

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

**EPIDEMIOLOGIA E GENÉTICA POPULACIONAL DO LOBO GUARÁ ,
Chrysocyon brachyurus (ILLIGER, 1915) (CARNÍVORA, CANIDAE) NA
REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO.**

PAULO SERGIO RIBEIRO DE MATTOS

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciências biológicas), na área de concentração Ecologia e Recursos Naturais.

São Carlos – SP

2003

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M444eg

Mattos, Paulo Sergio Ribeiro de .
Epidemiologia e genética populacional de lobos guarás,
Chrysocyon brachyurus, (ILLIGER 1815) (CARNIVORA,
CANIDAE) no nordeste do estado de São Paulo / Paulo
Sergio Ribeiro de Mattos . -- São Carlos : UFSCar, 2003.
85 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2003.

1. Conservação de recursos biológicos. 2. Lobo guará. 3.
Genética de populações. 4. Epidemiologia. I. Título.

CDD: 639.9 (20^a)

Prof. Dr. Arno Rudi Schwantes

Orientador

Prof. Dr. José Salatiel Rodrigues Pires

Co-orientador

AGRADECIMENTOS

Aos professores Arno Rudi Schwantes, José Salatiel Rodrigues Pires e José Eduardo dos Santos, pelo apoio logístico e pelos ensinamentos em ecologia, genética e biologia da conservação.

Ao professor Marco Del Lama por seu importante apoio ao estudo de marcadores genéticos, análise dos resultados, visão crítica e amizade.

À minha esposa Nirjara, pela sabedoria, carinho e apoio nos momentos difíceis e pela importante contribuição nas questões de genética, estatística e conservação.

Aos professores Antônio Sergio Spanó Seixas, Clovis Wesley Oliveira de Souza, Gilberto Moraes, pelo apoio nas análises clínicas.

Às professoras Maria Luiza B. Schwantes, Eucléia Primo Betioli Contel e Norma Mortari, nos estudos de marcadores genéticos.

Ao José Eduardo Mantovani, grande companheiro de campo e principal responsável pela amostragem dos animais da Estação Ecológica de Jataí.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento e concessão de bolsa de estudos.

Ao relator da FAPESP que foi importante para o direcionamento do trabalho com suas valiosas sugestões.

Ao Rogério Hartung Toppa, pelo apoio no campo, na digitalização dos mapas e discussões temáticas.

À Ivete Deolinda Pereira Polombo, Zirzélia M. S. Venézio, Maria Isabel Godóy, Elizabete Pereira Barreto e Silvia Helena Machado, pela ajuda imprescindível nas análises laboratoriais.

Ao Benedito Bassetti (Ditão), Seu Horácio Gomes e Sebastião Antônio de Oliveira (Tiãozinho) pelo trabalho, dedicação, e por me ensinarem a ver a natureza com os olhos do coração.

A todos os fazendeiros e trabalhadores do campo que deram apoio e trabalharam na captura e, sem os quais, este trabalho não existiria.

Aos amigos Carlos Henke (Bixo), Paulo Sergio (Teó), Paulinho, Tiago, Fernando, Danilo, Andréia, Samantha, Tarsio, Giordano, Flavinha, Jarrão, Gustavo, Whita, Simone e Hugo por estarem comigo nos momentos difíceis, e nos fáceis.

Ao diretor do Parque Ecológico de São Carlos, Fernando Magnani e ao "Chumbinho", por indicarem ocorrências de campo e por cederem as instalações para o manejo de alguns animais.

À Polícia Ambiental, por nos trazer alguns animais para o manejo e indicar ocorrências de campo.

Às minhas filhas Dhyana e Gabriela por serem uma fonte de inspiração, alegria e ternura.

Ao apoio incondicional e sincero do Sr. Tetsuro, D. Fumiko, Edison, Lú e Pat.

Aos meus pais, Edison e Glória, por me ensinarem o que é o amor, vontade e ética.

Ao mestre Osho, por me fazer acreditar que a paz e a unidade são possíveis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	pagina
Figura 1- Lobo guará ainda sob efeito de anestésico	2
Figura 2 - Mapa da América do Sul indicando a área de ocorrência do lobo guará.	3
Figura 3 – Fluxograma do trabalho.	10
Figura 4 A - distância entre 3 pares de pegadas do lobo guará, B - distância entre 2 pares vista de cima (a régua da figura tem o comprimento de 50 cm), C- fezes de lobo guará com sementes de <i>Solanum lycocarpum</i> , D - Pêlos de lobo guará na cerca de arame farpado.	13
Figura 5 - A- armadilha de madeira, B - armadilha de alambrado com lobo guará capturado.	15
Figura 6- Vista anterior da armadilha mostrando a divisão de alambrado deixando a isca inacessível ao lobo guará.	16
Figura 7 - Projeção do dardo medicamentoso.	18
Figura 8- A- paisagem com balança de vara, B- biometria corporal.	19
Figura 9 - A- Coleta de sangue, B- coleta de urina, C - coleta de fezes, D - tatuagem na parte interna da coxa direita.	21
Figura 10 - Lobo guará com coleira e sob recuperação anestésica.	22
Figura 11- Localidades onde foi obtido sucesso na captura de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>), os números indicam o tempo em que as armadilhas ficaram armadas.	35
Figura 12- Localidades onde não foi obtido sucesso na captura de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>), os números indicam o tempo em que as armadilhas ficaram armadas.	36
Figura 13- Mapa indicando as localidades onde foram obtidas amostras de sangue de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) para estudo de genética, na região nordeste do estado de São Paulo.	38
Figura 14- A – Ovo de ancilostomídeos e oocistos, B- ovo de ancilostomídeo e de <i>Hymenoleps sp</i> , C – ovos de <i>Hymenoleps sp</i> , D-E-F, ovos de <i>Prosthenorchis sp</i> .	40
Figura 15- Mapa temático indicando os nomes dos animais amostrados e as localidades de ocorrências de translocamentos e mortes de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>), na região nordeste do estado de São Paulo.	50
Figura 16- Eletroforese com coloração específica para hemoglobina. 1 – bovino, 2-16 – lobo guará.	53
Figura 17- Eletroforese com coloração específica para proteínas com atividade peroxidásica, objetivando o estudo da haptoglobina. 1 – soro de lobo guará, 2-16 – soro de lobo guará e hemoglobina humana, 17 – soro humano, 18 – hemoglobina humana.	53
Figura 18- Eletroforese de proteínas gerais do plasma. 1 e 31 equino, 2 a 30 lobo guará.	54
Figura 19 - Eletroforese com coloração específica para fosfoglicose isomerase (Pgi) em amostras de lobos guarás.	54
Figura 20 - Eletroforese com coloração específica para lactato desidrogenase (Ldh) de lobos guarás, a superóxido dismutase (Sod) também pode ser visualizada.	55
Figura 21 - Eletroforese com coloração específica para malato desidrogenase (Mdh). 1-abelha, 2 a 19 lobo guará.	55
Figura 22- Eletroforese com coloração específica para peptidase B (Pep-B) de lobos guarás.	56
Figura 23 - Eletroforese com coloração específica para 6 fosfoglicose desidrogenase (Pgd), a superóxido dismutase (Sod) também pode ser visualizada. 1 e 2 – abelha, 3 a 15 lobo guará..	56

