0,342	0,246	0,383

A heterozigose média observada (H_O) para a população de cativoiro de Poços de Caldas (14 indivíduos) foi de 0,389 (amplitude: 0,000-0,857), enquanto a heterozigose média esperada (H_E) foi de 0,436 (amplitude: 0,00-0,854) (tabela 7). Para o *locus Pauxi* 1-16 é observado valores de heterozigose iguais a zero.

Table 7. Heterozigose observada (H_O), heterozigose esperada (H_E), índice de fixação (F_{IS}) e probabilidade de valores de F_{IS} diferirem significativamente de zero para déficit (P_D) para a população de cativoiro de *Crax fasciolata* presente do Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas (CCCPC – 14 indivíduos). Sendo NA quando não há dados para este parâmetro.

<i>Locus</i>	CCCPC			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi</i> 1-13	0,500	0,426	-0,182	1,000
<i>Pauxi</i> 1-37	0,071	0,198	0,649	0,110
<i>Pauxi</i> 1-4	0,857	0,854	-0,003	0,580
<i>Pauxi</i> 2- 30	0,286	0,254	-0,130	1,000
<i>Pauxi</i> 1-30	0,357	0,304	-0,182	1,000
<i>Pauxi</i> 3-1	0,643	0,659	0,025	0,376
<i>Pauxi</i> 2-19	0,714	0,709	-0,008	0,470
<i>Pauxi</i> 1-16	0,000	0,000	NA	NA
<i>Pauxi</i> 1-36	0,308	0,812	0,631	0,000
<i>Pauxi</i> 1-29	0,154	0,148	-0,043	1,000
Média	0,389	0,436	0,113	0,114
Desvio Padrão	0,284	0,301	0,324	0,403

A heterozigose média observada (H_O) para a população fundadora de Porto Primavera (19 indivíduos) foi de 0,422 (amplitude: 0,211-0,735), enquanto a heterozigose média esperada (H_E) foi de 0,487 (amplitude: 0,152-0,875) (tabela 8). Foi observado déficit significativo de heterozigotos para o *locus Pauxi* 1-36.

Table 8. Heterozigose observada (H_O), heterozigose esperada (H_E), índice de fixação (F_{IS}) e probabilidade de valores de F_{IS} diferirem significativamente de zero para déficit (P_D) para população matriz de *Crax fasciolata* originária de Porto Primavera e mantida na CESP Paraibuna (CESP matriz PP – 19 indivíduos).

<i>Locus</i>	CESP matriz PP			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi</i> 1-13	0,368	0,309	-0,200	1,000

<i>Locus</i>	CESP matriz PP			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi 1-37</i>	0,158	0,152	-0,038	1,000
<i>Pauxi 1-4</i>	0,737	0,825	0,110	0,200
<i>Pauxi 2- 30</i>	0,316	0,341	0,077	0,600
<i>Pauxi 1-30</i>	0,579	0,491	-0,186	0,900
<i>Pauxi 3-1</i>	0,526	0,582	0,098	0,050
<i>Pauxi 2-19</i>	0,737	0,684	-0,079	0,630
<i>Pauxi 1-16</i>	0,211	0,273	0,234	0,370
<i>Pauxi 1-36</i>	0,375	0,875	0,579	0,000
<i>Pauxi 1-29</i>	0,211	0,341	0,390	0,140
Média	0,422	0,487	0,138	0,139
Desvio Padrão	0,213	0,246	0,248	0,390

A heterozigose média observada (H_o) para a prole da população fundadora de Porto Primavera (26 indivíduos) foi de 0,408 (amplitude: 0,038-0,577), enquanto a heterozigose média esperada (H_e) foi de 0,437 (amplitude: 0,111-0,774) (tabela 9). Foi observado déficit significativo de heterozigotos para o *locus Pauxi 1-36*.

Table 9. Heterozigose observada (H_O), heterozigose esperada (H_E), índice de fixação (F_{IS}) e probabilidade de valores de F_{IS} diferirem significativamente de zero para déficit (P_D) para prole de *Crax fasciolata* advinda da matriz de Porto Primavera da CESP Paraibuna (CESP prole PP – 26 indivíduos).

<i>Locus</i>	CESP prole PP			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi 1-13</i>	0,462	0,362	-0,282	1,000
<i>Pauxi 1-37</i>	0,269	0,238	-0,136	1,000
<i>Pauxi 1-4</i>	0,731	0,774	0,057	0,080
<i>Pauxi 2- 30</i>	0,308	0,434	0,296	0,140
<i>Pauxi 1-30</i>	0,577	0,503	-0,150	0,880
<i>Pauxi 3-1</i>	0,577	0,562	-0,027	0,620
<i>Pauxi 2-19</i>	0,538	0,655	0,181	0,170
<i>Pauxi 1-16</i>	0,115	0,340	0,665	0,003
<i>Pauxi 1-36</i>	0,462	0,782	0,415	0,000
<i>Pauxi 1-29</i>	0,038	0,111	0,658	0,058
Média	0,408	0,476	0,146	0,147
Desvio Padrão	0,220	0,222	0,335	0,428

A heterozigose média observada (H_o) para os demais indivíduos da CESP Paraibuna (4 indivíduos, não sendo advindos de Porto Primavera, nem correspondentes a sua prole) foi de 0,240 (amplitude: 0,00-0,600), enquanto a heterozigose média esperada (H_e) foi de 0,420 (amplitude: 0,00-0,889) (tabela 10). É observado para os

locus Pauxi 1-37 e Pauxi 1-29 valores de heterozigose iguais a zero, indicando que para dado *locus* a população analisada apresenta único alelo em homozigose.

Table 10. Heterozigose observada (H_O), heterozigose esperada (H_E), índice de fixação (F_{IS}) e probabilidade de valores de F_{IS} diferirem significativamente de zero para déficit (P_D) para indivíduos restantes de *Crax fasciolata* da CESP Paraibuna, que não são advindos de Porto Primavera (CESP – 5 indivíduos). Sendo NA quando não há dados para o parâmetro.

<i>Locus</i>	CESP			
	H_O	H_E	F_{IS}	P_D
<i>Pauxi 1-13</i>	0,200	0,467	0,600	0,330
<i>Pauxi 1-37</i>	0,000	0,000	NA	NA
<i>Pauxi 1-4</i>	0,200	0,867	0,789	0,003
<i>Pauxi 2- 30</i>	0,200	0,200	0,000	NA
<i>Pauxi 1-30</i>	0,200	0,200	0,000	NA
<i>Pauxi 3-1</i>	0,600	0,556	-0,091	0,870
<i>Pauxi 2-19</i>	0,400	0,822	0,543	0,040
<i>Pauxi 1-16</i>	0,200	0,200	0,000	NA
<i>Pauxi 1-36</i>	0,400	0,889	0,579	0,010
<i>Pauxi 1-29</i>	0,000	0,000	NA	NA
Média	0,240	0,420	0,458	0,459
Desvio padrão	0,183	0,349	0,356	0,371

O número de alelos encontrado para cada *locus* dentro de cada população, bem como o número de alelos totais encontrados para cada *locus* são apresentados na Tabela 11. Nota-se que nenhuma população possui o número total de alelos observados para determinado *locus*, sendo que a população que apresenta o maior conjunto de alelos é a população composta pelos 19 indivíduos advindos de Porto Primavera, com número total de 40 alelos e uma riqueza alélica de 29,25 (desvio padrão de 1,17) e a população que apresenta um menor conjunto de alelos é a formada pelo restante dos indivíduos da CESP de Paraibuna, como já esperado sendo essa uma população de apenas 5 indivíduos, tendo um total de 27 alelos e uma riqueza alélica de 27,00 (desvio padrão de 1,70).

O *locus* que apresenta um maior número de alelos é o *Pauxi 1-36*, com 16 alelos, seguido pelo *Pauxi 1-4*, com 12 alelos. Os *loci* que apresentam um menor número de alelos são *Pauxi 1-16*, *1-29*, *1-30*, *2-30* e *3-1*, com dois alelos cada um.

Table 11. Número de alelos e Riqueza alélica para todos os loci nas diferentes populações de *Crax fasciolata* consideradas. Sendo MZ os 6 indivíduos coletados pelo Museu de Zoologia da USP, PC a população de 14 indivíduos mantidos no Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas, PP os 19 indivíduos advindos de Porto Primavera, que compõem as matrizes da CESP Paraibuna, PPP os 26 indivíduos que compõem a prole de Porto Primavera mantida na CESP Paraibuna e CE os 5 indivíduos também presentes na CESP Paraibuna, mas que não são originários de Porto Primavera nem compõem sua prole.

Locus	Número de alelos						Riqueza alélica (R_s)					
	Populações					Geral	Populações					Média
	MZ	PC	PP	PPP	CESP		MZ	PC	PP	PPP	CESP	
P1-4	6	8	8	8	5	12	5,31	5,62	4,63	5,32	5,00	5,38
P1- 13	3	4	2	2	2	4	2,66	2,80	1,94	1,90	2,00	2,31
P1- 16	1	1	2	2	2	2	1,00	1,00	1,92	1,86	2,00	1,76
P1- 29	1	2	2	2	1	2	1,00	1,63	1,48	1,93	1,00	1,64
P1- 30	2	2	2	2	2	2	2,00	1,91	1,99	1,99	2,00	1,98
P1- 36	7	8	11	7	6	16	6,45	5,27	4,70	6,23	6,00	5,94
P1- 37	2	2	3	2	1	3	2,00	1,75	1,79	1,72	1,00	1,82
P2- 19	4	4	5	4	4	6	3,80	3,53	3,08	3,76	4,00	3,53
P2- 30	1	2	2	2	2	2	1,00	1,85	1,98	1,93	2,00	1,91
P3- 1	5	4	3	3	2	5	4,50	3,25	2,47	2,61	2,00	3,08
Total	32	37	40	34	27	54	29,72	28,61	25,98	29,25	27,00	29,35
Média	3,2	3,7	4	3,4	2,7	5,4	2,97	2,86	2,59	2,92	2,70	2,93
DP*	2,20	2,49	3,12	2,27	1,70	4,83	1,95	1,56	1,17	1,63	1,70	1,56

*DP = Desvio Padrão

6.5. Ranking genético

Os indivíduos de *C. fasciolata* analisados foram organizados em um “ranking genético”, por meio da medida de r “relatedness” que estima o nível de parentesco dos indivíduos entre si, indicando os que seriam menos aparentados em média, considerando todos os demais analisados (tabela 12) e dentro de cada criadouro (tabelas 13, 14 e 15). As tabelas classificam de indivíduos menos aparentados (valores menores de r) para mais aparentados (valores maiores de r).

Table 12. Ranking genético de estimativa de parentesco médio de todo o plantel de *Crax fasciolata* (70 indivíduos).

Ranking	ID	Anilha	R	Criatório	Sexo
1 ^o	243	TOMBO 83733 (06)	0,05	MZUSP	
2 ^o	252	CPC73100	0,05	CCC Poços de Caldas	M
3 ^o	261	SEM ANILHA (VIVEIRO 288)	0,06	CCC Poços de Caldas	F
4 ^o	310	V 00555	0,06	CESP Paraibuna	M
5 ^o	240	SEM TOMBO (03) CRAXBASIL 05/12/90 F10	0,07	MZUSP	
6 ^o	250	CASAL05	0,07	CCC Poços de Caldas	M
7 ^o	270	V 00584	0,07	CESP Paraibuna	M
8 ^o	279	V 00573	0,07	CESP Paraibuna	F
9 ^o	280	V 00562	0,07	CESP Paraibuna	M
10 ^o	303	V 00545	0,07	CESP Paraibuna	F
11 ^o	311	V 00565	0,07	CESP Paraibuna	F
12 ^o	216	CPC 325	0,08	CCC Poços de Caldas	
13 ^o	241	SEM TOMBO (04)	0,08	MZUSP	
14 ^o	242	SEM TOMBO (05)	0,08	MZUSP	
15 ^o	254	CPC1206	0,08	CCC Poços de Caldas	M
16 ^o	259	CPC1323	0,08	CCC Poços de Caldas	F
17 ^o	260	CRAX9509	0,08	CCC Poços de Caldas	M
18 ^o	262	TOMBO 81980	0,08	MZUSP	
19 ^o	299	V 00515	0,08	CESP Paraibuna	F
20 ^o	309	sem anilha	0,08	CESP Paraibuna	F
21 ^o	400	sem tombo	0,08	MZUSP	M
22 ^o	253	CPC177	0,09	CCC Poços de Caldas	F
23 ^o	276	V 00582	0,09	CESP Paraibuna	M
24 ^o	277	3	0,09	CESP Paraibuna	F
25 ^o	301	V 00537	0,09	CESP Paraibuna	F
26 ^o	302	V 00534	0,09	CESP Paraibuna	M
27 ^o	304	V 00576	0,09	CESP Paraibuna	M
28 ^o	316	V 00536	0,09	CESP Paraibuna	M
29 ^o	251	CPC1272	0,1	CCC Poços de Caldas	F
30 ^o	255	CPC72400	0,1	CCC Poços de Caldas	F
31 ^o	256	CPC178	0,1	CCC Poços de Caldas	M
32 ^o	257	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	0,1	CCC Poços de Caldas	F
33 ^o	269	21955	0,1	CESP Paraibuna	F
34 ^o	271	V 00559	0,1	CESP Paraibuna	F
35 ^o	273	21719	0,1	CESP Paraibuna	F
36 ^o	281	V 00575	0,1	CESP Paraibuna	F
37 ^o	291	V 00554	0,1	CESP Paraibuna	F
38 ^o	258	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	0,11	CCC Poços de Caldas	M
39 ^o	268	V 00590	0,11	CESP Paraibuna	M
40 ^o	275	5	0,11	CESP Paraibuna	F
41 ^o	287	V 00567	0,11	CESP Paraibuna	F
42 ^o	294	V 00563	0,11	CESP Paraibuna	M

Ranking	ID	Anilha	R	Criatório	Sexo
43 ^o	295	V 00527	0,11	CESP Paraibuna	F
44 ^o	313	V 00538	0,11	CESP Paraibuna	F
45 ^o	317	V 00543	0,11	CESP Paraibuna	F
46 ^o	282	V 00548	0,12	CESP Paraibuna	M
47 ^o	284	V 00516	0,12	CESP Paraibuna	M
48 ^o	293	V 00525	0,12	CESP Paraibuna	F
49 ^o	297	V 00544	0,12	CESP Paraibuna	F
50 ^o	300	V 00518	0,12	CESP Paraibuna	M
51 ^o	314	V 00574	0,12	CESP Paraibuna	M
52 ^o	315	V 00557	0,12	CESP Paraibuna	F
53 ^o	285	V 00521	0,13	CESP Paraibuna	F
54 ^o	290	2	0,13	CESP Paraibuna	M
55 ^o	308	V 00522	0,13	CESP Paraibuna	M
56 ^o	306	V 00524	0,14	CESP Paraibuna	M
57 ^o	307	V 00523	0,14	CESP Paraibuna	F
58 ^o	312	V 00579	0,14	CESP Paraibuna	M
59 ^o	283	V 00566	0,15	CESP Paraibuna	F
60 ^o	292	1	0,15	CESP Paraibuna	M
61 ^o	296	V 00533	0,15	CESP Paraibuna	M
62 ^o	305	V 00571	0,15	CESP Paraibuna	F
63 ^o	272	V 00531	0,16	CESP Paraibuna	M
64 ^o	286	21419	0,16	CESP Paraibuna	M
65 ^o	289	V 00541	0,16	CESP Paraibuna	F
66 ^o	298	V 00542	0,16	CESP Paraibuna	M
67 ^o	274	V 00532	0,17	CESP Paraibuna	M
68 ^o	278	4	0,17	CESP Paraibuna	M
69 ^o	249	0495 ZMO	0,18	CCC Poços de Caldas	F
70 ^o	288	V 00568	0,18	CESP Paraibuna	M

Os indivíduos que apresentaram menor relação de parentesco na análise geral, através dessa métrica foram, respectivamente: 243 (coletado pelo MZUSP, com r de 0,05), 252 e 261 (presentes no CCCPC, com r de 0,05 e 0,06, respectivamente) e 310 (presente na CESP Paraibuna, com r de 0,06), enquanto que os indivíduos mais aparentados em média, segundo a análise, foram: 274 e 278 (presente na CESP Paraibuna, com r de 0,17), 249 (presente no CCCPC, com r de 0,18) e 288 (presente na CESP Paraibuna, com r de 0,18). A seguir apresentam-se os *rankings* de estimativa de parentesco médio para cada população analisada (Tabelas 13, 14 e 15.).