LISTA DE TABELAS

Tabelas	página
Tabela 1 – Condições eletroforéticas em que foram genotipados sistemas protéicos de lobos guarás. As siglas TC, TB, EBT e TEMM significam tris-citrato, tris-borato, tris-borato-EDTA e tris-EDTA anidrido maleico respectivamente. Os géis do tipo “A” são constituídos por amido hidrolisado de milho a 14%, do tipo “B” amido hidrolisado de milho a 2% e agarose a 0,8% e do tipo “C” de poliacrilamida a 10%.	29
Tabela 2 - Número de Lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) utilizados para estudos específicos, esforço amostral e eficiência de captura.	37
Tabela 3 – Análise comparativa de percentuais de ocorrência de ovos de endoparasitos e ectoparasitos em lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) de vida livre e de cativeiro.	41
Tabela 4 - Número e percentual de ocorrências de parasitismo por carrapato em lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) no nordeste do estado de São Paulo.	42
Tabela .5- Resultados do teste T da comparação de parâmetros clínico-patológicos de animais positivos e negativos para parasitoses específicas. A letra “A” indica os testes que não puderam ser realizados, a “B” os que apresentaram diferenças significativas e “C” os que não apresentaram diferenças. As classificações de parasitos de 1 a 10 são de ancilostomídeos, tricurídeos, strongilídeos, <i>Dyppilidum sp</i> , <i>Hymenoleps sp</i> , <i>Prosthenorchis sp</i> , <i>Toxocara sp</i> , carrapatos, <i>Dioctophyme renale</i> e coccídeos respectivamente.	44
Tabela 6 - Valores que apresentaram diferenças significativas entre os parâmetros de animais positivos e negativos para parasitismo.	45
Tabela 7- Valores hematológicos comparativos (média ± desvio padrão) em lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>).	46
Tabela 8- Valores sorológicos comparativos (média ± desvio padrão) das enzimas alanina aminotransferase (ALT - antiga TGP) e aspartato aminotransferase (AST - antiga TGO), os produtos de metabolismo uréia e creatinina e proteína sérica em lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>).	47
Tabela 9- Valores de frequências alélicas de amostras de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) provenientes de 3 áreas do nordeste do Estado de São Paulo – Brasil. O equilíbrio de Hardy-Weinberg das amostras foi testado pelo Qui-quadrado (X^2) e os respectivos graus de liberdade (GL). Os resultados foram considerados para 5% de significância. Estes valores foram estimados pelos fenótipos dos seguintes sistemas protéicos: Fosfoglico-isomerase (Pgi), peptidase B (Pep -b), proteína inespecífica do plasma 4 (Ptn-4) e glicoxalase (Glo).	57
Tabela 10 – Valores de Qui-quadrado (X^2) e os respectivos graus de liberdade (GL) dos coeficientes de endogamia (F_{IS}) e de diferenciação interpopulacional (F_{ST}) de amostras de lobos guarás (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) provenientes do nordeste do Estado de São Paulo – Brasil. Os resultados foram considerados para 5% de significância. Estes valores foram estimados pelos fenótipos dos seguintes sistemas protéicos: Fosfoglicoisomerase (Pgi), peptidase B (Pep -b), proteína inespecífica do plasma 4 (Ptn-4) e glicoxalase (Glo).	57

RESUMO

Este estudo foi realizado na região nordeste do estado de São Paulo, com a obtenção de material biológico de lobos guarás para o estudo de epidemiologia (doenças parasitárias) e genética populacional. Foram levantadas também as ocorrências de mortes e avaliadas as relações entre os moradores da área rural e a espécie. Nos estudos de doenças parasitárias, foram detectadas infestações por ancilostomídeos, tricurídeos, estrombilídeos, ascarídeos, *Dypilidium sp.*, coccídeos, *Dioctophyme renale*, carrapatos e pulgas. Foram constatadas também ocorrências inéditas de parasitoses por *Hymenolepis sp* e *Prosthenorchis sp*. Entre as parasitoses, foi possível detectar alterações do quadro hemático de animais parasitados por ancilostomídeos, *Hymenolepis sp.*, coccídeos e carrapatos. Os estudos de genética populacional foram realizados com marcadores protéicos, com o objetivo de avaliar a heterozigosidade e a existência de estruturação populacional na região. O grau de polimorfismo encontrado (20%) não difere muito dos valores encontrados por outros autores em estudos populacionais de lobos guarás e outros canídeos silvestres. A estatística F indicou que não há uma redução significativa da heterozigosidade na amostra. Este teste indicou também que não há uma estruturação populacional na região, indicando que os rios Moji Guaçu e Pardo não se caracterizaram como bloqueadores do fluxo gênico para a espécie. Nesta região foram

constatados 3 translocamentos para o interior da Estação Ecológica de Jataí, 4 atropelamentos em estradas, uma morte por arma de fogo e uma ocorrência de uma animal sub-adulto em avançado estado de desidratação e caquexia. Os principais problemas relacionados com a conservação da espécie, relatados pelos moradores da região, foram a predação de aves domésticas, o acesso ao lixo e credices populares. Entre as ações conservativas discutidas no presente trabalho está a implantação de medidas de monitoramento da carga parasitária na espécie, a promoção de atitudes mais criteriosas em relação aos translocamentos, a sinalização das estradas e a implementação de programas de educação ambiental, envolvendo adultos e crianças residentes na região.

ABSTRACT

This study was accomplished in the northeastern area of the state of São Paulo, obtaining biological material of maned wolves for the epidemiology (parasitic diseases) and populacional genetic study. The occurrences of deaths were also verified and the relationships between the farmers and wolves were appraised. In the studies of parasitic diseases, infestations by ancilostomídeos, tricurídeos, estrongilídeos, ascarídeos, *Dypilidium sp.*, coccídeos, *Dioctophyme renale*, ticks and fleas were detected. The inedited parasitosis occurrences by *Hymenolepis sp* and *Prosthenorchis sp* were verified. in the parasitoses, it was possible to detect hematological alterations of animals infected by ancilostomídeos, *Hymenolepis sp.*, coccídeos and ticks. The populacional genetic studies were accomplished with proteic markers, to evaluate the heterozygosity and the existence of populacional structuring in the area. The polymorphysm degree (20%) verified in this study does not differ from the values that were verified by other authors in maned wolves and others wild canids populacional studies. F statistics indicated that there were not significant reduction of the heterozygosity in the sample. This test also indicated that there was not a populacional structuring in the area, indicating that the Moji Guaçu and Pardo rivers were not characterized as a gene flow block to the species. In this area, three translocations to the interior of the Ecological Station of Jataí

were verified. Also verified four death by road kill accident in the highways, one death by firegun and an occurrence of an sub-adult animal with strong dehydration and caquexis. The main problems associated with the conservation of the species, identified by the inhabitants relates of the area were the domestic avian predation, the access to the garbage and superstitions. The preservative actions discussed in the present work include the establishment of the parasitic monitoring program in wolves, promotion of critic attitudes in relation to the translocations, traffic signs in highways and implementation of environmental education programs involving adults and childrens resident in the area.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVO GERAL	9
2.1- Objetivos específicos	9
3- MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1- Área de estudo	11
3.2- Método de captura	12
3.3- Manejo dos animais	18
3.4- Análises laboratoriais	23
3.4.1- Diagnóstico de parasitoses	23
3.4.1.1- Exames coproparasitológicos	23
3.4.1.2- Sedimento Urinário	24
3.4.1.3- Pesquisa de hematozoários	24
3.4.1.4- Ectoparasitos	24
3.4.2- Hematimetria	25
3.4.3- Bioquímica sérica	26
3.4.4- Urinálises	27
3.4.5- Estudos de marcadores genéticos protéicos	27
3.5- Análise dos dados	30
3.5.1- Estudos do parasitismo na espécie	30
3.5.2- Análises de genética populacional	32
4- RESULTADOS	34
4.1- Esforço amostral e eficiência de captura	34
4.2- Ocorrência de parasitoses	39
4.3- Avaliação da resposta orgânica às parasitoses	43
4.4- Valores clínico patológicos comparativos	43
4.5- Translocamentos e outras ocorrências	48
4.6- Avaliação do papel dos rios Moji Guaçu e Pardo como barreiras ao fluxo gênico para a espécie	51
5- DISCUSSÃO	58
5.1- Ocorrência de parasitismo e resposta orgânica da espécie	58
5.2- Estudos de genética populacional	65
5.3- Ocorrências e conservação na área de estudo	70
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 -INTRODUÇÃO