Table 13. Ranking genético de estimativa de parentesco médio para os indivíduos de *Crax fasciolata* mantidos na CESP Paraibuna (50 indivíduos).

Ranking	ID	Anilha	r	Criatório	Sexo
1 º	310	V 00555	0,06	CESP Paraibuna	M
2 º	270	V 00584	0,07	CESP Paraibuna	M
3 º	279	V 00573	0,07	CESP Paraibuna	F
4 º	280	V 00562	0,07	CESP Paraibuna	M
5 º	303	V 00545	0,07	CESP Paraibuna	F
6 º	311	V 00565	0,07	CESP Paraibuna	F
7 º	299	V 00515	0,08	CESP Paraibuna	F
		sem			
8 º	309	anilha	0,08	CESP Paraibuna	F
9 º	276	V 00582	0,09	CESP Paraibuna	M
10 º	277	3	0,09	CESP Paraibuna	F
11 º	301	V 00537	0,09	CESP Paraibuna	F
12 º	302	V 00534	0,09	CESP Paraibuna	M
13 º	304	V 00576	0,09	CESP Paraibuna	M
14 º	316	V 00536	0,09	CESP Paraibuna	M
15 º	269	21955	0,1	CESP Paraibuna	F
16 º	271	V 00559	0,1	CESP Paraibuna	F
17 º	273	21719	0,1	CESP Paraibuna	F
18 º	281	V 00575	0,1	CESP Paraibuna	F
19 º	291	V 00554	0,1	CESP Paraibuna	F
20 º	268	V 00590	0,11	CESP Paraibuna	M
21 º	275	5	0,11	CESP Paraibuna	F
22 º	287	V 00567	0,11	CESP Paraibuna	F
23 º	294	V 00563	0,11	CESP Paraibuna	M
24 º	295	V 00527	0,11	CESP Paraibuna	F
25 º	313	V 00538	0,11	CESP Paraibuna	F
26 º	317	V 00543	0,11	CESP Paraibuna	F
27 º	282	V 00548	0,12	CESP Paraibuna	M
28 º	284	V 00516	0,12	CESP Paraibuna	M
29 º	293	V 00525	0,12	CESP Paraibuna	F
30 º	297	V 00544	0,12	CESP Paraibuna	F
31 º	300	V 00518	0,12	CESP Paraibuna	M
32 º	314	V 00574	0,12	CESP Paraibuna	M
33 º	315	V 00557	0,12	CESP Paraibuna	F
34 º	285	V 00521	0,13	CESP Paraibuna	F
35 º	290	2	0,13	CESP Paraibuna	M
36 º	308	V 00522	0,13	CESP Paraibuna	M
37 º	306	V 00524	0,14	CESP Paraibuna	M
38 º	307	V 00523	0,14	CESP Paraibuna	F
39 º	312	V 00579	0,14	CESP Paraibuna	M
40 º	283	V 00566	0,15	CESP Paraibuna	F
41 º	292	1	0,15	CESP Paraibuna	M

Ranking	ID	Anilha	r	Criatório	Sexo
42 ^o	296	V 00533	0,15	CESP Paraibuna	M
43 ^o	305	V 00571	0,15	CESP Paraibuna	F
44 ^o	272	V 00531	0,16	CESP Paraibuna	M
45 ^o	286	21419	0,16	CESP Paraibuna	M
46 ^o	289	V 00541	0,16	CESP Paraibuna	F
47 ^o	298	V 00542	0,16	CESP Paraibuna	M
48 ^o	274	V 00532	0,17	CESP Paraibuna	M
49 ^o	278	4	0,17	CESP Paraibuna	M
50 ^o	288	V 00568	0,18	CESP Paraibuna	M

Table 14. Ranking genético de estimativa de parentesco médio para os indivíduos de *Crax fasciolata* mantidos no Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas (14 indivíduos).

Ranking	ID	Anilha	R	Criatório	Sexo
1 ^o	252	CPC73100	0,05	CCC Poços de Caldas	M
2 ^o	261	SEM ANILHA (VIVEIRO 288) CRAXBRAZIL 05/12/90 F10	0,06	CCC Poços de Caldas	F
3 ^o	250	CASAL05	0,07	CCC Poços de Caldas	M
4 ^o	216	CPC 325	0,08	CCC Poços de Caldas	
5 ^o	254	CPC1206	0,08	CCC Poços de Caldas	M
6 ^o	259	CPC1323	0,08	CCC Poços de Caldas	F
7 ^o	260	CRAX9509	0,08	CCC Poços de Caldas	M
8 ^o	253	CPC177	0,09	CCC Poços de Caldas	F
9 ^o	251	CPC1272	0,1	CCC Poços de Caldas	F
10 ^o	255	CPC72400	0,1	CCC Poços de Caldas	F
11 ^o	256	CPC178	0,1	CCC Poços de Caldas	M
12 ^o	257	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	0,1	CCC Poços de Caldas	F
13 ^o	258	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	0,11	CCC Poços de Caldas	M
14 ^o	249	0495 ZMO	0,18	CCC Poços de Caldas	F

Table 15. Ranking genético de estimativa de parentesco médio para os indivíduos de *Crax fasciolata* coletados pelo Museu de Zoologia da USP (6 indivíduos).

Ranking	ID	Anilha	r	Criatório
		TOMBO 83733		
1 ^o	243	(06)	0,05	MZUSP
2 ^o	240	sem tombo (03)	0,07	MZUSP
3 ^o	241	sem tombo (04)	0,08	MZUSP
4 ^o	242	sem tombo (05)	0,08	MZUSP
5 ^o	262	TOMBO 81980	0,08	MZUSP
6 ^o	400	sem tombo	0,08	MZUSP

Sendo os indivíduos menos aparentados, para cada população, o 310 (*r* de 0,06, macho) para CESP Paraibuna, 252 (*r* de 0,05, macho) para Poços de Caldas e 243 (*r* de

0,05) para o MZUSP, e os mais aparentados o 288 (r de 0,18, macho) para CESP Paraibuna, 249 (r de 0,18, fêmea) para Poços de Caldas e 241, 242, 262 e 400 (r de 0,08) para o MZUSP.

6.6. Paternidade

Para população da CESP Paraibuna foi feita uma atribuição de filhotes as matrizes conhecidas, a fim de se identificar os casais que estavam melhor se reproduzindo e auxiliar nos pareamentos, por meio de uma análise dos alelos presentes em cada filhote, para o conjunto de *loci* analisados, comparando-se com os alelos presentes nos dez casais analisados. Para tanto definiu-se uma ordem de início para os *loci*, iniciando-se dos *locus* menos variados (com menor número de alelos e que abrangiam maiores possibilidade de progenitores para cada filhote) para os mais variados (com maior número de alelos e que abrangiam menor possibilidades de casais para progenitores).

A tabela 16 apresenta os filhotes e os prováveis progenitores, com os *loci* utilizados para determinação. A ordem de eliminação de prováveis casais foi do *locus* *Pauxi* 1-16, *Pauxi* 1-19, *Pauxi* 1-30, *Pauxi* 1-16, *Pauxi* 3-1, *Pauxi* 2-30, *Pauxi* 2-19, *Pauxi* 1-36, *Pauxi* 1-37 e *Pauxi* 1-4.

Table 16. Análise de Paternidade para a população de *Crax fasciolata* mantida no Criatório da CESP Paraibuna, considerando também as matrizes advindas de Porto Primavera, para um conjunto de 10 *loci* (total de 10 casais e 26 filhotes).

Anilha Filhote	Viveiro	Anilha Provável Casal	Viveiro Casal
V 00590	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
21955	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
V 00531	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
21719	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀ ou V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J8 ou J3
V 00532	CESP – PS5	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3

Anilha Filhote	Viveiro	Anilha Provável Casal	Viveiro Casal
Provisória 5	CESP – PS5	V 00574 ♂/ V 00557 ♀	CESP – J2
V 00582	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
Provisória 3	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
Provisória 4	CESP – PS5	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3
V 00573	CESP – PS5	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3
V 00575	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
V 00548	CESP – PS5	V 00524 ♂/ V 00523 ♀	CESP – J6
V 00566	CESP – PS4	V 00576 ♂/ V 00571 ♀ ou	CESP – J7 ou J3
V 00516	CESP – PS5	V 00579 ♂/ V 00538 ♀ V 00574 ♂/ V 00557 ♀	CESP – J2
21419	CESP – PS4	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3
V 00567	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
V 00568	CESP – PS5	V 00576 ♂/ V 00571 ♀ ou	CESP – J7 ou J4
V 00541	CESP – PS4	V 00555 ♂/ V 00565 ♀ V 00576 ♂/ V 00571 ♀	CESP – J7
Provisória 2	CESP – PS5	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8
V 00554	CESP – PS4	V 00574 ♂/ V 00557 ♀	CESP – J2
Provisória 1	CESP – PS5	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3
V 00525	CESP – PS4	V 00576 ♂/ V 00571 ♀	CESP – J7
V 00563	CESP – PS4	V 00574 ♂/ V 00557 ♀	CESP – J2
V 00527	CESP – PS4	V 00518 ♂/ V 00537 ♀	CESP – J9
V 00533	CESP – PS4	V 00579 ♂/ V 00538 ♀	CESP – J3

Anilha Filhote	Viveiro	Anilha Provável Casal	Viveiro Casal
V 00544	CESP – PS4	V 00534 ♂/ V 00545 ♀	CESP – J8

6.7. Acasalamentos e Reintrodução

O cálculo de $(1-P_S)$ permitiu estabelecer uma relação par a par entre os indivíduos analisados segundo sua proporção de alelos compartilhados com os demais indivíduos. Com isso é possível se indicar como estão os níveis de similaridade genética entre os casais reprodutores (pareados no momento da coleta de sangue), sugerindo melhores acasalamentos. A tabela geral de acasalamentos (Anexo 2) considera indivíduos dos criatórios de Poços de Caldas e da CESP Paraibuna. Tabelas específicas para cada criatório estão disponíveis abaixo (Anexo 3 e 4). Nessa métrica a classificação ocorre dos valores maiores (pares mais distantes geneticamente) para os menores (pares mais próximos geneticamente).

Os casais já pareados da CESP Paraibuna (10 matrizes) possuem valores de $(1-P_S)$ baixos, podendo ser re-pareados a fim de se aumentar a variabilidade presente no criatório. Os dois melhores machos, que apresentam valores de $(1-P_S)$ elevados com diferentes fêmeas são o 268 e 294. O número mínimo de casais indicados para manter a variabilidade genética geral seria 11 casais, o número mínimo para se manter a variação genética tida no CCCPC seria 5 casais e o número mínimo para se manter a variação genética na CESP Paraibuna seria 10 casais.

Na tabela 17 estão apresentados os alelos raros encontrados em cada população, valendo lembrar que para o objetivo de reintrodução os indivíduos do MZUSP não podem ser incluídos, uma vez que foram abatidos para compor a coleção do Museu de Zoologia e os indivíduos que correspondem às populações PP, PPP e CE estão todos mantidos na CESP Paraibuna. Nota-se na tabela que nem todos os alelos considerados raros em dada população são raros para as demais populações, sendo que a maioria dos alelos (destacados em verde) é rara apenas nas populações citadas, mas ocorre em uma frequência maior em demais populações, que poderiam, portanto, ceder indivíduos para reintrodução. Apenas os alelos destacados em laranja são raros nas populações citadas e

não ocorrem nas demais populações, sendo, portanto, indispensável em um primeiro momento manter esses indivíduos listados em ambiente cativo.

Table 17. Alelos raros por população (0%<frequência>10%) por locus e indivíduos de *Crax fasciolata* portadores destes alelos. Sendo os alelos na coloração verde aqueles que aparecem em baixa frequência para uma população, mas são abundantes em outras e em coloração verde aqueles que aparecem em baixa frequência para uma população, mas são abundantes em outras e em coloração laranja aqueles que aparecem em baixa frequência para as populações citadas e não ocorrem em outras populações. Na tabela MZUSP representa os 6 indivíduos do Museu de Zoologia da USP, CCCPC representa os 14 indivíduos do Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas, PP os 19 indivíduos advindos de Porto Primavera e mantidos atualmente na CESP Paraibuna, PPP os 26 indivíduos que compõem a prole de Porto Primavera mantida na CESP Paraibuna e CE os 5 indivíduos de localidades adversas que também compõem as matrizes da CESP Paraibuna.

Locus	Alelo	Frequência	Indivíduos	População
P 1-13	139	8,33	400	MZUSP
	147	8,33	243	MZUSP
		3,57	261	CCCPC
P 1-37	151	7,14	250-252	CCCPC
	162	5,26	280-300	PP
P 1-4	179	2,63	317	PP
	190	8,33	243	MZUSP
		5,26	308	PP
		7,69	284-290-291	PPP
	198	8,33	262	MZUSP
	202	7,14	252-261	CCPC
		5,26	280-302	PP
		3,85	282	PPP
	214	3,57	250	CCCPC
	218	8,33	400	MZUSP
	222	3,57	249	CCCPC
P 3-1	226	8,33	241	MZUSP
		5,77	269-279-293	PPP
	234	7,89	300-305-315	PP
		1,92	293	PPP
	166	8,33	400	MZUSP
P 2-19	172	7,89	280-306	PP
		5,77	275-289-281-	PPP
	176	8,33	240	MZUSP
P 1-36	184	8,33	242	MZUSP
		3,57	252	CCCPC
	181	7,14	250-260	CCCPC
		5,26	298-308	PP
		1,92	290	PPP
P 1-36	185	5,26	316	PP
	191	8,33	243	MZUSP
	289	3,13	304	PP
	301	3,85	249	CCCPC
	8,33	400	MZUSP	

	309	3,85 3,13	259 300	CCCPC PP
	313	7,69 3,85	253 279	CCCPC PPP
	321	8,33 7,69 9,38	262 254-256 285-311	MZUSP CCCPC PP
	325	7,69 1,92	261 292	CCCPC PPP
	329	7,69 3,13	252 272	CCCPC PP
	333	6,25 10	308 312	PP CE
	341	8,33	240	MZUSP
	351	3,13	306	PP
	355	3,13	285	PP
	373	10	310	CE
	377	10	310	CE
P 1-29	119	7,69 5,77	250-256 276-295	CCCPC PPP

Uma tabela de heterozigose individual (MLH) foi confeccionada para todos os indivíduos de *Crax fasciolata* com o intuito de apontar os animais aptos para a reintrodução (Tabela 18). Neste momento os critérios utilizados para a escolha foram: indivíduos que apresentem um nível de heterozigose satisfatório em que o valor mínimo foi 0,5 (Witzenberger & Hochkirch, 2011) e os animais que não contenham alelos que sejam raros em suas populações de origem (frequência menor que 10%), os indivíduos com valores acima de 0,75 de MLH também foram excluídos por serem importantes para a reprodução. Além disso, indivíduos pareados foram desconsiderados. Os indivíduos coletados pelo MZUSP não constam na tabela por não haver possibilidade de serem reintroduzidos. Deste modo, com os critérios selecionados para esta fase, em que ainda não há um protocolo de reintrodução definido, foram identificados 10 indivíduos aptos a reintrodução, oriundos da população da CESP – Paraibuna.

Table 18. Ranking de heterozigose individual (MLH) indicando os indivíduos de *Crax fasciolata* aptos para a reintrodução. Sendo ID a identificação que os indivíduos receberam no laboratório, CCCPC o Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas (14 indivíduo), PP – CESP indivíduos pertencentes a população advinda de Porto Primavera mantida atualmente na CESP (19 indivíduos), PPP – CESP indivíduos considerados a prole de Porto Primavera nascida em cativeiro e mantida na CESP (26 indivíduos), CE – CESP restante dos indivíduos que compõem a população da CESP (5 indivíduos), Pareado indivíduos que se encontram pareados no momento atual, Baixo MLH indivíduos com valores de MLH inferior a 0,5 e P.A.R. indivíduos portadores de alelos raros.

Ranking	ID	MLH	Sexo	Anilha	Criatório	Viveiro	Situação no Momento da coleta	Decisão	Motivo
1 °	302	0,8	M	V 00534	PP - CESP	J8	Pareado	INAPTO	Pareado - P.A.R
2 °	280	0,7	M	V 00562	PP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	P.A.R
3 °	304	0,7	M	V 00576	PP - CESP	J7	Pareado	INAPTO	Pareado - P.A.R
4 °	314	0,7	M	V 00574	PP - CESP	J2	Pareado	INAPTO	Pareado
5 °	252	0,6		CPC73100	CCCPC			INAPTO	P.A.R
6 °	268	0,6	M	V 00590	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
7 °	272	0,6	M	V 00531	PP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
8 °	288	0,6	M	V 00568	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
9 °	303	0,6	F	V 00545	PP - CESP	J8	Pareado	INAPTO	Pareado
10 °	249	0,5		0495 ZMO	CCCPC		Pareado	INAPTO	Pareado
11 °	250	0,5	M	CRAXBRASIL 05/12/90 F10 CASAL05	CCCPC		macho com fêmea <i>grayi</i> (Crax Brasil 05/12/90 - filhote 10 casal 05	INAPTO	P.A.R
12 °	254	0,5		CPC1206	CCCPC		Pareado	INAPTO	Pareado
13 °	255	0,5		CPC72400	CCCPC		Pareado	INAPTO	Pareado
14 °	274	0,5	M	V 00532	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
15 °	275	0,5	F	5	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
16 °	276	0,5	M	V 00582	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
17 °	278	0,5	M	4	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
18 °	279	0,5	F	V 00573	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
19 °	284	0,5	M	V 00516	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	APTO	-
20 °	291	0,5	F	V 00554	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	APTO	-
21 °	300	0,5	M	V 00518	PP - CESP	J9	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH - P.A.R

Ranking	ID	MLH	Sexo	Anilha	Criatório	Viveiro	Situação no Momento da coleta	Decisão	Motivo
22 °	312	0,5	M	V 00579	CE - CESP	J3	Pareado	INAPTO	Pareado - P.A.R
23 °	253	0,4		CPC177	CCCPC			INAPTO	Baixo MLH
24 °	256	0,4		CPC178	CCCPC			INAPTO	Baixo MLH
25 °	261	0,4	F	SEM ANILHA (VIVEIRO 288)	CCCPC		fêmea sem anilha	INAPTO	Baixo MLH - P.A.R
26 °	270	0,4	M	V 00584	PP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
27 °	271	0,4	F	V 00559	PP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
28 °	273	0,4	F	21719	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
29 °	277	0,4	F	3	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
30 °	286	0,4	M	21419	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
31 °	290	0,4	M	2	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
32 °	292	0,4	M	1	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH - P.A.R
33 °	293	0,4	F	V 00525	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH - P.A.R
34 °	296	0,4	M	V 00533	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
35 °	316	0,4	M	V 00536	PP - CESP	J1	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH - P.A.R
36 °	251	0,3		CPC1272	CCCPC			INAPTO	Baixo MLH
37 °	258	0,3	M	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	CCCPC		macho sem anilha	INAPTO	Baixo MLH
38 °	269	0,3	F	21955	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
39 °	281	0,3	F	V 00575	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
40 °	282	0,3	M	V 00548	PPP - CESP	PS5	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH - P.A.R.
41 °	283	0,3	F	V 00566	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
42 °	285	0,3	F	V 00521	PP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH - P.A.R.

Ranking	ID	MLH	Sexo	Anilha	Criatório	Viveiro	Situação no Momento da coleta	Decisão	Motivo
43 °	287	0,3	F	V 00567	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
44 °	289	0,3	F	V 00541	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
45 °	294	0,3	M	V 00563	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
46 °	298	0,3	M	V 00542	PP - CESP	J10	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
47 °	301	0,3	F	V 00537	PP - CESP	J9	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
48 °	305	0,3	F	V 00571	PP - CESP	J7	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH - P.A.R
49 °	306	0,3	M	V 00524	PP - CESP	J6	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
50 °	307	0,3	F	V 00523	PP - CESP	J6	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
51 °	308	0,3	M	V 00522	PP - CESP	J5	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH - P.A.R
52 °	311	0,3	F	V 00565	PP - CESP	J4	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
53 °	317	0,3	F	V 00543	PP - CESP	J1	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
54 °	216	0,2		CPC 325	CCCPC			INAPTO	Baixo MLH
55 °	257	0,2	F	SEM ANILHA (VIVEIRO 283)	CCCPC		fêmea sem anilha, provavelmente com chip	INAPTO	Baixo MLH
56 °	259	0,2		CPC1323	CCCPC		provável <i>pinima</i>	INAPTO	Baixo MLH
57 °	260	0,2		CRAX9509	CCCPC			INAPTO	Baixo MLH
58 °	295	0,2	F	V 00527	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
59 °	309	0,2	F	sem anilha	CE - CESP	J5	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
60 °	310	0,2	M	V 00555	CE - CESP	J4	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH

Ranking	ID	MLH	Sexo	Anilha	Criatório	Viveiro	Situação no Momento da coleta	Decisão	Motivo
61 °	313	0,2	F	V 00538	CE - CESP	J3	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
62 °	297	0,1	F	V 00544	PPP - CESP	PS4	viveiro pré-soltura	INAPTO	Baixo MLH
63 °	299	0,1	F	V 00515	CE - CESP	J10	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH
64 °	315	0,1	F	V 00557	PP - CESP	J2	Pareado	INAPTO	Pareado - Baixo MLH - P.A.R

6.8. Comparação entre populações de *Crax fasciolata*

Não houve diferença significativa entre os valores quanto a comparação pelo teste de Mann-Whitney, tanto considerando a População de Porto Primavera e sua Prole, quanto com a população de Porto Primavera com a de Poços de Caldas e os indivíduos do MZUSP, além de qualquer outra comparação entre as populações analisadas (Tabela 19).

Table 19. Teste de Main- Witney para comparação de valores de H_e e riqueza alélica, para os indivíduos de *Crax fasciolata* coletados pelo Museu de Zoologia da USP (MZ – 6 indivíduos), população de cativoiro presente do Criadouro Científico e Cultural de Poços de Caldas (PC – 14 indivíduos), população matriz originária de Porto Primavera e mantida na CESP Paraibuna (CESP matriz PP – 19 indivíduos), prole advinda da matriz de Porto Primavera da CESP Paraibuna (CESP prole PPP – 26 indivíduos) e indivíduos restantes da CESP Paraibuna, que não são advindos de Porto Primavera (CE – 5 indivíduos).

Populações	Heterozigose esperada (H_E)	Riqueza alélica (R_s)
PP x PPP	U= 49; $P= 0,93$	U= 51,5; $P= 0,90$
PP x PC	U= 41; $P= 0,49$	U= 49; $P= 0,93$
PP x MZ	U= 47; $P= 0,82$	U= 55; $P= 0,70$
PP x CE	U= 41; $P= 0,49$	U= 58; $P= 0,54$
PPP x PC	U= 54; $P= 0,76$	U= 43; $P= 0,59$
PPP x MZ	U= 46; $P= 0,76$	U= 53; $P= 0,82$
PPP x CE	U= 44; $P= 0,65$	U= 55; $P= 0,70$
PC x MZ	U= 50,5; $P= 0,96$	U= 51,5; $P= 0,90$
PC x CE	U= 51; $P= 0,93$	U= 52; $P= 0,87$
MZ x CE	U= 49; $P= 0,93$	U= 47; $P= 0,82$

6.9. Comparações entre espécies de cracídeos

A população formada por 19 indivíduos de *C. fasciolata* advindos de Porto Primavera ($H_e=0,48$; $R_s= 2,47$) foi comparada com dados existentes na literatura para as populações de cativeiro de *A. jacutinga* (total de 146 indivíduos) ($H_e=0,54$; $R_s= 3,10$) (Oliveira Junior, 2012), *P. tuberosa* (total de 21 indivíduos) ($H_e=0,56$; $R_s= 3,62$), *P. mitu* (total de 55 indivíduos) ($H_e=0,36$; $R_s= 2,32$) (Davanço, 2012) e *C. globulosa* (total de 23 indivíduos) ($H_e=0,72$; $R_s= 5,70$) (Hughes & Larson, 2000). Não houve diferença significativa nas comparações estatísticas (Tabela 20).

Table 20. Valores do teste de Mann-Whitney e seus respectivos valores de P para as comparações pareadas entre a população de *Crax fasciolata* advinda de Porto Primavera (19 indivíduos) e populações de demais cracídeos mantidos em cativeiro (respectivamente *Aburria jacutinga*, *Pauxi tuberosa* e *Pauxi mitu*) H_e e riqueza alélica, comparando-se a população fundadora de Porto Primavera com três outros cracídeos ameaçados de extinção

Espécies comparadas	Heterozigose esperada (H_e)	Riqueza alélica (R_s)
<i>C. fasciolata</i> x <i>A. jacutinga</i>	U=36, $P=0.462$	U=42, $P=0.806$
<i>C. fasciolata</i> x <i>P. tuberosa</i>	U=46, $P=0.562$	U=36.5, $P=0.193$
<i>C. fasciolata</i> x <i>P. mitu</i>	U=46, $P=0.526$	U=52, $P=0.598$

6.10. Comparações entre espécies ameaçadas

A partir de dados existentes na literatura, foram realizadas comparações entre a heterozigose esperada (H_E) e número de alelos (A) entre a população de Porto Primavera presente na CESP Paraibuna (19 indivíduos – valores médios de $H_E = 0,48$; $A = 4$) e populações que passaram por um conhecido gargalo populacional.

Foram comparadas com a população estudada por Wisely *et al.* (2003) de *Mustela nigripes*, furão de pés negros, que teve um efeito fundador de 7 indivíduos e atualmente possui um total de 194 entre indivíduos de cativeiro, reintroduzidos e nascidos na natureza após a reintrodução ($H_E = 0,38$ e $A = 2$), utilizando-se cinco *loci* polimórficos de microssatélites. Além dessa comparação, foi comparada com a

população de *Grus americana*, grou americano, que teve um conhecido gargalo de 21 indivíduos no ano de 1941, sendo que toda a população existente descende desses indivíduos (Jones *et al.*, 2010). No trabalho foram analisado, com 14 *loci* polimórficos de microssatélite, 45 indivíduos de cativeiro ($HE = 0,48$ e $A = 3,79$). Uma terceira comparação foi feita com o *Oryx leucoryx*, órix da Arábia, que foi quase lavado a extinção nos anos 60 devido a caça, sendo os últimos animais capturados em 1962 e levados ao cativeiro para se iniciar um programa de reprodução com 10 fundadores (Frankham *et al.*, 2004). Um estudo com sete *loci* polimórficos de microssatélite foi realizado por Arif *et al.* (2004), utilizando-se um total de 24 indivíduos de órix da Arábia ($HE = 0,56$ e $A = 3$) (Tabela 21). Nenhum valor, no entanto, foi significativo.

Table 21. Valores do teste de Mann-Whitney e seus respectivos valores de P para as comparações pareadas entre a população de *Crax fasciolata* advinda de Porto Primavera (19 indivíduos) e populações de demais espécies ameaçadas (respectivamente *Mustela nigripes* – 194 indivíduos, *Grus americana* – 45 indivíduos e *Oryx leucoryx* – 24 indivíduos) He e número de alelos, comparando-se a população fundadora de Porto Primavera com três outras espécies ameaçadas de extinção.

Espécies comparadas	Heterozigose esperada (He)	Número de alelos (A)
<i>C. fasciolata</i> x <i>M. nigripes</i>	U=29, P=0,62	U=37,5, P=0,12
<i>C. fasciolata</i> x <i>G. americana</i>	U=72, P=0,90	U=81, P=0,51
<i>C. fasciolata</i> x <i>O. leucoryx</i>	U=26,5, P=0,40	U=33, P=0,84

6.11. Análise de Viabilidade Populacional

6.11.1. Taxas de reprodução e Manejo genético

O parâmetro porcentagem de fêmeas e machos em idade reprodutiva considerou a análise de paternidade realizada para a população da CESP Paraibuna, que apontou 7 dos 10 casais se reproduzindo. Sendo assim, a população total de mutum-de-penacho presente nesse criadouro é de 50 indivíduos (considerando uma razão sexual de 50% e que atualmente todos estariam aptos a reprodução), dos quais 20 teoricamente estariam se reproduzindo, no entanto apenas 14 efetivamente se reproduziram e geraram descendentes, ou seja, 28% de fêmeas e 28% de machos.

Quanto à distribuição de ninhadas considerou-se que 26 indivíduos são a população que compõe a prole do criadouro, ou seja, considerando que cada ninhada teoricamente gera 2 filhotes, ao longo dos anos ocorreram 13 ninhadas. Uma vez que não se tem disponível dados reprodutivos desse criadouro, o período de anos a ser considerado vai de 2000 a 2012, uma vez que a população foi resgatada em 1999 e os dados foram coletados no ano de 2012. Assim, seria uma ninhada ao ano (13 ninhadas no total e 12 anos considerados) e, portanto, a distribuição de ninhadas por casal igual a 14,3% (uma ninhada e sete casais efetivamente se reproduzindo) e, portanto, a porcentagem de casais sem ninhadas por ano igual a 85,7%.

Para os valores de manejo genético foi considerado a frequência alélica obtida respectivamente para cada população, CCCPC e CESP Paraibuna, segundo o formato de entrada exigido pelo programa.

6.11.2. Análise de Viabilidade das populações

Ambas as simulações obtiveram probabilidade de extinção de 100%, sendo que a população da CESP teria uma probabilidade de extinção em torno dos 25 anos e a população de CCCPC uma probabilidade de extinção em torno dos 80 anos. Esta diferença se deve por se considerar que a CCCPC só está representada por suas matrizes, ou seja, dos 14 indivíduos amostrados os 14 têm possibilidade de reprodução e 70% efetivamente se reproduzem (com base na população da CESP que de 10 matrizes apenas 7 se reproduzem), dado que pode influenciar uma permanência ao longo dos anos maior. No entanto, ambas as populações são extintas, como apresentadas nas figuras 10 e 11.