A família canidae pertence à ordem Carnivora e caracteriza-se pelo crânio com a região facial alongada, presença de canal alisfenóide, processo paroccipital longo, são digitígrados e apresentam os dentes carnassiais bem desenvolvidos. A família Canidae é genericamente dividida em um grupo com cromossomos autossomos metacêntricos (canídeos tipo raposa, com número diplóide de 36 a 72 cromossomos) e outro grupo com cromossomos autossomos acrocêntricos. Este segundo grupo é subdividido em animais que apresentam o número diplóide de 78 cromossomos (gênero *Canis*, lobos e cães domésticos) e em animais que apresentam um número diplóide de 74 a 76 cromossomos (canídeos sul-americanos, Wayne, 1991). Entre os canídeos sul-americanos, o gênero *Dusycion* é o mais numeroso em espécies (apresentando 8 espécies). Apesar da similiaridade genética ser alta (Wayne, 1991), a variação morfológica e comportamental dos canídeos sul americanos é bastante grande. Um exemplo disso está nas diferenças entre o lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), que apresenta longas pernas (figura 1) e um comportamento solitário, e o cachorro-do-mato-vinagre (*Speothos venaticus*), que apresenta pernas bem curtas e comportamento gregário.



Figura 1- Lobo guará ainda sob efeito de anestésico.

O lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*) apresenta um número diplóide de 76 cromossomos e é um canídeo característico do bioma do cerrado. A sua área de ocorrência compreende o Brasil Central, o Paraguai e pequenas áreas da Argentina, Bolívia e Peru (Dietz, 1984 – figura 2).



Figura 2 - Mapa da América do Sul indicando a área de ocorrência do lobo guará (Dietz, 1984)

Esta espécie apresenta funções ecológicas imprescindíveis para a estabilidade do ecossistema do cerrado, principalmente por ser topo de cadeia alimentar e pela sua função como dispersor de sementes (mamaliocoria), dada a característica onívora de sua dieta.

Entre os componentes animais da dieta do lobo guará, estudos realizados por Dietz (1984) em resíduos fecais, indicaram a presença de besouros (Scarabaeidae), grilos e gafanhotos (Acridoidea), esperanças (Tettigonoidea), aranhas (Araneae), peixes, cobras (Colubridae), lagartos (Scincidae), aves, ratos (Rodentia), preás (*Cavia sp.*), tapiti (*Sylvilagus brasiliensis*), marsupiais (Marsupialia), tatus (Dasypodidae), paca (*Agouti paca*), tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) e tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*). A ocorrência de estruturas corporais destes grupos de animais nas fezes do lobo guará não indica, especificamente, que todos estes animais foram predados, pois a espécie pode estar realizando também necrofagia por oportunismo.

Entre os componentes vegetais encontrados em resíduos fecais, a lobeira (*Solanum lycocarpum*, Solanaceae) é o componente que aparece em maior quantidade (Dietz, 1984; Motta Jr *et al.* 1996). Outros componentes vegetais encontrados podem estar sendo dispersados pelo lobo guará como casacos, goiabas e araçás (*Psidium* - Myrtaceae), gabiobas (*Campomanesia sp.* - Myrtaceae), pitanga (*Eugenia uniflora* - Myrtaceae), coquinhos (*Astrocaryum sp.* - Palmae), araticuns (*Annona sp.*

- Annonaceae.), muricis (*Byrsonima* sp - Malpighiaceae.), fruta-de-veado (*Pouteria ramiflora* - Sapotaceae) e gravatás (*Bromélia* sp - Bromeliaceae. - Dietz, 1984).

A caça associativa interespecífica, apesar de não ser comum no lobo guará (Dietz, 1984), foi observada em duas ocorrências de predação de veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) por Bestelmeyer e Westbrook (1998). Silveira et al. (1997) detectaram a caça associativa do lobo guará com o falcão-de-coleira (*Falco femoralis*). Nestas observações, os falcões de coleira se mantinham à espreita durante a atividade de caça do lobo, e quando o mesmo falhava no “bote” de aves do grupo dos tinamídeos como a perdiz (*Rhynchotus rufescens*) e a codorna (*Nothura maculosa*), o falcão capturava esta presa em seu vôo.

Porém, infelizmente, o Lobo guará é considerado como uma espécie ameaçada de extinção pela lista oficial do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (decreto nº 1210 de 12 de abril de 1939 e a Portaria nº 1511, de 22 de maio de 2003), e classificada como vulnerável pela Internacional Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN, 1994).

Diversos fatores contribuem para o fato da espécie se encontrar no status de ameaçada de extinção. Entre estes, a diminuição e fragmentação de seus habitats e a proximidade deste canídeo silvestre

com animais domésticos, com conseqüente aumento de contato e probabilidade de transmissão de doenças entre estes.

Na região nordeste do estado de São Paulo – Brasil, onde foi realizado este estudo, é intensa a prática de queima da cana-de-açúcar antes da colheita, causando a morte de muitos animais e provocando incêndios em áreas de vegetação nativa (Pires, 1995). Nesta área, foram detectadas ocorrências de mortes de lobos guarás por queimadas, atropelamentos e por armas de fogo. Moreira et al. (1998) consideraram que a influência deletéria do homem no habitat do lobo guará é mais intensa nos estados brasileiros do sudeste do que do centro-oeste do Brasil. Isto pode estar ocorrendo em razão do maior grau de fragmentação e diminuição de habitats resultante da intensa exploração agropecuária e urbanização da região sudeste. Desta forma, considerou-se pertinente direcionar um trabalho de característica interdisciplinar, nas áreas de epidemiologia e genética populacional, objetivando a obtenção de subsídios para a discussão de um manejo conservativo destes carnívoros, na região nordeste do estado de São Paulo. Estes estudos se mostram extremamente urgentes em animais vulneráveis ou em perigo de extinção, porém, pelo fato de serem raros e com baixa densidade populacional, faz com que exista uma grande dificuldade de obtenção de amostras destes animais para fins científicos. Por este motivo, existem poucos trabalhos que abordam metodologias de captura

e levantamentos com materiais biológicos coletados de carnívoros silvestres de vida livre.

Em estudos epidemiológicos da espécie, as doenças parasitárias são citadas na literatura como uma das principais causas de mortalidade de lobos guarás de cativeiro (Maia e Goveia, 2002; Dinis et al.,1999). A proximidade do lobo guará com animais domésticos pela expansão pecuária e urbanização pode estar levando a um aumento da incidência de doenças infecto-contagiosas e parasitárias levando a um declínio do contingente populacional da espécie. Os exames hematológicos, bioquímicos e urinálises podem indicar a capacidade adaptativa da espécie frente às alterações de suas áreas de vida pela atividade humana e a conseqüente diminuição da resistência às doenças. Na área de genética, estudos de genética de populações podem fornecer estimativas importantes para a conservação de carnívoros silvestres, como os valores de heterozigosidade, endogamia e estruturação populacional. As populações de animais ameaçados de extinção, que apresentam um tamanho reduzido, são mais sujeitas à deriva genética, que é a flutuação aleatória das frequências gênicas da população (Burns, 1983). Uma maior ocorrência de cruzamentos de animais aparentados pode ocorrer em populações com pequeno número de indivíduos e em áreas com barreiras ao fluxo gênico. Estes cruzamentos consangüíneos podem levar a um aumento da ocorrência de

características deletérias nas populações naturais (Woodroffe e Ginsberg, 1998). Em lobos cinzentos (*Canis Lupus*) em cativeiro, submetidos a acasalamentos consanguíneos, foram detectadas ocorrências de cegueira, redução de peso de animais jovens, diminuição da longevidade e da eficiência reprodutiva (Laikre e Ryman, 1991). Como medida de preservação da diversidade alélica em populações naturais, Stockwell et al. (1996) discutem a utilização de translocamentos de animais.

Os estudos genéticos de estruturação populacional podem contribuir para a avaliação dos impactos que as atividades humanas ou o isolamento devido a acidentes geográficos podem estar criando nos padrões de migração e reprodução da espécie. A análise eletroforética de marcadores protéicos tem se mostrado como uma ferramenta útil para o conhecimento da genética de populações de lobos guarás e outros canídeos silvestres (Ferrel et al, 1980; Kennedy et al., 1991, Moreira et al, 1998).

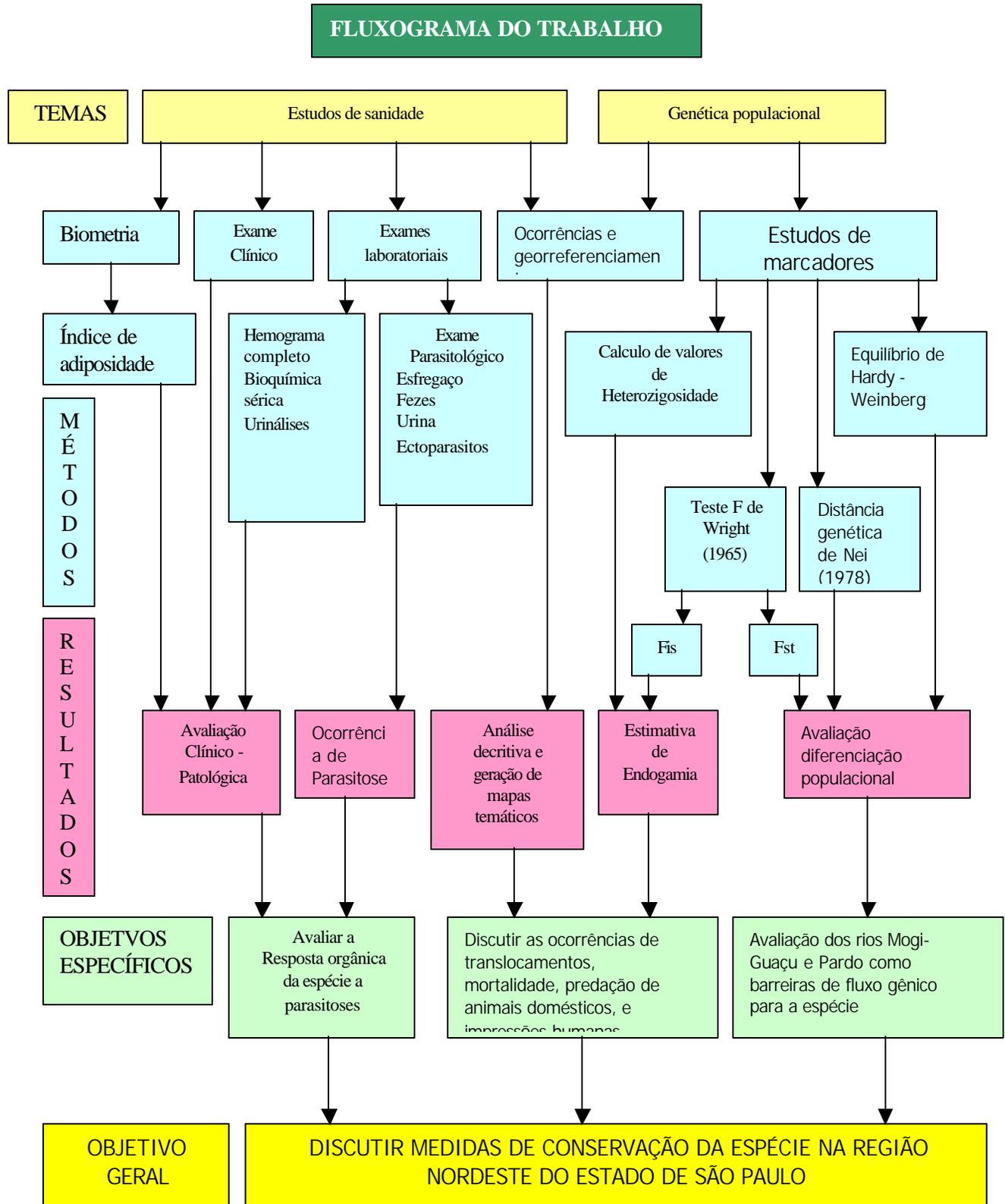
2 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo conhecer aspectos populacionais do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*) de vida livre relacionados à saúde e genética, visando obter fundamentação científica para discussão de estratégias de conservação da espécie.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar a resposta orgânica da espécie às parasitoses.
- 2) Analisar geneticamente animais capturados na área de estudo e avaliar se existem diferenças entre indivíduos encontrados entre os rios Moji-guaçu e Pardo em relação à sua condição genética.
- 3) Discutir a validade dos translocamentos como medida conservativa para a espécie.

Figura 3 - Fluxograma do trabalho



3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

Este estudo foi realizado na região nordeste do Estado de São Paulo - Brasil, em uma região retangular de 19.224 km². Esta região é uma das mais desenvolvidas do estado, possuindo um grande parque industrial, bem como um complexo agroindustrial com vastas áreas de plantios de cana-de-açúcar, reflorestamentos e citricultura. A vegetação natural primitiva da região era composta principalmente por cerrados e mata mesófila semidecídua, estando atualmente bastante reduzida e fragmentada, com apenas cerca de 7% do remanescente natural (Pires et al., 2000). O clima da região é classificado como AW, ou como do Brasil central, com verão chuvoso e inverno seco. A temperatura média é de 21,7°C, com máximas de 28,6 °C e mínimas de 16,4 °C. Predominam os ventos de S-SE-E, com 50% da freqüência anual, e ventos de NNO com 25% da freqüência anual e 14% de calmarias. A pluviosidade média anual é de 1.433 mm (Pires, 1995).

Na região central da área de estudo, está localizada a Estação Ecológica de Jataí (E.E.J.). Esta Estação Ecológica localiza-se no município de Luís Antônio, centro da área de estudo e apresenta atualmente uma área de 9010,7 ha. Esta unidade de conservação

apresenta uma grande diversidade de habitats, distribuídos desde os ambientes verdadeiramente aquáticos como rios, córregos e lagoas, passando por banhados e formações periodicamente alagáveis, até as florestas e morros permanentemente livres de inundações (Santos et al., 2000). Os ecossistemas terrestres são representados, principalmente, por fitofisionomias do Cerrado (Cerradão e Cerrado *Stricto Sensu*) além de trechos de Floresta Mesófila Semidecídua (Toledo Filho, 1984; Toppa et al. 2001).