Final statistics: $r = -0,289$, $SD(r) = 0,197$, $PE = 1,00$, $N = 0$, $H = 0$

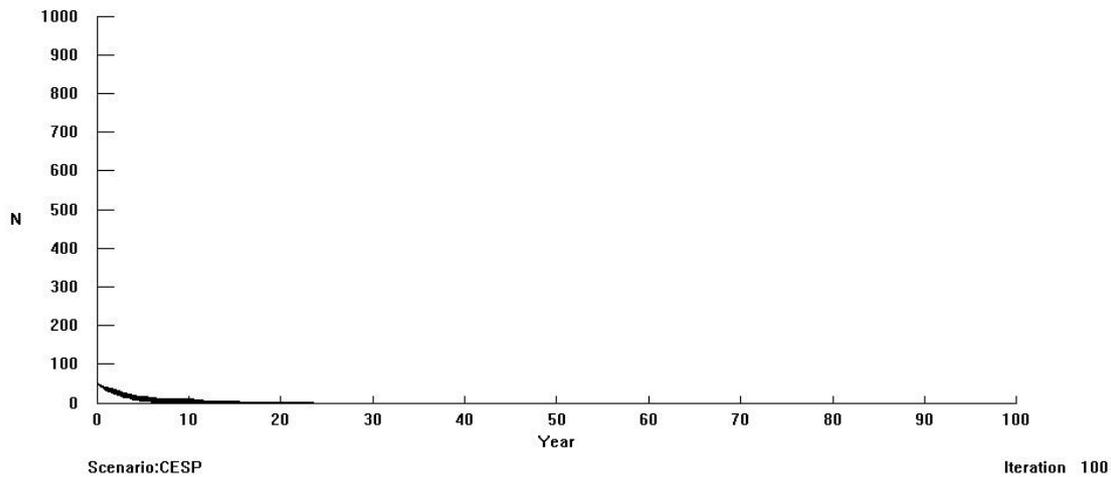


Figura 10. Análise de Viabilidade da população de 50 indivíduos de *Crax fasciolata* mantido na CESP Paraibuna, com probabilidade de extinção de 100% nos primeiros 25 anos.

Final statistics: $r = -0,059$, $SD(r) = 0,157$, $PE = 1,00$, $N = 0$, $H = 0$

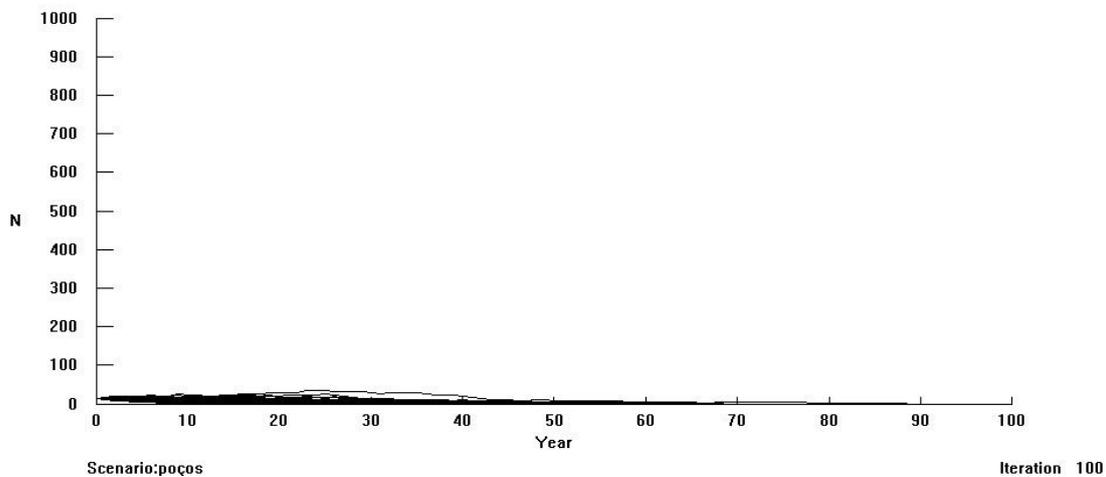


Figura 11. Análise de Viabilidade da população de 14 indivíduos de *Crax fasciolata* mantido no CCCPC, com probabilidade de extinção de 100% nos primeiros 80 anos.

Uma análise de viabilidade foi então reformulada considerando alteração em alguns parâmetros, primeiramente no sentido da porcentagem de casais em reprodução, como sugerido o número mínimo de 10 casais para se manter a variabilidade existente no plantel da CESP Paraibuna, dos quais 100% devem se reproduzir. Assim, a porcentagem de fêmeas e machos em reprodução passaria de 28% para 40% (Figura 12). Nota-se que a população então não apresentaria probabilidade de extinção.

Final statistics: $r= 0,121$, $SD(r)= 0,023$, $PE= 0,00$, $N= 1000$, $H= 97$

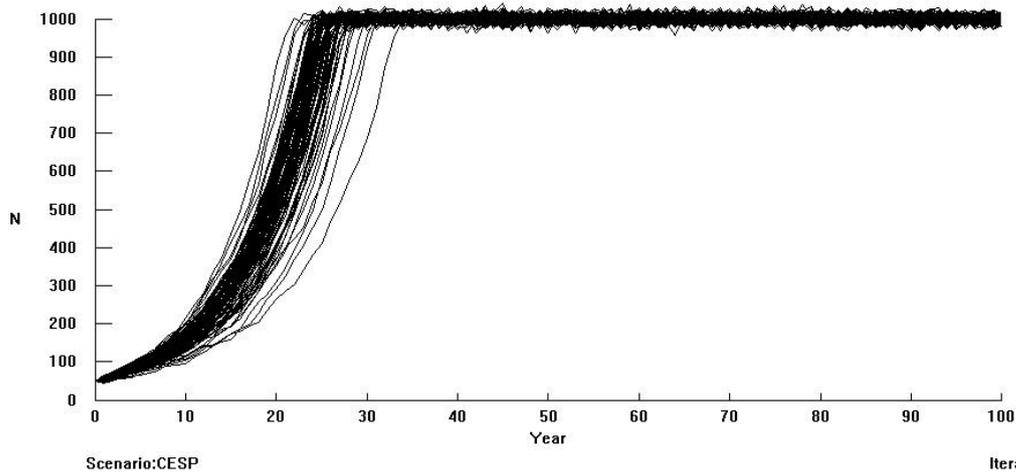


Figura 12. Análise de viabilidade da população de 50 indivíduos de *Crax fasciolata* mantidos na CESP Paraibuna após realizar novos pareamentos, com probabilidade de extinção de zero.

6.12. Análise das fêmeas de *Crax fasciolata pinima*

A análise dos *loci* das fêmeas de *C.f.pinima*, para detecção de possíveis alelos diagnósticos não encontrou nenhum alelo que seja exclusivo dessa subespécie. A heterozigose individual (MLH) das duas fêmeas encontrou valores de 0,5 e 0,3. Esses valores de MLH é o mesmo que o encontrado para 64,2 % da população total de *C.fasciolata* (70 indivíduos) analisados.

7. DISCUSSÃO

7.1. Estrutura Populacional e Variabilidade Genética

As populações estudadas no presente trabalho compõem juntas os criatórios que provavelmente retêm o maior número de indivíduos da espécie *Crax fasciolata* e, portanto, representam boa parte da variabilidade genética disponível para ser manejada em cativeiro. Os resultados indicaram que existe estruturação genética entre a população mantida na CESP Paraibuna, a população mantida no CCCPC e os indivíduos coletados pelo MZUSP, como pode ser visualizado pelos valores de F_{ST} altamente significativos. A estruturação dos plantéis de cativeiro possivelmente se deve ao efeito fundador. Sabe-se que atualmente 19 indivíduos advindos de Porto Primavera são mantidos na CESP Paraibuna, mas provavelmente a população original resgatada teria um número maior de animais. Com relação ao CCCPC, não se sabe a origem e nem o número de indivíduos fundadores. Provavelmente os fundadores de ambas as populações possuíam genótipos diferentes, que garantiram essa estruturação entre as populações, considerando que esse é o principal fator que determina o *pool* gênico de uma população de cativeiro, sendo o principal responsável pela existência de linhagens diferentes (Frankham *et al.*, 2010).

A existência de alelos presentes apenas nos indivíduos da natureza depositados no museu sugere que a população de cativeiro não seja representativa de toda a variação genética da espécie. Em populações mantidas em cativeiro, a medida da heterozigose esperada é muito influenciada pela deriva genética, em razão dos alelos de baixa frequência (alelos raros) não serem retidos em amostras. Para testar se de fato as populações sofrem esse efeito de presença de muitos alelos raros é possível estimar o valor de heterozigose máxima (H_{max}), através dos cálculos apresentados pelo trabalho de Raposo *et al.* (2007), no qual $H_{max} = (A - 1) / A$, onde A é o número médio de alelos. Assim, o valor da heterozigose máxima da população do MZUSP foi de 0,68, de CCCPC foi de 0,72 e da CESP Paraibuna foi de 0,75, ambos valores muito acima dos encontrados para HE.

O valor de heterozigose máxima representa o valor máximo teoricamente esperado da diversidade gênica de acordo com o número de alelos encontrados, assim, um valor maior de H_{max} em comparação com os valores de H_E , que leva em conta frequências alélicas, sugere que na população estuda há muitos alelos raros. Caso fosse encontrados valores de H_{max} e H_E próximos o cenário seria o contrário, de poucos alelos raros presentes na população (Raposo et al., 2007). Assim, de fato nessas populações, como já visualizados pela tabela de alelos, há muitos alelos em baixa frequência.

Populações mantidas em cativeiro geralmente são pequenas, com um número reduzido de fundadores e em geral ocorre endocruzamento, diminuindo a heterozigose presente na população e aumentando a frequência de alelos deletérios em homozigose (Lande & Barrowclough, 1987; Shaffer, 1987; Frankham, Ballou & Briscoe, 2009). No entanto, não foi verificado endocruzamentos nas situações aqui analisadas (CESP Paraibuna fundadores e Prole e Poços de Caldas). Assim, apesar de constituírem populações pequenas, os indivíduos conseguem transmitir grande parte da variabilidade à prole, por meio de um manejo reprodutivo eficiente. Potencialmente, esses indivíduos podem compor programas de reintrodução na natureza ou programas de translocação entre criadores.

Em especial para a comparação entre a população fundadora de Porto Primavera ($H_E= 0,492$; $R_s= 3,95$) e sua Prole ($H_E= 0,471$; $R_s= 3,15$), a ausência de diferença entre os níveis de heterozigose e riqueza alélica pode indicar que o manejo realizado em cativeiro para esta população ocorre de maneira efetiva, no sentido de se evitarem os endocruzamentos e por consequência a presença de alelos deletérios em homozigose. Portanto, a população mantida nesse criatório vem conseguindo por meio dos cruzamentos entre as matrizes já existentes manter grande parte da variação encontrada para o mutum-de-penacho, a medida que o tamanho populacional aumenta. No entanto, análises de viabilidade populacional, considerando a heterozigose e riqueza seriam necessários para investigar a viabilidade desta população ao longo dos anos, principalmente considerando que o estudo analisa poucas gerações dessas matrizes e a variabilidade encontrada nas próximas gerações poderia refletir esse efeito de um pequeno número de parentais.

Valores de heterozigose e riqueza alélica não foram significativamente diferentes entre a população natural (indivíduos de Porto Primavera e indivíduos coletados pelo MZUSP) e as populações de cativeiro para o mutum-de-penacho (prole mantida na CESP Paraibuna e CCC Poços de Caldas), indicando que as populações de cativeiro ($HE= 0,434$; $Rs= 3,39$) são capazes de reter um nível variabilidade genética encontrado em populações naturais, ou seja, o manejo realizado em cativeiro e a conservação ex situ são capazes, até o momento, de garantir a permanência dessa espécie em ambiente cativo. Este tipo de análise é relevante para a avaliação da eficiência de programas de conservação em cativeiro de espécies ameaçadas e no que diz respeito a *C. fasciolata*, os esforços dispendidos são eficientes.

Witzenberger & Hochkirch (2011) realizaram uma revisão bibliográfica do uso de marcadores moleculares no manejo de populações mantidas em cativeiro, para espécies com algum grau de ameaça e propuseram um valor médio de $HE=0,60$ para populações naturais e de $HE > 0,54$ desejável para manter 90% da diversidade genética original por pelo menos 100 anos em cativeiro. Considerando os resultados para *C. fasciolata*, as populações em cativeiro e natural tiveram respectivos valores de HE de 0,434 e 0,492, ambos abaixo dos valores propostos.

Estudos anteriores realizados para o mutum-de-penacho, com técnica de DNA fingerprinting (Pereira & Wajntal, 2001) e com 3 loci polimórficos de microssatélites (Gonçalves et al.,2010), também obtiveram valores de heterozigose para as populações de *C. fasciolata* abaixo das médias propostas por Witzenberger & Hochkirch (2011) para uma população se encontrar viável. No entanto, não foram considerados dados referentes a heterozigose e diversidade alélica desses estudos em análise estatística por se tratarem de dados obtidos por uma técnica diferente e por um número baixo de marcadores, comprometendo a significância da análise (os dados poderiam ser significativos por diferença nas técnicas e não de fato nas variáveis analisadas). Ainda que não comparáveis, os trabalhos apontam que essa variabilidade abaixo das médias pode estar relacionada com efeitos de caça e degradação ambiental (Gonçalves et al.,2010), principalmente se considerando que a espécie pode ser utilizada como indicador de áreas degradadas (Pereira, 1996; Brooks, 2006).

Esses resultados dizem respeito ao fato de que até mesmo populações naturais de mutum-de-penacho não possuem níveis de variabilidade suficientes para se manterem viáveis ao longo dos anos, tendo como o futuro a extinção de indivíduos em muitos locais onde efeitos de estocasticidade já se encontram evidentes.

Jacus (gênero Penelope) e Mutuns (gêneros Crax e Pauxi) habitam ambientes mais restritos, e são muito suscetíveis à degradação ambiental (Brooks, 2006). No geral, cracídeos, em especial os gêneros Aburria, Crax e Mitu, sofrem uma forte pressão de caça (Peres, 2000; Brooks, 2006). Tal pressão pode explicar a baixa variabilidade genética encontrada para as populações natural e cativa analisadas neste estudo. Assim, apesar da estratégia de conservação ex situ conseguir manter a diversidade genética tida em ambientes naturais, as ameaças sobre populações naturais viventes já podem ter comprometido a estabilidade dessa espécie na natureza.

Estudos com demais representantes de família Cracidae, utilizando-se de microssatélites, também obtiveram valores de heterozigose e riqueza alélica abaixo da média proposta como viável para manutenção de populações em cativeiro e comparáveis com os obtidos para o mutum-de-penacho, como visto para a jacutinga (*A. jacutinga*) ($HE= 0,54$, $Rs= 3,1$) (Oliveira Junior, 2012) e para o mutum-de-alagoas (*Pauxi mitu*) ($HE=0,36$, $Rs= 2,32$) (Davanço, 2012), sendo o último com um conhecido gargalo populacional de três indivíduos fundadores e extinto na natureza (ou seja, a população de mutum-de-penacho é comparável com uma espécie altamente ameaçada). Essas comparações reforçam ainda mais a situação crítica de populações de cracídeos consideradas até mesmo abundantes, mas que ao se analisar geneticamente apresentam níveis baixos de variabilidade, evidenciando o quanto são sensíveis a pressões antrópicas e que deveriam ter programas de conservação focados não apenas para espécies ameaçadas.

Assim, pode-se dizer que a variabilidade genética encontrada para todas essas populações na verdade pode ser uma característica atual da família considerando ser essa uma família com severos efeitos em suas espécies por impactos da caça e degradação ambiental, que vem se acentuando nos últimos tempos. No entanto, vale ressaltar que essa extrapolação só seria possível para áreas com histórico semelhante ao

ocorrido com a população de Porto Primavera, ou seja, no sentido de se perder grandes áreas para demais atividades antrópicas ou com forte efeito de caça.

Além disso, quando se comparou a população natural de Porto Primavera com demais espécies ameaçadas que passaram por um conhecido gargalo populacional e figuram entre os piores casos de redução populacional relatados na literatura, os valores não diferiram significativamente, apresentando, portanto, valores de diversidade genética comparáveis com o grou americano (*Grus americana*), que teve um efeito fundador de 21 indivíduos, com o órix da Arábia (*Oryx leucoryx*), que teve um efeito fundador de 10 indivíduos e com o furão de pés negros (*Mustela nigripes*), com efeito fundador de sete indivíduos (Wisely et al., 2003; Arif et al., 2010; Jones et al., 2010; Hagen et al., 2011). Esses dados comparáveis e sem diferenças significativas evidencia de fato a situação preocupante para a espécie *Crax fasciolata*, que tem até mesmo valores de diversidade comparáveis com o *Crax fasciolata pinima*, subespécie que atualmente se conhece apenas dois indivíduos viventes.