3.2 Método de captura

Na região de estudo, foram realizadas conversas informais com o intuito de obter informações sobre a ocorrência do lobo guará e as relações com o homem no ambiente rural. Foram investigados os casos problemáticos e os que foram bem sucedidos em termos das relações da espécie com as atividades diárias das fazendas.

Para a localização de áreas com provável ocorrência de lobos guarás, foram obtidas informações com residentes de áreas rurais, sobre a ocorrência de avistamentos ou uivados. Nas localidades indicadas pelos moradores, foram confirmadas as trilhas de passagem da espécie através de pegadas (figura 4, A e B), fezes (figura 4, C) e pêlos (figura 4, D).

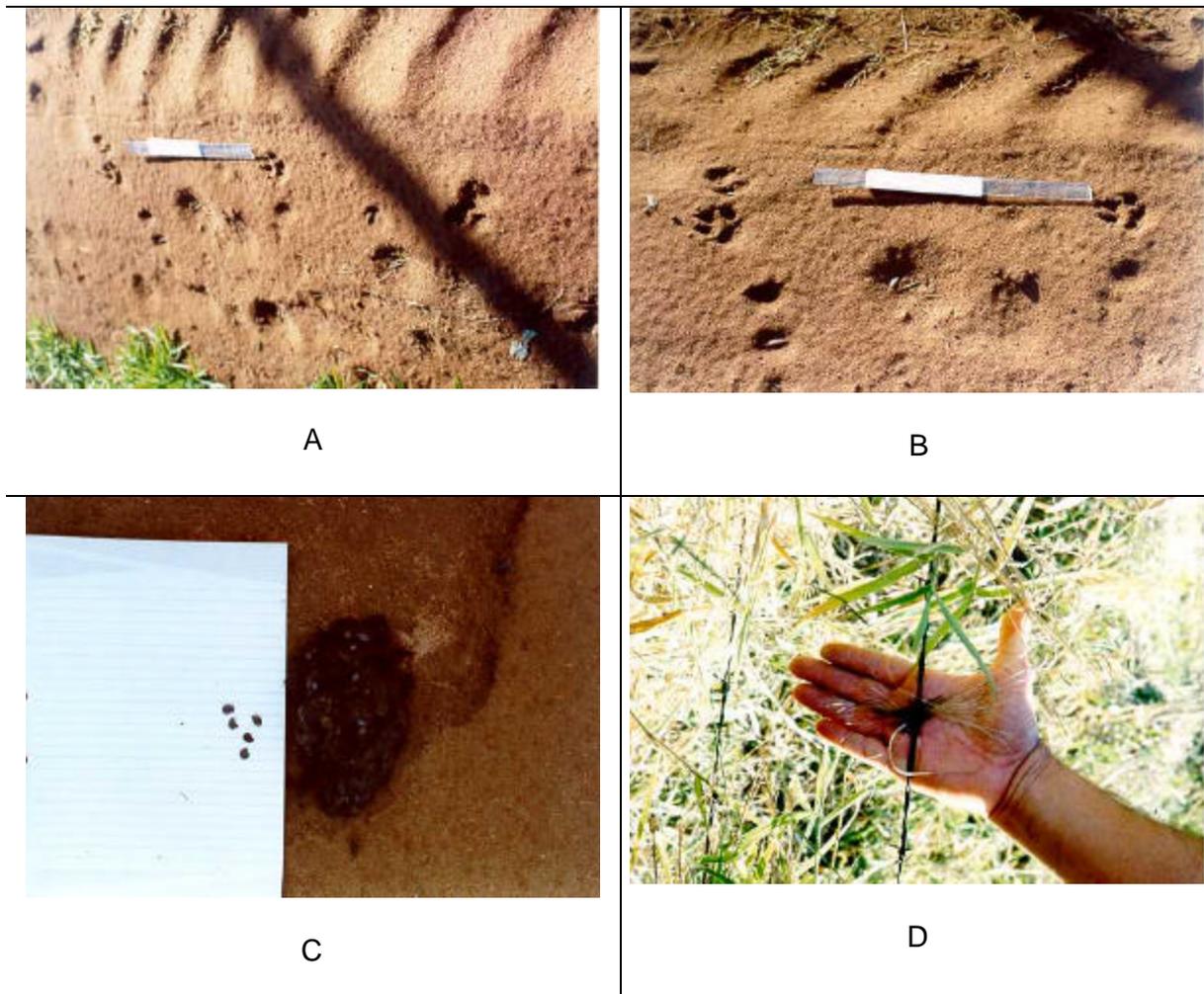


Figura 4- A - distância entre 3 pares de pegadas do lobo guará, B - distância entre 2 pares vista de cima (a régua da figura tem o comprimento de 50 cm), C- fezes de lobo guará com sementes de *Solanum lycocarpum*, D - Pelos de lobo guará na cerca de arame farpado

As confirmações de pegadas de lobo guará foram baseadas nas informações de Becker e Dalponte (1999), os quais relatam que as distâncias de 50 a 70 cm entre cada par de pegadas (posterior direita com a anterior esquerda e da anterior direita com a posterior esquerda). Este padrão não ocorre em outros canídeos silvestres brasileiros e são muito incomuns em cães domésticos. A indicação da ocorrência da espécie pelas fezes foi dada pelo seu odor característico (assim como em localidades em que o animal urinou) e pela presença de sementes de *Solanum lycocarpum*. Em poucos casos, foi confirmada a presença da espécie através da detecção de pêlos (longos com uma extremidade negra e outra castanha) nas cercas de arame farpado com altura acima de 80 cm (10 cm abaixo da altura média da cernelha).

Com a detecção das trilhas de passagem do lobo guará, foram colocadas armadilhas de captura modificadas das descritas por Dietz (1984) (figura 5, A e B).



Figura 5 - A- armadilha de madeira, B - armadilha de alambrado com lobo guará capturado

A principal modificação na armadilha foi para não permitir a predação da isca (galo vivo e carne salgada - figura 6), para evitar a possível ocorrência de falsa via (traqueal) na exposição anestésica.

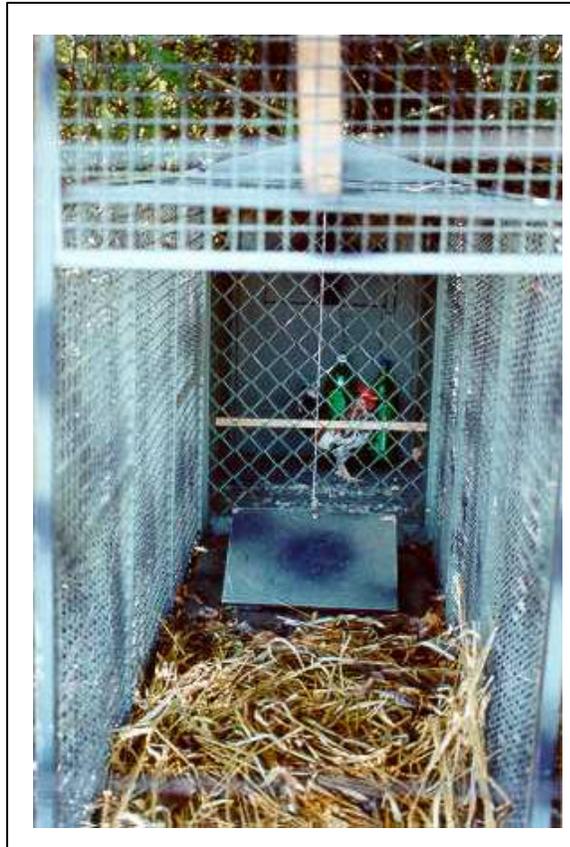


Figura 6 - Vista anterior da armadilha mostrando a divisão de alambrado deixando a isca inacessível ao lobo guará.