Deve-se considerar, no entanto, que esses 19 indivíduos de Porto Primavera podem não ser capazes de representar toda a diversidade genética que existia na região, compondo apenas uma amostra aleatória. Com a inundação da área da Usina Hidroelétrica de Porto Primavera muitos indivíduos pertencentes a população original podem não ter sobrevivido ou não foram avistados para serem resgatados, perdendo com eles parte da variação da população. Esse fato poderia indicar que a variabilidade para essa população natural pudesse ter índices maiores que os encontrados. No entanto essa é a maior amostragem que se tem até hoje de uma população natural de cracídeo e portanto, compõem o único conjunto a ser analisado para se inferir sobre demais populações naturais.

Foram analisados 70 indivíduos em cativeiro, que possuem possibilidade de reprodução de acordo com devidos manejos, no entanto, avaliando o tamanho efetivo populacional pode-se constatar que ele está reduzido, representando 26,42 % da população total. Segundo Nielsen et al. (2007), a perda de variação genética por geração corresponderia a $\frac{1}{2} N_e$, sendo o N_e atual para população de mutum-de-penacho estimado em 18,5. Considerando que para cracídeos o período de geração seja de 3 anos, a porcentagem de heterozigose retida em 100 anos nestes cativeiros, com este

tamanho populacional será de 28 %, muito abaixo do objetivo de se manter o mínimo de 90% da variação genética em 100 anos (Frankham et al., 2010). O tamanho efetivo necessário para se manter 90% da variação genética em 100 anos é de 59,9 indivíduos. Franklin & Soulé (1980) sugerem um tamanho efetivo populacional mínimo de 50 indivíduos, para se evitar a depressão por endogamia em um curto prazo, o que é um tamanho efetivo muito menor do que o sugerido anteriormente, no entanto, Lacy (1987) sugere um tamanho efetivo mínimo de 100 indivíduos, de acordo com um estudo realizado com moscas das frutas, próximo ao obtido pelos nossos cálculos com base no proposto por Frankham et al. (2010). Valendo ressaltar ainda que o manejo adequado pode amenizar essa perda teórica de variabilidade genética, podendo ser possível então mantê-la com tamanhos efetivos menores (Wisely et al., 2003; Ralls & Ballou, 2004; Hagen et al., 2011).

7.2. Aplicações para o manejo

7.2.1. Manejo das populações de cativeiro

Uma maneira interessante para se definir a estrutura para o manejo genético e reprodutivo de mutum-de-penacho nos criatórios analisados é classificar os indivíduos de acordo com aqueles que possuem os maiores valores de heterozigose e que são menos aparentados (quanto aos demais indivíduos presentes), possibilitando o pareamento de casais com baixas médias de parentesco “*kinship*” (Ballou, 1983) de forma a maximizar a diversidade genética (Ballou & Lacy, 1995; Ivy *et al.*, 2009).

A estruturação genética presente nas populações, separando a população da CESP Paraibuna da população de CCC Poços de Caldas permite mais de uma estratégia de manejo, como já foi dito na presença de alelos exclusivos. A primeira seria cada criatório manejar suas populações de modo independente, refazendo seus casais e com isso mantendo a diversidade genética interpopulacional.

Para essa primeira estratégia de manejo foi preciso calcular o número mínimo de casais a serem mantidos em cada criatório de forma a manter a variação presente. Para tanto é preciso montar casais que possuam os maiores valores de $(1-P_S)$ de modo a manter toda diversidade genética, ou seja, além de buscar casais com os maiores valores de $(1-P_S)$ foi verificado se esses casais possuíam todos os alelos presentes na população, para cada *locus*, obtendo então um valor mínimo de casais capaz de garantir a

permanência dessa variação, aumentando a heterozigose dos filhotes e mantendo a riqueza alélica. O sucesso dessa estratégia, no entanto, depende do fato de todos os casais formados se reproduzam e por consequência, depende que essas informações sejam levadas aos criadores e que se obtenha um retorno quanto a possibilidade real de que esses casais sejam pareados e, caso seja possível, se os mesmos irão se reproduzir. Dependendo desse retorno, futuramente essas informações podem ser readaptadas para uma nova realidade. O estudo aponta um número mínimo de 10 casais na CESP Paraibuna e 5 casais em CCC Poços de Caldas, enfatizando que esse número mínimo é interessante no sentido de buscar manter a variação ao passo que reduziria os custos dos criadores com a manutenção dos animais, no entanto, caso seja possível se manter um maior número de casais o criatório teria uma maior segurança quanto a viabilidade de sua população.

Essa estratégia de manejo é efetiva considerando que os dados até o presente momento não apontam a ocorrência de endocruzamentos, evitando, portanto, gastos com a translocações de novos indivíduos e futura adaptação a recintos, além do risco de trocas de doenças entre criatórios, estresse durante o transporte (podendo levar o animal a óbito) e adaptação ao novo local (práticas de manejo diferenciadas, dietas, novos parceiros, clima, dimensões e composição dos recintos, dentro outros fatores). Para garantir que futuramente não ocorra endocruzamentos, portanto, é fundamental observar a planilha de acasalamentos, a fim de formar pares não relacionados, de modo a dar preferência a um maior número de casais reproduzindo número moderado de filhotes ao invés de poucos casais produzindo muitos filhotes, que invariavelmente poderiam acabar sendo acasalados, levando a perda de alelos e à homozigose.

Nesse sentido vale destacar também que para população da CESP Paraibuna, única na qual se foi coletado a população matriz e suas proles, foi visto que das dez matrizes nem todas vem se reproduzindo, sendo que o casal atualmente localizado no viveiro J8 é o que mais se reproduz, responsável por 38,5% dos filhotes (10 indivíduos). Seguido pelos casais dos viveiros J3, com 30,8% dos filhotes (8 indivíduos) e J2 e J7, com 15,4% dos filhotes cada um (4 indivíduos). Essa informação é relevante no sentido de se avaliar que ao se propor um novo pareamento a fim de se aumentar a frequência de alelos raros é necessário garantir que os casais se reproduzam, caso contrário novos pareamentos devem ser sugeridos até se garantir que todas as matrizes formadas se

reproduzam ou então o efeito esperado de aumento da variabilidade genética pode não ser alcançado.

Uma segunda estratégia é a translocação de indivíduos entre os criadouros, de modo a transferir alelos antes exclusivos para a população receptora, garantindo que ambas as populações possuam o mesmo conjunto de alelos para todos os *locus*, ou seja, possibilitando aumentar a riqueza alélica antes presente nos criadouros. Uma vantagem no cenário para essa estratégia é o fato do *ranking* genético geral figurar nas primeiras colocações indivíduos que variam bastante entre criadouros e entre sexo, ou seja, há uma grande possibilidade em se maneja-los a fim de se obter um aumento da variabilidade genética refazendo pareamentos.

Para efetividade da estratégia de translocação, no entanto, seria necessário que cada criador aumente, primeiramente, o número de indivíduos portadores desses alelos exclusivos, possibilitando a translocação para outro criador. Em um segundo momento, seria necessários que o número mínimo de casais em cada criadouro aumente, a fim de garantir a manutenção da variação já presente e o aumento da frequência desses alelos introduzidos. O problema nesse caso seria a disponibilidade de cada criador em manter um maior número de casais, que invariavelmente implica em maiores gastos de manutenção em si, além de espaço hábil disponível e falta de incentivo de órgãos ambientais competentes. Além disso, essa estratégia depende que, anteriormente a translocação, os indivíduos portadores de alelos exclusivos sejam pareados e se reproduzam de maneira satisfatória, no sentido de não se criar um novo problema, que seria a perda de alelos exclusivos em um criatório.

Seguindo a mesma metodologia para definição de número mínimo de casais, para se fundar uma nova população capaz de manter toda a variabilidade genética existente em todos os criadores, seria necessário um número mínimo de 11 casais. Vale ressaltar que essa estratégia pode ser empregada de maneira gradual, aumentam-se ao longo das gerações o número mínimo de casais e a variabilidade genética presente, para tanto é preciso se identificar criadores interessados em se realizar essas trocas. Caso essa estratégia seja escolhida, é necessário que os criadores se utilizem das tabelas de análise de alelos e estimativas de parentesco, estudando-se caso a caso de modo que o genótipo do indivíduo a ser translocado não seja perdido da população fonte.

Para a maioria dos loci foram encontrados alelos raros em determinadas populações, o que pode compor uma situação interessante no sentido de aumentar não

apenas a frequência dos alelos, como também a diversidade alélica das populações. Em um primeiro momento o manejo genético direcionado para identificação e reprodução desses indivíduos possuidores de alelos raros pode aumentar suas frequências, tornando-os alelos exclusivos para determinadas populações. Com isso, cruzamentos focados na troca de indivíduos entre cativeiros, que possuam alelos exclusivos de suas populações, pode aumentar a diversidade alélica na população translocada, cenário que não seria possível com um manejo reprodutivo considerando criadouros isolados. O aumento da frequência desses alelos raros e a troca de alelos exclusivos entre as populações pode aumentar, futuramente, o sucesso dessas populações em se manter viáveis ao longo dos anos. Pode indicar que alguns alelos tem uma tendência de ser fixados na população, sendo então interessante no momento de realizar os pareamentos montar casais que sejam homozigotos, quando possível, ou heterozigotos para os alelos raros.

Os dados genéticos aqui fornecidos são importantes para manejar populações com genealogias desconhecidas ou incompletas, como é o caso da população em cativeiro de mutum-de-penacho, que não possui um pedigree desenvolvido em sua totalidade (Ivy et al., 2009). No entanto, para que o uso desses dados seja efetivo para o manejo, após a reestruturação dos plantéis, novas informações quanto a reprodução dos novos casais formados devem ser coletadas, para se avaliar o sucesso do manejo (o sentido de que os casais vem se reproduzindo ou não) e, caso necessário, redefinir novamente o número mínimo de casais e os pareamentos. Além disso, recomenda-se que futuramente o plantel passe por um novo monitoramento genético, para se avaliar se de fato o nível de variabilidade genética vem sendo mantido ou, mais positivamente, esteja aumentando.

7.2.2. Reintroduções na natureza

Para que um indivíduo possa ser reintroduzido de modo a garantir sua sobrevivência no local, este deve ser considerado saudável, com alta capacidade de reprodução e grande variação genética, no entanto, geralmente quando se introduz em uma população natural esse indivíduo com certa variação genética a ser somada, a mesma variação pode ser perdida em cativeiro, uma vez que os fundadores dessas populações cativas tem número reduzido e qualquer indivíduo a menos pode ser

indicativo de perda de variabilidade genética, gerando um conflito entre reintroduzir um animal na natureza ou mantê-lo em cativeiro (Frankham *et al.*, 2004).

Buscando uma solução para esse conflito, Frankham *et al.* (2004) sugerem quatro modelos teóricos da relação cativeiro-natureza. Em (A) considera-se que ao reintroduzir indivíduos, a população natural seria beneficiada com a entrada de uma nova variação genética, mas a população cativa seria prejudicada uma vez que os indivíduos soltos são importantes para a reprodução (como em cativeiro o número de fundadores é geralmente pequeno, cada indivíduo em si possui uma variação genética pouco representada) e apresentam baixo grau de parentesco com a população reintroduzida. Em (B) há uma situação na qual os indivíduos escolhidos para reintrodução iriam beneficiar ambas as populações, uma vez que estariam geneticamente bem representados na população cativa e teriam poucos níveis de parentesco com os reintroduzidos. Em (C) há a possibilidade dos indivíduos reintroduzidos serem prejudiciais para ambas as populações, por serem valiosos para o cativeiro e por possuírem grande nível de parentesco com os animais escolhidos para reintrodução (não contribuindo, portanto, para aumentar a variabilidade genética da população natural e induzindo a endocruzamentos). Para finalizar, há uma situação (D), na qual os indivíduos soltos beneficiariam a população em cativeiro, por serem bem representados na mesma, mas prejudicariam a população natural, por também serem bem representados entre os indivíduos a serem reintroduzidos. Então, em um primeiro momento, a melhor situação a ser escolhida seria os indivíduos descritos em D, considerando o elevado risco de mortalidade envolvido durante as solturas na natureza (por contraírem doenças que não estavam expostos em cativeiro, não se adaptarem as condições do ambiente natural, serem predados facilmente, entre outros), como foi o caso das reintroduções do mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*), o condor da Califórnia (*Gymnogyps californianus*) e o furão de pés negros (*Mustela nigripes*), que obtiveram sucesso na reintrodução (Frankham *et al.*, 2004).

Uma vez que os protocolos de reintrodução já estiverem bem delineados, é possível se utilizar de indivíduos mais diferenciados (Frankham *et al.*, 2004), principalmente ao se considerar que um dos objetivos da reintrodução é reforçar a heterogeneidade genética das populações pequenas, ou em declínio (Griffith *et al.*, 1989). Para esse objetivo, *rankings* genéticos são importantes no momento de escolha da ordem dos animais para soltura, priorizando em um primeiro momento indivíduos

mais comuns (em termos alélicos), mas não necessariamente com baixo nível de heterozigose.

Para definição desses indivíduos, a métrica de heterozigose intraindividual (MLH) tem sido bastante utilizada ao se relacionar com características ligadas ao *fitness* do indivíduo, sendo frequentemente detectadas correlações como essa em populações naturais (Keller & Waller, 2002; Coltman & Slate, 2003; Chapman *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2011). Na população de mutum-de-penacho 1,56% dos indivíduos apresentaram um valor superior a 0,75 de MLH, 12,51% estão entre 0,60-0,75 de MLH, 68,75% permaneceram entre 0,30-0,50 e 17,18% estão abaixo de 0,25, observando que 85,93 % dos indivíduos apresentam índices de MLH abaixo ou igual a 0,50.

Trabalho realizado por Chapman & Sherlton (2011) analisou 261 indivíduos de *Parus major* ou chapim-real, de áreas naturais da Inglaterra, encontrando para esse passeriforme valores de MLH que variavam entre 0,52-0,94, não havendo nenhuma ave com valor inferior a 0,50. Um estudo anterior, de Taylor *et al.* (2010), com a população natural de *Melospiza melodia*, um emberezídeo da América do Norte encontrou valores de MLH variando de 0,31-1, sendo no entanto 80% dos indivíduos com valores superiores a 0,50. Considerando que para o *Crax fasciolata* há uma amostra de população natural, da qual a maioria compõem matrizes de cruzamento, esses valores abaixo ou igual a 0,50 de MLH é preocupante, apesar de se considerar que as comparações são feitas com duas espécies de uma ordem distinta da analisada, ambas pertencendo aos Passeriformes e possuindo portanto atributos de história de vida distintos. Assim, apesar de se indicarem 10 indivíduos de mutum-de-penacho com valores superiores entre 0,60 e 0,50 MLH que poderiam vir a compor programas de reintrodução, esses indivíduos possivelmente em um primeira instância são valiosos para manutenção e aumento da variabilidade genética em cativeiro, principalmente os indivíduos de ID igual a 275 e 291, duas fêmeas que na tabela de (1 – Ps) são indicadas para novos pareamentos.