As localidades em que os animais foram capturados ou recapturados foram denominadas de "localidades com sucesso de captura", e onde as armadilhas não obtiveram sucesso, apesar da existência dos sinais indiretos, foram denominadas de "localidades sem sucesso de captura". O "Esforço de captura" envolve o número de dias em que as armadilhas ficaram armadas, independentemente se elas foram capazes (sucesso de captura) ou não (insucesso de captura) de capturar lobos guarás.

Além dos animais capturados pelas armadilhas, foram também amostrados animais capturados pela Polícia Ambiental e animais que se encontravam em cativeiro, mas que comprovadamente viviam livres dentro da área de estudo, em localidade conhecida. Todas as localidades citadas acima foram georreferenciadas e plotadas em cartas digitais através do programa MapInfo versão 4.1. Desta forma, para discutir a eficiência de obtenção de amostras, foram considerados 3 aspectos de interesse:

- 1) Eficiência do trabalho quanto à metodologia de captura de lobos guarás por armadilhas tipo gaiola (eficiência de captura). Esta eficiência é relativa apenas à metodologia com as armadilhas excluindo os animais obtidos pelas outras formas (pela Polícia Ambiental e de cativeiro).
- 2) Esforço para obtenção de amostras para estudos de genética de populações de lobos guarás. Esta eficiência considerou todas as amostras obtidas sem repetição, portanto sem as recapturas.

- 3) Esforço para obtenção de amostras para estudos de sanidade de lobos guarás de vida livre, portanto foram excluídos os animais de cativeiro.

3.3 Manejo dos animais

O manejo dos animais capturados foi realizado através da contenção anestésica, exame clínico, biometria, coleta de sangue, urina e fezes e, marcação por tatuagem e com coleiras comuns de cães domésticos. O animal só foi liberado para retorno à natureza quando totalmente recuperado da exposição anestésica. A sedação foi realizada pela aplicação intramuscular de Tiletamina associada ao Zolazepam (Zoetil-laboratório Virbac), na dose de 7,0 mg/kg, através de um dardo medicamentoso projetado por zarabatana (figura 7), conforme prescrito por Novaes (1997).



Figura 7 - Projeção do dardo medicamentoso por zarabatana

Quando o animal encontrava-se em estado de narcose, que propiciava a manipulação em segurança, foi realizado um exame clínico através da mensuração seriada da frequência cardíaca e respiratória (com avaliação de estertores), da temperatura corporal, atividade reflexa (fotomotora e dolorosa interdigital), movimentos oculares e gerais (Booth, 1983). Na pele foi explorado o nível de elasticidade (avaliação de hidratação corporal), a existência de lesões, assim como no conduto auditivo (por meio de otoscópio), olhos e mucosas. Na palpação explorou-se a existência de fraturas e de massas abdominais e pélvicas.

Após a avaliação clínica foi realizada a biometria do animal, com a pesagem (figura 8, A) e quantificação métrica (figuras 8, B).

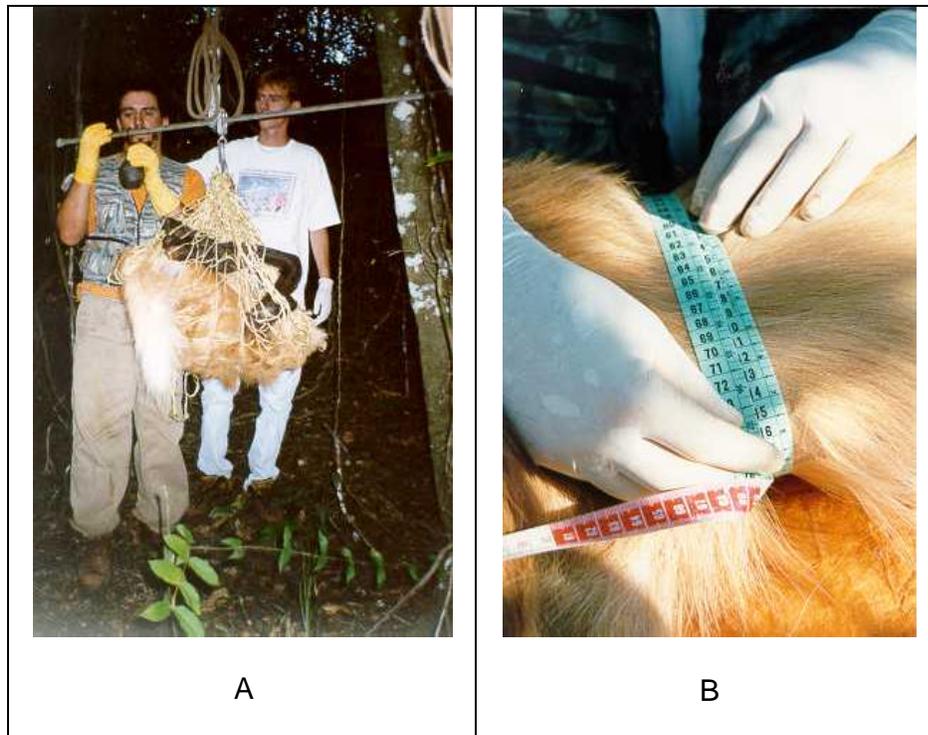


Figura 8 - A- pesagem com balança de vara, B- Medição corporal

Os parâmetros de medida do comprimento do ombro foram realizados da ponta da pata à parte mais alta da escápula, a do corpo foi da articulação atlanto occipital à 1ª vértebra coccigeana, a da cauda da 1ª vértebra coccigeana à última, a da cabeça da ponta do focinho ao axis. As medidas de circunferência do peito foram realizadas na parte medial do tórax e a da cabeça, anterior às orelhas (Hildebrand, 1952).

Após a biometria foi realizada então a coleta de sangue, urina, fezes e de ectoparasitos. A coleta de sangue foi realizada pelo puncionamento da veia braquial (figura 9, A), e o material armazenado em tubos heparinizados e em tubos livres de anticoagulante. A coleta de urina foi realizada por sonda uretral (figura 9, B) e as fezes coletadas diretamente da ampola retal (figura 9, C). Todo material coletado foi armazenado em isopor com gelo durante o transporte até o laboratório.