Fundar uma população reintroduzida, com indivíduos oriundos de distintos plantéis, representando portanto um conjunto de populações, pode aumentar o sucesso da reintrodução, maximizando a diversidade genética disponível em que a seleção natural irá atuar (Frankham *et al.*, 2004; Robert *et al.*, 2007). Uma vantagem para os mutuns-de-penacho é o fato de que, ao contrário do que é visto com demais espécies, para essa espécie se conhece a variação natural (indivíduos advindos da atual área da

Hidroelétrica de Porto Primavera), que não é significativamente diferenciada na população mantida em cativeiro. Ou seja, reintroduzir indivíduos a fim de reforçar demais populações naturais não seria um risco para sobrevivência da população natural, no sentido de inserir uma variação que pudesse gerar um efeito contrário de enriquecimento, trazendo, por exemplo um conjunto de alelos deletérios ou um aumento de homozigose. No entanto, conhecer a variação dessa população natural não isenta um programa de reintrodução de ações equivocadas, que podem adquirir um resultado negativo, não descartando, portanto, a necessidade de se realizar um monitoramento pós-soltura de longo prazo, além do cuidado de se realizar antes da soltura protocolos sanitários com animais vivos no ambiente a ser reintroduzido, não somente nos indivíduos a serem soltos.

Um programa de reintrodução deve contemplar, segundo Tracy *et al.* (2011) um total de 60 indivíduos em uma população com crescimento moderado a fim de garantir a retenção de 95% dos alelos introduzidos, decorridos 20 anos da realização da soltura. Segundo Griffith *et al.* (1989), seriam necessários 80 animais introduzidos para retenção dos alelos ao longo das gerações.

7.3. Análise de Viabilidade das Populações

As simulações realizadas com auxílio do software Vortex permitem demonstrar em um cenário de gerações os resultados obtidos no trabalho quando a variabilidade genética presente na população e definir quais seriam as estratégias de manejo melhor aplicadas em cada criadouro envolvido.

Como já discutido, a variabilidade genética encontrada para *Crax fasciolata* estava abaixo do limiar proposto por Witzemberger & Hochkirch (2011) para garantir a permanência de 90% da diversidade genética original por pelo menos 100 anos. No que diz respeito a viabilidade dessa população, ou seja, a probabilidade de permanência ao longo dos anos, as simulações indicaram que a população teria probabilidade de extinção em 100 anos. Assim, bem como a variabilidade genética não seria suficiente para garantir que a diversidade genética fosse mantida, esses dados cruzados com dados de biologia da espécie não garantiria sua permanência ao longo das gerações.

Apontando para necessidade de se realizar um manejo reprodutivo, com base em parâmetros genéticos, a fim de se alterar esse quadro.

Uma das primeiras estratégias listadas para manejo reprodutivo seria o reparamento de casais sem a necessidade de troca entre criadouros. Essa estratégia pode ser indicada para o criatório da CESP Paraibuna, uma vez que foi visto nas simulações que alterando o percentual de casais em reprodução a probabilidade de extinção da população seria de zero. Somado a isso o fato desses casais reparados estarem de acordo com as tabelas sugeridas pelo trabalho (quanto a $(1 - P_s)$ e alelos raros), possivelmente a heterozigose dentro da população também poderia ser aumentada, garantindo então uma população viável e com variabilidade genética maior.

Quanto a população presente no CCCPC a simulação apontou uma probabilidade de extinção de 100 % em cerca de 80 anos. Considerando que não se considerou o tamanho populacional total, as porcentagens de casais em reprodução seriam menores e portanto, a previsão de anos para extinção seria menor. Vale ressaltar também que o número mínimo de casais sugeridos para garantir a variação genética encontrada está de acordo com o valor de porcentagem de casais em reprodução considerados (cinco casais). Provavelmente a melhor estratégia para esse criadouro seja a de translocar indivíduos a fim de se aumentar a riqueza alélica presente e, portanto, o número mínimo de casais (porcentagem em reprodução), a fim de garantir que a variação genética seja mantida e que a população seja viável.

Estudo realizado por Laganaro (2009) com a população mantida em zoológico para a espécie *Crax blumenbachii* apontou como número mínimo população para os cracídeos mantidos em cativeiro tenham suas populações viáveis de 50 indivíduos, desde que ocorra, no entanto, o manejo reprodutivo. Bianchii et al. (2004) já aponta a necessidade de se investir em recintos para manutenção desta espécie em cativeiro, mantendo studbooks atualizados para se garantir os melhores pareamentos. Como apontado por esse trabalho, o tamanho populacional de 50 indivíduos é viável para manutenção da população de *Crax fasciolata* desde que o manejo reprodutivo seja de fato realizado.

O estudo citado já aponta a importância da conservação *ex situ* para essa família, sendo reforçado pela necessidade apontada neste trabalho de que até mesmo espécies consideradas em baixo grau de ameaça, como é o caso do mutum-de-penacho, necessitam de programas de conservação *ex situ* que invistam em estratégias de

reprodução direcionadas por studbooks e estudos de variação genética para que sejam efetivos.

8. CONCLUSÕES

A população natural analisada não apresentou déficit de heterozigose e embora o valor de heterozigose tenha sido menor que 0.54, este deve ser um padrão esperado para uma população da espécie *Crax fasciolata*.

A prole gerada a partir dos indivíduos fundadores vindos da natureza mantiveram os níveis de variabilidade de seus parentais, evidenciando que o manejo realizado em cativeiro, visando a conservação da espécie, é eficiente e esses indivíduos, após realizadas demais análises, poderão ser indicados para programas de reintrodução em ambiente natural de ocorrência do mutum-de-penacho.

Desta forma, as condições supracitadas foram cruciais para a realização dessa que é a primeira análise de uma população natural de cracídeo com marcadores microssatélites. Esse estudo permitiu acessar os níveis de variabilidade genética naturais da espécie, fornecendo dados que puderam ser comparados com populações cativas da mesma espécie e de outros cracídeos ameaçados e verificar a eficiência dos casais em transmitir alelos representativos da variabilidade da população para a prole nascida em cativeiro.

Assim, de maneira específica, o trabalho permitiu:

- ✓ Com a utilização de 10 loci de microssatélite analisar a variabilidade genética de uma população natural de mutum-de-penacho, além da variabilidade de indivíduos cativos;
- ✓ Testar se a variabilidade genética dos indivíduos fundadores, oriundos de população natural, é maior do que a das suas proles, o que não foi comprovado. Apesar do esperado em cativeiro ser uma perda de variabilidade ao longo das gerações, por conta do efeito fundador, teste estatístico apontam que os níveis de variabilidade entre os fundadores e sua prole não diferem significativamente, ou seja, a variabilidade genética vem sendo mantida ao longo das gerações;
- ✓ Testar se a variabilidade genética de uma população natural de Porto Primavera é maior do que a variabilidade de um plantel de cativeiro já existente desta

espécie, o que também não foi visualizado. Apesar do suposto apresentado ser que populações já estabelecidas em cativeiro, com origens distintas, poderiam sofrer mais com efeitos de deriva genética e endogamia, a variabilidade encontrada não difere significativamente da variabilidade tida em uma população natural. Ou seja, a conservação *ex situ* para o *Crax fasciolata* vem conseguindo manter em um ambiente artificial as mesmas condições necessárias para a manutenção da variação em um ambiente natural da espécie;

- ✓ Comparar os níveis de variabilidade genética desta população natural com os níveis de variabilidade genética de populações *ex situ* de outros cracídeos ameaçados, sendo esses as espécies *Aburria jacutinga*, *Crax globulosa*, *Pauxi tuberosa* e *P. mitu*. A falta de diferença significativa nessas comparações aponta para o fato de que os cracídeos mantidos em cativeiro tem sua variabilidade comparável com populações naturais e a conservação *ex situ* vem sendo efetiva, no entanto, ao serem comparáveis com a situação de *P.mitu*, que tem um conhecido gargalo de 3 indivíduos fundadores alerta para o fato de que até mesmo populações naturais de cracídeos podem se encontrar em alto grau de ameaça, mesmo possuindo grandes tamanhos populacionais;
- ✓ Foi possível verificar o grau de parentesco entre os indivíduos analisados, compondo dados importantes para confecção de um *studbook* para *Crax fasciolata*;
- ✓ Foi possível apresentar sugestões de novos acasalamentos e apontar indivíduos aptos para reintrodução de acordo com as respostas genéticas;
- ✓ Considerar que variáveis, tais como idade dos animais, manejo dos criadores, aceitação entre os novos casais formados, adaptação ao cativeiro, também são indispensáveis para o sucesso final desses novos pareamentos, agrupando, assim, não apenas dos dados inferidos por esse trabalho, mas também a experiência dos criadores e tratadores de cada criadouro, bem como o monitoramento ao longo do tempo desses resultados obtidos após o manejo reprodutivo;

- ✓ Avaliar a viabilidade das populações estudadas e testar se com o manejo genético as populações tem maiores probabilidades de sobreviver ao longo das gerações.
- ✓ Em um primeiro momento, sugere-se que o manejo reprodutivo seja realizado dentro de cada criadouro, tendo como foco o aumento da variabilidade genética em cada um deles (por meio de recombinações que visam o aumento de frequências alélicas abaixo dos 10% e casais com valores elevados de $(1 - P_s)$), sendo que esses resultados deverão ser mensurados por meio da genotipagem das novas gerações de filhotes;
- ✓ Translocações futuras entre os criadouros podem ser uma possibilidade, desde que possam seguir as tabelas propostas nesse trabalho (de alelos raros) e que sejam gerenciadas por um plano de ação nacional;
- ✓ A estimativa de viabilidade populacional foi importante para de fato medir o efeito a longo prazo da situação encontrada nos criadouros analisados, bem como mensurar os efeitos do manejo reprodutivo no sucesso de sobrevivência da população;
- ✓ É interessante avaliar a possibilidade de confecção de um plano de ação nacional para conservação do mutum-de-penacho, desenvolvido e implementado por um órgão ambiental brasileiro competente. Principalmente considerando que apesar da espécie não ser listada como em algum grau de ameaça os dados gerados nesse trabalho apontam a necessidade de um manejo em cativeiro mais efetivo e uma conservação de suas áreas de ocorrência natural;
- ✓ É necessário um esforço de manejo reprodutivo focado em indivíduos que possuem níveis de heterozigose individual elevados, a fim de se obter uma população entre 60 a 80 indivíduos apta a ser fundada em uma área de

ocorrência antes natural para a espécie, ou compor suplementos demográficos nas populações já existentes;

- ✓ É necessário que as técnicas de manejo desenvolvidas em cativeiro possam visar, futuramente, a reintrodução das novas gerações de mutum-de-penacho, adequando esses indivíduos para a sobrevivência em ambiente natural;
- ✓ Essas informações se incorporadas ao programa de conservação *Ex Situ* podem aumentar a precisão das decisões visando a manutenção da diversidade alélica e heterozigose da população, além de estabelecer novos e mais elevados parâmetros de manejo para a recuperação de espécies ameaçadas da fauna brasileira.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYRES, M.; AYRES Jr., M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. 2000. **BioEstat 2.0:** aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá e CNPq.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2011. **IUCN Red List for birds**. Disponível em: <http://www.birdlife.org>.
- BOYCE, M.S. 1992. **Population viability analysis**. Annual Review of Ecology and Systematics 23: 481-506.
- BROOKS, D. M. 1999. **Pipile as a protein source to rural hunters and Amerindians**. In: BROOKS, D. M.; BEGAZO, A. J.; OLMOS, F. (Ed.). Biology and conservation of the Piping Guans (*Pipile*). Houston: Cracid Specialist Group, p. 42-50 (Spec. Publ., n. 1).
- BROOKS, D. M. 2006. **Conserving Cracids: The most Threatened Family of Birds in the Americas**. Miscellaneous Publications of The Houston Museum of Natural Science, Number 6.
- BRYANT, E. H.; REED, D. H. 1999. **Fitness decline under relaxed selection in captive populations**. Conservation Biology, n. 13, pp. 665-669.
- CADE, T.J. 1988. **Using science and technology to reestablish species lost in nature**. Em: Biodiversity. (Wilson, E.O. ed.). National Academy Press, Washington.
- CAPARROZ, R.; MIYAKI, C. Y.; BAMPI, M. I.; WAJNTAL. 2001. **A. Analysis of the genetic variability in a sample of the remaining group of Spix's Macaw (*Cyanopsitta spixii*, Psittaciformes: Aves) by DNA fingerprinting**. Biological Conservation, n. 99, pp. 307-311.
- CAZIANI, S. M.; PROTOMASTRO, J. J. 1994. **Diet of the Chaco Chachalaca**. Wilson Bull., v. 106, n. 4, p. 640-648.
- COLLAR, N. J.; GONZAGA, L. P.; KRABBE, N.; MADROÑO-NIETO, A.; NARANJO, L. G.; PARKER-III, T. A.; WEGE, D. C. 1992. **Threatened birds of the Americas: the ICBP/IUCN Red Data Book**. Cambridge, UK: International Council for Bird Preservation.
- CONWAY, W. G. 1980. **An overview of captive propagation**. Em: Conservation Biology – An Evolutionary-Ecological Perspective. (Soulé, M.E. & Wilcox, B.A. eds.). Sinauer Associates INC, Massachusetts.

- DARLINGTON, P. J. Jr. 1957. *“Zoogeography: the Geographical Distribution of Animals”*. New York: John Wiley & Sons. Inc.
- DAVANÇO, P. V. 2012. **Utilização de loci de microssatélites para a identificação de híbridos e manejo genético de uma espécie de ave brasileira extinta natureza: o mutum-de-alagoas, *Pauxi mitu* (Aves, Cracidae)**. Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 65f.
- DEL HOYO, J. 1994. **Family Cracidae**. Pp. 310-364 In J. del Hoyo, A. Elliot, & J. Sargatal (eds.) *Handbook of the birds of the world. New World vultures to guineafowl*. v. 2. Barcelona: Lynx Editions.
- DELACOUR, J.; AMADON, D. 1973. **Curassows and Related Birds**. Milan: Amailcare Pizzi.
- EI MOUSADIK, A.; PETIT, R.J. 1996. **Righ level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Marocco**. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 832-839.
- ÉRARD, C.; THÉRY, M. 1994. **Frugivorie et ornithocorie en forêt Guyanaise: l'exemple des grans oiseaux terrestres et de la Penelope marail**. *Alauda* 62: 27-31.
- ÉRARD, C.; THÉRY, M.; SABATIER, D. 1991. **Régime alimentaire de Tinamus major, (Tinamidae), Crax alector (Cracidae) et Psophia crepitans (Psophiidae) en forêt guyanaise**. *Gibier Faune Sauvage* 8: 183-210.
- ESCALANTE, P. 1994. **Filogenia DE los Cracidos**. Houston. Unpubl. presen.
- FRANCISCO, M. R. 2005. Estruturação genética em populações de **tangará-dançarino, *Chiroxiphia caudata* (Aves, Pipridae) no corredor costeiro da Mata Atlântica (SP) e sua importância para a conservação**. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 116f.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. 2010. **Introduction to conservation genetics**. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- FRANK-HOEFLICH, K.; SILVEIRA, L. F.; ESTUDILLO-LÓPEZ, J.; GARCÍA-KOCH, A. M.; ONGAYLARIOS, L.; PIÑERO, D. 2007. **Increased taxon sampling of molecular and osteological data resolves disagreements in Cracid phylogeny**. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, v. 45, p. 242-254.
- GARCIA, C.; BROOKS, D.M. 1997. **Evolution of *Crax* sociobiology and phylogeny using behavioral and ecological characters**. Pp. 401-410 In: *The Cracidae: their Biology and Conservation* (S.D. Strahl, S. Beaujon, D.M. Brooks, A.J. Begazo, G. Sedaghatkish and F. Olmos, Eds.). Hancock House Publ., Wa.

- GONÇALVES, E. C.; FERRARI, S. F.; BASTOS, H. B.; WAJNTAL, A.; ALEIXO, A.; SCHNEIDER, M. P. 2010. **Populations of the bared-faced curassow (*Crax fasciolata*) based on cross-species microsatellite markers: implications for conservation an management.** *Biochem Gent.* 48: 472-479.
- GOUDET, J. 1995. **FSTAT (version 1.2):** a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.
- GRAU, E. T. 2008. **Filogenia Molecular e Biogeografia: Jacu e Jacutingas (Cracidade).** Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 138p.
- GROOMBRIDGE, B. 1992. **Global Biodiversity: Status of the Earth's Living Resources.** Compiled by the World Conservation Monitoring Centre, Cambridge, U.K. Chapman and Hall, London.
- GUIX, J.C.; RUIZ, X. 1997. **Weevil larvae dispersal by guan in SE Brazil.** *Biotrop.* 29: 522-525.
- GÚZMAN-A., E., D.M. BROOKS and G. SEDAGHATKISH. 1999. **Notas sobre la historia natural de los cracidos alberdgados en el Museo "Noel Kempff Mercado", Santa Cruz, Boliva, con notas sobre la taxonomia de las pavas del genero *Pipile*.** *Bol. CSG* 8: 20-28.
- HAGEN, E. N. et al. 2011. **Conservation genetic management of a critically endangered New Zealand endemic bird: minimizing inbreeding in the Black Stilt *Himantopus novaezelandiae*.** *Ibis*, v. 153, p. 556-561.
- HÄNFLING, B., Bolton, P., Harley, M. & Carvalho, G.R. 2005. **A molecular approach to detect hybridization between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius spp.* and *Cyprinus carpio*).** *Freswater Biology* 50: 403-417.
- HARR, B.; ZANGERL, B.; SCHLOTTERER, C. 2000. **Removal of microsatellite interruptions by DNA replication slippage: phylogenetic evidence from *Drosophila*.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, p. 1001-1009.
- HUGHES, C. R.; LARSON, E. D. 2000. **Characterization of microsatellite loci developed for the wattled curassow, *Crax globulosa*.** University of Miami.
- HURLBERT, S. H. 1971. **The non-concept of species diversity: a critique and alternative parameters.** *Ecology*, v. 52, p. 577-586.
- IBAMA. 2003. **Lista Nacional de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção.** Portaria de 22 de maio de 2003. IBAMA/MMA, Brasília.
- IUCN. 2008. **IUCN Red List of Threatened Species.** Version 2011.2. 2011. Disponível em: <www.iucnredlist.org>.

- IVY, J. A. et al. 2009. **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.
- JONES, K. L.; GLENN, T. C.; LACY, R. C.; PIERCE, J. R.; UNRUH, N.; MIRANDE, C. M.; CHAVEZ-RAMIREZ, F. 2002. **Refining the Whooping crane studbook by incorporating microsatellite DNA and leg-banding analyses.** *Conservation Biology*, n. 16, pp. 789-7999.
- KALINOWSKI, S. T.; WAGNER, A. P.; TAPER, M. L. 2006. **ML-Relate:** a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, v. 6, p. 576-579.
- KELLER, L. F.; WALLER, D. M. 2002. **Inbreeding effects in wild populations.** *Trends in Ecology and Evolution*, v. 17, p. 230-241.
- KRUGLYAK, S. et al. 2000. **Distribution and abundance of microsatellites in the yeast genome can be explained by a balance between slippage events and point mutations.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, p. 1210-1219.
- LACY, R. C. 1993. **Vortex:** A computer simulation model for population viability analysis. *Wildlife Research*, v.20, p. 45-65.
- LACY, R.C.; BORHAT, M.; POLLAK, J.P. 2005. **Vortex:** A Stochastic Simulation of the Extinction Process. Version 9.50. Brookfield, IL: Chicago Zoological Society.
- LAGANARO, N.M. 2009. **Análise de Viabilidade Populacional (PVA) de *Crax blumenbachii* (Spix, 1825) (Galliformes, Cracidae) em zoológicos do Brasil.** Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 57 f.
- LANDE, R.; BARROWCLOUGH, G. 1987. **Effective population size, genetic variation, and their use in population management.** In: SOULÉ, M. E. (ed.). *Viable Populations for Conservation*. Cambridge University Press.
- LOWEN, J.C.; BARTRINA, L.; CLAY, R.P.; TOBIAS, J.A. 1996. **Biological surveys and conservation priorities in eastern Paraguay.** CSB Cons. Publ., Cambridge, U.K.
- LUO, S; JOHNSON, W. E.; MARTENSON, J.; ANTUNES, A.; MARTELLI, P.; UPHYRKINA, O.; TRAYLOR-HOLZER, K.; SMITH, J. L. D.; O'BRIEN, S. J. 2008. **Subspecies Genetic Assignments of Worldwide Captive Tigers Increase Conservation Value of Captive Populations.** *Current Biology* 18, 592–596.
- MARTIN, P. S.; KLEIN, R. G. (eds). 1984. **Quaternary Extinctions: A Prehistoric Revolution.** University of Arizona Press, Tucson.
- MILLER, K. A. et al. 2011. **Genetic structure and individual performance following a recent founding event in a small lizard.** *Conservation Genetics*, v. 12, p. 461-473.

- MILLER, P. S.; LACY, R. C. 2003. **Vortex**: A Stochastic Simulation of the Extinction Process. Version 9 User's Manual. Conservation Breeding Specialist Group (SSC/IUCN), Apple Valley, MN.
- MIOTTO, R. A. et al. 2011. **Genetic diversity and population structure of pumas (*Puma concolor*) in southeastern Brazil**: implications for conservation in a human-dominated landscape. *Conservation Genetics*, v. 12, p. 1447-1455.
- NARDELLI, P.M. 1993. **A Preservação do Mutum-de-Alagoas *Mitu mitu***. Brasil, Zôo-botânica Mário Nardelli, Rio de Janeiro.
- NIELSEN, R. K., PERTOLDI, C.; LOESCHCKE, V. 2007. **Genetic evaluation of the captive breeding program of the Persian wild ass**. *Journal of Zoology*, v. 272, p. 349-357.
- NOVAES, F.C.; LIMA, M.F.C. 1998. **Aves de Grande Belém**: Mun. Belém e Ananindeua, Pará. Mus. Par. Emílio Goeldi, Belém, Brasil.
- NSUBUGA, A. M. et al. 2010. **The cryptic genetic structure of the North American captive gorilla population**. *Conservation Genetics*, v. 11, p. 161-172.
- OLIVEIRA JUNIOR, P. R. 2012. **Monitoriamento genético da população *Ex Situ* da jacutinga (*Aburria jacutinga*, Aves. Cracidae) como subsídio para a conservação da espécie**. Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 84 f.
- PAULA, R.C.; MEDICI, P.; MORATO, R.G. 2008. **Plano de Ação para Conservação do Lobo-guará**: Análise de Viabilidade Populacional e de Habitat. Ibama. Brasília. 158 p. ; il. :28 cm.
- PEREIRA, S. L. 1996. **Variabilidade Genética em Cracídeos e Monitoramento de Populações Reintroduzidas em Áreas Reflorestadas**. São Paulo.
- PEREIRA, S. L.; WAJNTAL, A. 2011. **Estimates of the genetic variability in a natural population of barred-faced curassow *Crax fasciolata* (Aves, Galliformes, Cracidae)**. *Bird Conservation International*. 11: 301-308.
- PERES, C.A.; VAN ROOSMALEN, M.G.M. 1996. **Avian dispersal of "mimetic seeds" of *Ormosia lignivalvis* by terrestrial granivores: deception or mutualism?** *Oikos* 75: 249-258.
- PRIMACK, R. B. 2001. **Biologia da Conservação**. Londrina: E. Rodrigues.viii, 328p.
- PRITCHARD, J. K.; MATTHEW, S.; DONNELLY, P. 2000. **Inference of population structure using multilocus genotype data**. *Genetics*, n. 155, pp. 945-959, 2000.
- RALLS, K., BALLOU, J. D. 2004. **Genetic status and management of California Condors**. *Condor* 106: 215-228.

- RALLS, K., BALLOU, J.D. 1983. **Extinction:** Lessons from zoos. In C. M. Schonewald-Cox, S.M. Chambers, B. MacBryde e L. Thomas, Genetics and Conservation: A reference for managing wild animal and plant populations, pp. 164-184. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
- RALLS, K.; BALLOU, J. D.; RIDEOUT, B. A.; FRANKHAM, R. 2000. **Genetic management of *Chondrodystrophy* in California condors.** Animal Conservation, n. 3, pp. 145-153.
- RAMIREZ, O. et al. 2006. **Genetic assessment of the Iberian wolf *Canis lupus signatus* captive breeding program.** Conservation Genetics, v. 7, p. 861-878.
- RAPOSO, A.; MARTINS, K.; CIAMPI, A.Y.; WADT, L.H.O.; VEASEY, E.A. 2007. **Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre.** Pesquisa agropecuária brasileira. Brasília, v.42, n.9: 1291-1298.
- RAYMOND, M. & ROUSSET, F. 1995. **Genepop, Version 1.2:** Population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity 86: 248-249. 19
- REID, W. V., MILLER, K. R. 1989. **Keeping Options Alive: The Scientific Basis for Conserving Biodiversity.** World Resources Institute, Washington, D.C.
- REMSEN, J.V. and S.W. CARDIFF. 1990. **Patterns of elevational and latitudinal distribution, including a “niche switch” in some guans (Cracidae) of the Andes.** Condor 92: 970-981.
- RIDGELY, R. S., T. F. ALLNUTT, T. BROOKS, D. K. Mcnicol, D. W. MEHLMAN, B. E. YOUNG, and J. R. ZOOK. 2005. **Digital Distribution Maps of the Birds of the Western Hemisphere**, version 2.1. NatureServe, Arlington, Virginia, USA.
- ROBERT, A.; COUVET, D.; SARRAZIN, F. 2007. **Integration of demography and genetics in population restorations.** Ecoscience, v. 14, p. 463-471.
- ROUSSET, F. 2008. **Genepop'007:** a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. Molecular Ecology Resources, v. 8, p. 103-106.
- RUGGIERO, L.F., HAYWARD, G.D., SQUIRES, J.R. 1994. **Viability analysis in biological evaluations:** Concepts of population viability analysis, biological population and ecological scale. Conservation Biology 8: 364-368.
- RUIZ-LÓPEZ, M. J. et al. 2009. **Pedigrees and microsatellites among endangered ungulates:** what do they tell us? Molecular Ecology, v. 18, p. 1352-1364.
- 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**. 2ª Ed. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- SANTAMARÍA-G., M.; FRANCO, A.M. 1994. **Historia natural del paujil (*Mitu salvini*) y densidades poblacionales de crácidos en un bosque de la Amazonia Colombiana**. Informe final, WCS, NY.
- SEAL, U. S. 1988. **Intensive technology in the care of ex situ populations of vanishing species**. In: Wilson, E. O. (ed.) Biodiversity. National Academy Press, 1988.
- SEDAGHATKISH, G. 1996. **The Importance of Seed Dispersers in the Conservation of Useful Wild Plant Species: a Case Study of the Avian Family Cracidae**. Unpubl. M.Sc. Thesis, Univ. Maryland, College Park.
- SEDAGHATKISH, G., GALETTI, M.; DENNY, C. 1999. **The importance of *Pipile* as a seed disperser of economically important plants**. Pp. 4-12 In: Biology and Conservation of the Piping Guans (*Pipile*) (D.M. Brooks, A.J. Begazo and F. Olmos, Eds.). Spec. Publ. CSG 1, Houston.
- SHAFFER, M. L. 1987. **Minimum viable populations: coping with uncertainty**. In: Soulé, M. E. (ed.) Viable Populations for Conservation. Cambridge University Press.
- SICK, H. 1997. **Ornitologia Brasileira**. Ed. Nova Fronteira, RJ.
- SILVA, J.L.; STRAHL, S. 1991. **Human impact on populations of chachalacas, guans and Curassows (Galliformes: Cracidae) in Venezuela**. Pp. 37-52 In: Neotropical Wildlife Use and Conservation (J.G. Robinson and K.H. Redford, Eds.). Univ. Chicago Press.
- SILVA, J.L.; STRAHL, S. 1997b. **Presión de caza sobre poblaciones de Crácidos en los Parques Nacionales al norte de Venezuela**. Pp. 437-448. In: The Cracidae: their Biology and Conservation (S.D. Strahl, S. Beaujon, D.M. Brooks, A.J. Begazo, G. Sedaghatkish and F. Olmos, Eds.). Hancock House Publ., Wa.
- SILVEIRA, L. F. 2003. **Filogenia dos Cracidae (Aves: Galliformes) com base em caracteres osteológicos**. Dissertação (PhD) – Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo.
- SILVEIRA, L. F.; OLMOS, F. 2003. **Cracids in coastal Alagoas state, northeastern Brazil**. In: Annual Review of the World Pheasant Association 2002/2003. Hampshire, UK, p 49-52.
- SILVEIRA, L. F.; OLMOS, F. 2007. **Quantas espécies de aves existem no Brasil? Conceitos de espécie, conservação e o que falta descobrir**. Revista Brasileira de Ornitologia, v. 15, p. 289-296.

- SILVEIRA, L.F.; SOARES, E.S.; BIANCHI, C.A. 2008. **Plano de Ação para Conservação de Galliformes Ameaçados de Extinção (aracuãs, jacus, jacutingas, mutuns e urus)**. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – Brasília: ICMBio. 88p.
- SMITH, F.D.M., MAY, R.M., PELLEW, R., JOHNSON, T.H., WALTER, K.R. 1993. **How much do we know about the current extinction rate?** Trends in Ecology and Evolution 8:375-378.
- SOUSA, L. M. S.; LAGANARO, N. M.; CAMARGO, C.; DAVANÇO, P. V.; OLIVEIRA JR., P. R. R.; AZEREDO, R. M. A.; SILVEIRA, L. F.; FRANCISCO, M. R. 2012. **Microsatellite markers for detecting hybrids between the extinct in the wild Alagoas Curassow (*Pauxi mitu*) an Razor-billed Curassow (*P.tuberosa*)(Aves, Galliformes)**. Conservation Genetics Resources. DOI 10.1007.
- STOTZ, D.F.; FITZPATRICK, J.W.; PARKER III, T.A.; MOSKOVITS, D.K. 1996. **Neotropical Birds: Ecology and Conservation**. Chicago: Univ. Chicago Press.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. 2007. **MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0**. Mol Biol Evol 24: 1596 – 1599.
- STRAHL, S. D.; GRAJAL, A. 1991. **Conservation of large avian frugivores and the management of Neotropical protected areas**. Oryx, v. 25, p. 50-55.
- STRAHL, S.D. 1990. **Large Neotropical forest birds: the need for field research**. Pp. 35-39 In: Proc. 62nd Mtg. SSC. FotoArte Arata/FUDENA, Caracas.
- TAUTZ, D. 1989. **Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers**. Nucleic Acids Research, 17, 6463-6471.
- TAYLOR, S. S. et al. 2010. **Inbreeding coefficient and heterozygosity–fitness correlations in unhatched and hatched song sparrow nestmates**. Molecular Ecology, v. 19, p. 4454-4461.
- TEIXEIRA, D.M. 1997. **A conservação dos Cracidae no Nordeste Extremo do Brasil**. Pp 273-280 In: Strahl, S.D., S. Beaujon, D.M. Brooks, A.J. Begazo, G. Sedaghatkish and F. Olmos (Eds). The Cracidae: their Biology and Conservation. Hancock House Publ., WA.
- TEMPLETON, A. R.; ROBERTSON, R. J.; BRISSON, J.; STRASBURG, J. 2001. **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, n. 98, pp. 5426-5432.
- THÉRY, M.; ÉRARD, C.; SABATIER, D. 1992. **Les fruits dans le régime alimentaire de Penelope marail (Aves and Cracidae) en forêt guyanaise: frugivorie stricte et selective?** Rev. Ecol. 47: 383-401.