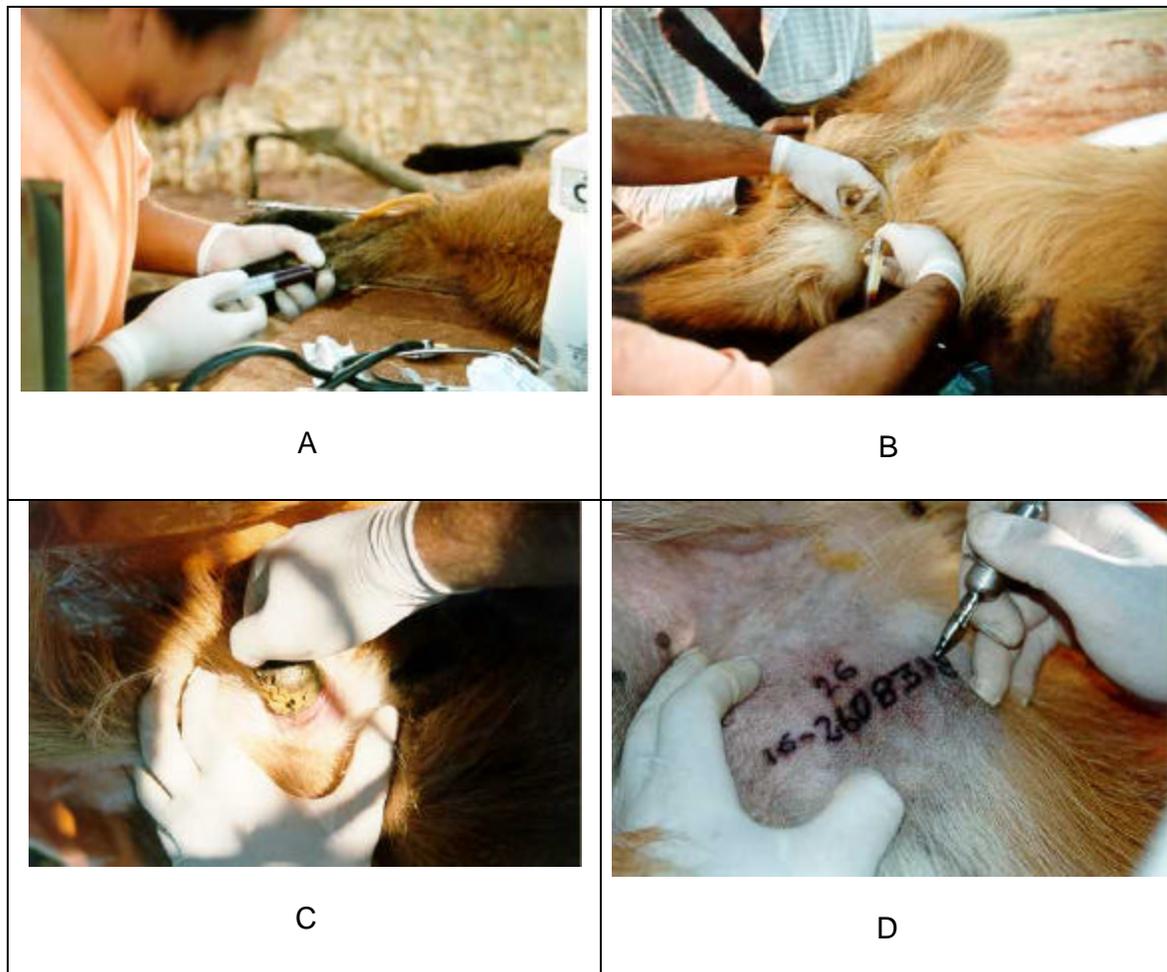


Figura 9 - A- Coleta de sangue, B- coleta de urina, C - coleta de fezes, D - tatuagem na parte interna da coxa direita

Os animais foram então marcados por tatuagem na parte interna da coxa direita (figura 9, D) e coleiras comuns usadas em cães foram colocadas (figura 10), com a identificação do animal e o número do telefone para

contato em caso de morte ou recaptura. A recuperação anestésica foi realizada na própria armadilha com o cuidado de proteger a cabeça do animal (figura 10), pois no retorno anestésico ele tenta levantar a cabeça, mas costuma bater vigorosamente contra o chão, pois o seu controle neuro-motor ainda está precário.



Figura 10 - Lobo guará com coleira e sob recuperação anestésica

3.4 Análises laboratoriais

No laboratório, foram realizados exames de patologia clínica e estudos de marcadores genéticos protéicos. Os exames patológicos-clínicos compreenderam um levantamento parasitológico com pesquisa de hematozoários, exames coproparasitológicos e de sedimento urinário (pesquisa da ocorrência de ovos de *Dioctophyme renale*). Foram realizados também hemogramas completos, bioquímica sérica de transaminases, uréia e creatinina, e urinálises. Os estudos de marcadores genéticos protéicos foram realizados pela técnica de eletroforese e coloração específica.

3.4.1 Diagnóstico de parasitoses

3.4.1.1 Exames coproparasitológicos

Foram utilizadas as metodologias de flutuação Willis e de sedimentação espontânea Lutz ou de Hoffmann, Pons e Janer em fezes e, sedimentação da urina (Fortes, 1987; Georgi, 1988; Neves et al., 1995), e a identificação de ovos e larvas foram realizadas através de microscopia óptica. Foi considerada a classificação de Ancilostomídeos para os ovos de *Ancylostoma sp* e de *Uncinária sp*, assim como tricurídeos para ovos de

Trichuris sp e de *Capillaria sp* pois não foi realizada a diferenciação de tamanho dos ovos (segundo Georgi, 1988).

3.4.1.2 Sedimento urinário

Os ovos de *Dioctophyme renale* foram detectados em sedimentação da urina por centrifugação e identificação dos ovos por microscopia óptica.

3.4.1.3 Pesquisa de hematozoários

A pesquisa de hematozoários foi realizada em esfregaço sanguíneo das amostras (Silveira, 1988; Swango et al, 1992; Hoskins, 1993;), corado através da imersão do esfregaço em uma solução metílica de triarilmetano a 0,1%, seguido da imersão em uma solução de xantenos 0,1% e outra em tiazinas a 0,1% (panótico rápido).

3.4.1.4 Ectoparasitos

Os ectoparasitos foram acondicionados em álcool a 70% e classificados morfologicamente por meio de lupa óptica.

3.4.2 Hematimetria

Os estudos da série vermelha foram realizados através da mensuração quantitativa da hemoglobina, pelo método da cianometahemoglobina descrito por Boroviczeny (1964), contagem eritrocitária em câmara de Neubauer com microscópio óptico, além do microhematócrito e determinação dos valores absolutos da hemoglobina globular média (calculados pelos parâmetros de Brown, 1976). Nos estudos da série branca, foi realizada a contagem em câmara de Neubauer e a tipificação leucocitária com a mesma lâmina de esfregaço da pesquisa de hematozoários. Com estes resultados, foram calculadas as distribuições das classes leucocitárias percentuais e totais (Garcia-Navarro e Pachaly, 1994). A contagem trombocitária também foi realizada em câmara de Neubauer de acordo com o método descrito em Ferreira Neto et al. (1981).

3.4.3 Bioquímica sérica

Nos exames de bioquímica sérica, foram quantificadas as proteínas totais, as enzimas transaminase glutâmica-pirúvica (GTP/ALT) e transaminase glutâmica-oxalacética (TGO/AST), e os produtos de metabolismo creatinina e uréia.

As proteínas totais foram quantificadas através da difração óptica do soro lida por um refratômetro. As transaminases foram quantificadas segundo a metodologia de Frankel et al. (1970), em que as reações enzimáticas levam à produção de piruvato, que é quantificado por espectrofotometria (em 505 nm), como um cromógeno formado com a reação com 2,4 - DNFH (2,4-dinitrofenilhidrazina). A transaminase glutâmica-pirúvica (GTP/ALT) cataliza a reação da alanina com o alfa-cetoglutarato, formando o piruvato e o glutamato e, a transaminase glutâmica-oxalacética (TGO/AST) cataliza a reação do aspartato com o alfa-cetoglutarato, formando o oxalacetato e o glutamato, este oxalacetato é instável transformando-se também em piruvato.

A determinação da creatinina foi realizada pelo método colorimétrico de Jaffé com a desproteinização do soro (Kaplan e Pesce, 1989). Esta metodologia fundamenta-se na reação da creatinina com o picrato em meio alcalino, com prévia desproteinização com o ácido pícrico, obtendo-se um cromógeno que é medido no espectrofotômetro a 510 nm.