- THIOLLAY, J. M. 1994. **Structure, density and rarity in an Amazonian rainforest bird community.** *Journal of Tropical Ecology*, v. 10, p. 449-481.
- TORDOFF, H. B.; MACDONALD, J. R. 1957. **A new bird (Family Cracidae) from the early Oligocene of South Dakota.** *Auk*, v. 74, p. 174-184.
- TRACY, L. N. et al. 2011. **Preserving genetic diversity in threatened species reintroductions: how many individuals should be released?** *Animal Conservation*, v. 14, p. 439-446.
- VAN OOSTERHOUT, C. et al. 2004. **MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data.** *Molecular Ecology Notes*, v. 4, p. 535-538.
- VERARDI, A.; LUCCHINI, V.; RANDI, E. 2006. **Detecting introgressive hybridization between free-ranging domestic dogs and wild wolves (*Canis lupus*) by admixture linkage disequilibrium analysis.** *Molecular Ecology* 15: 2845-2855.
- VUILLEUMIER, R. F. 1965. **Relationships and Evolution within the Cracidae.** *Bull. Mus. Zool.*, v. 134, p.1-27.
- WAKEFIELD, S.; KNOWLES, J.; ZIMMERMANN, J.; VAN DIERENDONCK, M. 2002. **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.
- WALLACE, R.B.; PAINTER, R.L.E., RUMIZ, D.I.; SAINZ, L.; TABER, A.B. 2001. **Comparative ecology of cracids in northern Dpto. Santa Cruz, Bolivia** Pp. 68-86 In: *Cracid Ecology and Conservation in the New Millenium* (D.M. Brooks and F. Gonzalez-Garcia, Eds.). Misc. Publ. Houson Mus. Nat. Sci., 2.
- WAPLES, R. S. 2006. **A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci.** *Conservation Genetics*, v. 7, p. 167-184.
- WAPLES, R. S.; DO, C. 2008. **LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium.** *Molecular Ecology Resources*, v. 8, p. 753-756.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. 1984. **Estimating F-statistics for the analysis of population structure.** *Evolution*, v. 38, p. 1358-1370.
- WESKE, J.S.; TERBORGH, J.W.. 1971. **A new subspecies of curassow of the genus *Pauxi* from Peru.** *Auk* 88: 233-238.
- WETMORE, A. 1941. **Notes on the birds of the Guatemala highlands.** *Proc. U.S. Nat. Mus.* 89: 523-581.

- WISELY, S. M.; MCDONALD, D. B.; BUSKIRK, S. W. 2003. **Evaluation of the genetic management of the endangered Black-footed ferret (*Mustela nigripes*)**. Zoo Biology, n. 22, pp. 287-298.
- WITZENBERGER, K. A.; HOCHKIRCH, A. 2011. ***Ex Situ* conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species**. Biodiversity and Conservation, v. 20, p. 1843-1861.
- YAMASHITA, C. 2001. **Notas sobre *Penelope ochrogaster***. Bol. CSG 13: 10
- YOUNG, D. L.; ALLARD, M. W.; MORENO, J. A.; MIYAMOTO, M. M.; RUIZ, C. R.; PÉREZ-VIEIRA, R. A. 1998. **DNA fingerprint variation and reproductive fitness in the plain pigeon**. Conservation Biology, n. 12, pp. 225-227.
- YUMOTO, T. 1999. **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.
- ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. 2002. **Strategies for microsatellite isolation: a review**. Molecular Ecology, n. 11, pp. 1-16.

10. ANEXOS

Anexo 1. Valores de *P* para as análises pareadas de desequilíbrio de ligação em dez *loci* de microssatélites utilizados em *Crax fasciolata* (Aves, Cracidae) na população fundadora oriunda de Porto Primavera. Valor de significância de *P* após correção de Bonferroni: 0.001.

Locus	População Porto Primavera
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-37	1.000
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-4	1.000
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 2-30	0.502
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-30	0.559
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 3-1	0.011
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 2-19	0.744
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-16	1.000
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.643
<i>Pauxi</i> 1-13 x <i>Pauxi</i> 1-29	1.000
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 1-4	0.423
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 2-30	0.363
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 1-30	1.000
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 3-1	0.054
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 2-19	0.771
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 1-16	1.000
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.678
<i>Pauxi</i> 1-37 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.026
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 2-30	0.893
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 1-30	0.439
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 3-1	0.526
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 2-19	1.000
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 1-16	0.412
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 1-36	1.000
<i>Pauxi</i> 1-4 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.963
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 1-30	0.605
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 3-1	0.029
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 2-19	0.804
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 1-16	0.002
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.942
<i>Pauxi</i> 2-30 x <i>Pauxi</i> 1-29	1.000
<i>Pauxi</i> 1-30 x <i>Pauxi</i> 3-1	0.136
<i>Pauxi</i> 1-30 x <i>Pauxi</i> 2-19	0.071
<i>Pauxi</i> 1-30 x <i>Pauxi</i> 1-16	0.194
<i>Pauxi</i> 1-30 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.552
<i>Pauxi</i> 1-30 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.634
<i>Pauxi</i> 3-1 x <i>Pauxi</i> 2-19	0.499
<i>Pauxi</i> 3-1 x <i>Pauxi</i> 1-16	0.269
<i>Pauxi</i> 3-1 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.059
<i>Pauxi</i> 3-1 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.659
<i>Pauxi</i> 2-19 x <i>Pauxi</i> 1-16	0.792
<i>Pauxi</i> 2-19 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.585
<i>Pauxi</i> 2-19 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.709
<i>Pauxi</i> 1-16 x <i>Pauxi</i> 1-36	0.495
<i>Pauxi</i> 1-16 x <i>Pauxi</i> 1-29	1.000
<i>Pauxi</i> 1-36 x <i>Pauxi</i> 1-29	0.389

CESP	V 00579	M	312	0,33	0,35	0,40	0,30	0,30	0,45	0,30	0,40	0,30	0,50	0,55	0,35	0,35	0,35	0,25	0,30	0,60	0,20	0,55	0,20	0,35	0,50	0,40	0,50	0,35	0,30	0,20	0,35	0,30	0,45	0,55	0,30
CESP	V 00574	M	314	0,22	0,35	0,35	0,35	0,55	0,50	0,55	0,45	0,50	0,30	0,20	0,40	0,30	0,40	0,35	0,45	0,35	0,45	0,25	0,40	0,50	0,40	0,50	0,50	0,40	0,25	0,50	0,50	0,45	0,30	0,30	0,40
CESP	V 00536	M	316	0,50	0,35	0,40	0,45	0,30	0,45	0,40	0,40	0,25	0,50	0,70	0,40	0,40	0,40	0,35	0,35	0,60	0,30	0,50	0,35	0,50	0,50	0,30	0,44	0,40	0,45	0,30	0,30	0,40	0,45	0,60	0,35

Anexo 3. Pareamento de todas as fêmeas com todos os machos de *Crax fasciolata*, considerando o valor de (1-Ps), para o Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas (PC) (13 indivíduos). Células selecionadas e em azul apresentam os cruzamentos indicados para garantir a variabilidade genética dos indivíduos totais, em verde escuro os cruzamentos com maiores valores de (1 - Ps) e em verde claro os segundo maiores valores de (1- Ps).

População				PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC
Anilha				0495 ZMO	CPC1272	CPC177	CPC72400	s/a Viv. 283	CPC1323	s/anilha (Viv. 288)
Sexo				F	F	F	F	F	F	F
ID				249	251	253	255	257	259	261
PC	CRAXBRASIL	M	250	0,56	0,40	0,45	0,45	0,30	0,40	0,55
PC	CPC73100	M	252	0,44	0,45	0,35	0,40	0,50	0,45	0,40
PC	CPC1206	M	254	0,39	0,15	0,35	0,15	0,40	0,30	0,50
PC	CPC178	M	256	0,39	0,20	0,35	0,35	0,45	0,35	0,55
	s/ anilha (Viv. 283)	M	258	0,19	0,17	0,22	0,33	0,33	0,39	0,50
PC	CRAX9509	M	260	0,50	0,35	0,45	0,40	0,30	0,20	0,55

Anexo 4. Pareamento de todas as fêmeas com todos os machos de *Crax fasciolata*, considerando o valor de (1-Ps), para o criatório da CESP Paraibuna (CESP) (50 indivíduos). Células selecionadas e em azul apresentam os cruzamentos indicados para garantir a variabilidade genética dos indivíduos totais, em verde escuro os cruzamentos com maiores valores de (1 - Ps) e em verde claro os segundo maiores valores de (1- Ps) e em vermelho os pareamentos atuais dentro do criatório.

População			21955	V 00559	21719	5	3	V 00573	V 00575	V 00566	V 00521	V 00567	V 00541	V 00554	V 00525	V 00527	V 00544	V 00515	V 00537	V 00545	V 00571	V 00523	s/ anilha	V 00565	V 00538	V 00557	V 00543	
Sexo			F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	
ID			269	271	273	275	277	279	281	283	285	287	289	291	293	295	297	299	301	303	305	307	309	311	313	315	317	
CESP	V 00590	M	268	0,60	0,50	0,15	0,30	0,45	0,35	0,50	0,40	0,55	0,25	0,50	0,20	0,50	0,60	0,40	0,60	0,56	0,40	0,35	0,50	0,60	0,50	0,20	0,30	0,45
CESP	V 00584	M	270	0,44	0,44	0,61	0,61	0,44	0,28	0,44	0,33	0,50	0,67	0,44	0,56	0,39	0,33	0,67	0,56	0,56	0,39	0,39	0,50	0,56	0,33	0,56	0,61	0,33
CESP	V 00531	M	272	0,45	0,30	0,55	0,50	0,30	0,30	0,40	0,15	0,40	0,50	0,15	0,55	0,35	0,45	0,45	0,40	0,56	0,40	0,35	0,30	0,45	0,35	0,45	0,55	0,35
CESP	V 00532	M	274	0,40	0,25	0,55	0,55	0,35	0,30	0,35	0,20	0,35	0,55	0,10	0,60	0,25	0,40	0,40	0,30	0,50	0,40	0,30	0,25	0,40	0,35	0,40	0,60	0,30
CESP	V 00582	M	276	0,25	0,25	0,50	0,70	0,35	0,40	0,45	0,50	0,40	0,65	0,45	0,55	0,45	0,35	0,55	0,40	0,44	0,30	0,55	0,30	0,45	0,45	0,50	0,60	0,50
CESP	4	M	278	0,40	0,25	0,55	0,55	0,35	0,35	0,35	0,20	0,35	0,55	0,10	0,60	0,25	0,40	0,40	0,30	0,50	0,40	0,30	0,25	0,40	0,35	0,40	0,60	0,30
CESP	V 00562	M	280	0,50	0,40	0,40	0,40	0,45	0,35	0,40	0,40	0,50	0,45	0,50	0,40	0,45	0,50	0,55	0,50	0,44	0,40	0,35	0,45	0,55	0,40	0,45	0,55	0,35
CESP	V 00548	M	282	0,35	0,40	0,65	0,65	0,10	0,35	0,20	0,35	0,15	0,70	0,35	0,60	0,35	0,35	0,65	0,35	0,33	0,50	0,40	0,10	0,40	0,45	0,60	0,65	0,25
CESP	V 00516	M	284	0,60	0,50	0,20	0,25	0,45	0,35	0,50	0,35	0,55	0,20	0,45	0,25	0,45	0,60	0,35	0,60	0,56	0,40	0,30	0,50	0,60	0,50	0,15	0,25	0,45
CESP	21419	M	286	0,35	0,30	0,50	0,50	0,40	0,30	0,30	0,15	0,40	0,50	0,15	0,55	0,30	0,35	0,35	0,25	0,44	0,35	0,25	0,30	0,45	0,30	0,35	0,55	0,25
CESP	V 00568	M	288	0,30	0,35	0,55	0,45	0,30	0,30	0,30	0,20	0,25	0,55	0,20	0,50	0,20	0,30	0,50	0,30	0,44	0,45	0,20	0,25	0,30	0,35	0,50	0,50	0,25
CESP	2	M	290	0,45	0,40	0,55	0,65	0,40	0,35	0,35	0,20	0,35	0,65	0,25	0,55	0,40	0,40	0,55	0,30	0,50	0,35	0,40	0,30	0,45	0,25	0,50	0,65	0,30
CESP	1	M	292	0,45	0,25	0,55	0,60	0,35	0,35	0,35	0,25	0,35	0,60	0,15	0,60	0,25	0,40	0,45	0,40	0,50	0,35	0,35	0,20	0,40	0,35	0,40	0,60	0,30
CESP	V 00563	M	294	0,60	0,60	0,20	0,20	0,60	0,50	0,65	0,60	0,65	0,15	0,70	0,20	0,60	0,70	0,30	0,65	0,61	0,60	0,45	0,70	0,60	0,65	0,30	0,10	0,60
CESP	V 00533	M	296	0,35	0,30	0,50	0,55	0,35	0,30	0,30	0,20	0,35	0,55	0,20	0,55	0,35	0,35	0,40	0,25	0,44	0,35	0,30	0,25	0,45	0,30	0,40	0,60	0,25
CESP	V 00542	M	298	0,40	0,30	0,60	0,65	0,25	0,40	0,35	0,30	0,25	0,65	0,20	0,65	0,30	0,35	0,50	0,35	0,50	0,40	0,40	0,10	0,45	0,40	0,45	0,65	0,35
CESP	V 00518	M	300	0,20	0,50	0,70	0,65	0,35	0,45	0,40	0,40	0,30	0,75	0,40	0,65	0,40	0,15	0,70	0,35	0,44	0,45	0,40	0,30	0,45	0,50	0,70	0,70	0,40
CESP	V 00534	M	302	0,45	0,40	0,45	0,40	0,35	0,35	0,45	0,40	0,30	0,50	0,40	0,35	0,35	0,50	0,50	0,50	0,61	0,40	0,35	0,40	0,30	0,45	0,45	0,45	0,35
CESP	V 00576	M	304	0,35	0,50	0,65	0,60	0,40	0,50	0,45	0,45	0,30	0,70	0,45	0,60	0,25	0,35	0,75	0,50	0,39	0,55	0,35	0,35	0,45	0,45	0,65	0,65	0,40
CESP	V 00524	M	306	0,33	0,22	0,50	0,61	0,28	0,33	0,22	0,33	0,28	0,56	0,33	0,44	0,22	0,44	0,56	0,33	0,33	0,50	0,28	0,28	0,22	0,39	0,44	0,50	0,17
CESP	V 00522	M	308	0,25	0,35	0,50	0,55	0,30	0,30	0,25	0,25	0,35	0,50	0,35	0,45	0,40	0,40	0,45	0,25	0,28	0,45	0,30	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,20
CESP	V 00555	M	310	0,35	0,40	0,50	0,60	0,40	0,35	0,30	0,35	0,40	0,55	0,45	0,45	0,40	0,45	0,55	0,35	0,33	0,50	0,35	0,40	0,35	0,40	0,45	0,50	0,25
CESP	V 00579	M	312	0,40	0,30	0,50	0,55	0,35	0,35	0,35	0,25	0,30	0,60	0,20	0,55	0,20	0,35	0,50	0,40	0,50	0,35	0,30	0,20	0,35	0,30	0,45	0,55	0,30
CESP	V 00574	M	314	0,45	0,50	0,30	0,20	0,40	0,30	0,40	0,35	0,45	0,35	0,45	0,25	0,40	0,50	0,40	0,50	0,50	0,40	0,25	0,50	0,50	0,45	0,30	0,30	0,40
CESP	V 00536	M	316	0,40	0,25	0,50	0,70	0,40	0,40	0,40	0,35	0,35	0,60	0,30	0,50	0,35	0,50	0,50	0,30	0,44	0,40	0,45	0,30	0,30	0,40	0,45	0,60	0,35