A determinação da uréia foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico de Berthelot (Henry, 1968), no qual a uréia é catalizada pela Urease formando $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. O NH_4 formado, junto com o salicilato, hipoclorito e nitroprussiato, vai formar o azul de indofenol, que é lido no espectrofotômetro em 600 nm.

3.4.4 Urinálises

As urinálises foram realizadas quantitativamente através da determinação de pH e da densidade urinária. O exame qualitativo compreendeu a avaliação do sedimento urinário (na mesma lâmina da pesquisa de ovos de *D. renale*), com o enfoque no diagnóstico de cristalúrias.

3.4.5 Estudos de marcadores genéticos protéicos

As amostras de sangue heparinizado foram centrifugadas para a obtenção do plasma e o precipitado (papa de hemácias), foi lavado três vezes em solução de cloreto de sódio a 0,9% antes do congelamento (a -20°C).

Após o descongelamento, as amostras foram misturadas em uma solução de mercaptoetanol 0,2% e centrifugadas. Papéis Whatman número 3 foram completamente embebidos com a solução, e após este

procedimento, as amostras foram aplicadas nos géis, em cortes transversais, feitos previamente a uma distância de 5 cm da extremidade catódica. Estas amostras foram então submetidas à corrida eletroforética sendo que a voltagem, tempo de corrida, tipos de géis e tampões utilizados estão indicados na tabela 1. Após a corrida, os géis foram submetidos à coloração específica, sendo que as proteínas com atividade peroxidásica (Hb e Hp) foram coradas com benzidina ou orto-dianisidina (Schwantes e Tondo, 1969; Schwantes, 1976), a albumina e as proteínas inespecíficas com o corante Coomassie blue e as enzimas segundo metodologias descritas em Harris & Hopkinson (1978). Assim foi realizado o estudo dos padrões de migração de cada sistema para as amostras obtidas. Com esta metodologia, foram estudados os seguintes sistemas protéicos: hemoglobina (Hb), haptoglobina (Hp), albumina, proteínas séricas inespecíficas (Ptn-x), fosfoglicose isomerase (Pgi), lactato desidrogenase (Ldh), superóxido dismutase (Sod), malato desidrogenase (Mdh), peptidase B (Pep-B), 6-fosfogluconato desidrogenase (Pgd), fosfatase ácida (PAc), anidrase carbônica II (AC II) e glioxalase (Glo).

Tabela 1 – Condições eletroforéticas em que foram genotipados os sistemas protéicos de lobos guarás. As siglas TC, TB, EBT e TEMM significam tris-citrato, tris-borato, tris-borato-EDTA e tris-EDTA anidrido maleico $MgCl_2$ respectivamente. Os géis do tipo “A” são constituídos por amido hidrolisado de milho a 14%, do tipo “B” amido hidrolisado de milho a 2% e agarose a 0,8% e do tipo “C” de poliacrilamida a 10%.

Sistemas	Condições			Ponte	Gel	
	Volts	amperes	Tempo	Tampão	Tampão	Tipo
AcP e Mdh	220	50	5 horas	TC pH 8,0	TC PH 8,0	A
Pep-B, ACII e Hp	160	30	5 horas	Borato pH 8,3	TC pH 8,0	
Pgi, Sod, Est-D, Pgd e Ldh	150	50	5 horas	TC PH 6,6	Histidina pH 6,0	
Hb	400	variável	45 minutos	EBT pH 8,9	EBT pH 8,9	
Glo	80	40	4 horas	TEMM pH 7,4	TEMM pH 7,4	B
Alb, Ptn 1-4	2500	70	2 horas	TB pH 8,0	TC pH 8,7	C

3.5 Análise dos dados

3.5.1 Estudos de parasitismo na espécie

Estes estudos visaram detectar a ocorrência de parasitismo na espécie na região nordeste do estado de São Paulo e avaliar a resposta orgânica do lobo guará a estes parasitas. No delineamento experimental, foram excluídos os animais que apresentaram alterações no exame clínico a campo, positivados para pesquisa dos anticorpos específicos da cinomose, parvovirose, leptospirose e brucelose. Buscou-se com estas exclusões, aumentar a confiabilidade do estudo, dos parâmetros orgânicos analisados, de forma que, suas alterações possam ser relacionadas às diferentes parasitoses que ocorrem na espécie, sem interferência de reações ligadas às doenças acima especificadas.

A avaliação hematimétrica foi realizada por hemogramas completos. A avaliação nutricional foi realizada pelos valores de proteínas plasmáticas e dos Índices de Adiposidade (IA). Este índice é calculado pela razão entre o peso do animal e a soma de suas dimensões esqueléticas. Estas dimensões esqueléticas foram medidas durante o manejo de campo e compreenderam a mensuração do comprimento do ombro, corpo e cabeça e as circunferências do peito e da cabeça.

A avaliação hepática e cardíaca foi realizada pela determinação das enzimas Transaminase glutâmica-purúvica (ALT/GTP) e Transaminase

glutâmica-oxalacética (AST/TGO). Segundo Ferreira Neto (1981) e Rogers (1985) níveis séricos elevados da ALT indicam a existência de necrose ou aumento da permeabilidade dos hepatócitos, assim como níveis séricos elevados da transaminase glutâmica-oxalacética (AST) ocorrem no caso de necrose do músculo cardíaco e esquelético e em necroses hepáticas. A quantificação das duas enzimas torna-se especialmente interessante quando analisadas juntas para o diagnóstico diferencial entre alterações cardíacas e hepáticas. Em avaliações parasitárias, as alterações destas enzimas podem indicar lesões provenientes de ciclos erráticos de *Loss* (principalmente hepáticas - Georgi, 1988).

A avaliação renal foi realizada pelas concentrações séricas dos produtos de metabolismo creatinina e uréia e pela mensuração do pH, densidade e sedimento urinário. Esta avaliação é especialmente importante para avaliar o impacto do parasitismo por *Diotophyme renale* no organismo, dado que este verme destrói totalmente o parênquima renal. A creatinina é um produto de degradação da creatina e sua eliminação é feita exclusivamente através da filtração renal. Portanto, as alterações dos seus níveis séricos indicam alterações renais como nefropatias e obstruções urinárias (Chew e DiBartola, 1985; Ross, 1988). A uréia constitui a fração de nitrogênio não protéico mais importante na maioria dos líquidos corporais. Os níveis séricos podem indicar alterações do metabolismo protéico e/ou disfunções renais (Chew e DiBartola, 1985; Ross, 1988).

A mensuração do pH, densidade e sedimento urinário pode indicar a condição de alcalose ou acidose metabólica ou respiratória, balanço protéico na dieta, caquexia e alterações do trato urinário (Ferreira Neto, 1981).

Foram realizadas análises de variância seguida do teste T Student, com a correção de Welch ou não, dependendo da homocedasticidade, para comparar as diferenças dos valores dos animais positivos para verminoses com os negativos.

3.5.2 Análises de genética populacional

Para os estudos de genética de populações, foram considerados como possíveis barreiras limitantes ao fluxo gênico, os rios Mogi-guaçu e Pardo. Assim foram propostas 3 sub-áreas de estudo: a sub-área 1 - entre os rios Mogi-guaçu e o rio Pardo; a sub-área 2 - ao sul do rio Mogi-guaçu; e a sub-área 3 - ao norte do rio Pardo. Desta forma, foram realizadas campanhas de captura para obtenção de amostras nestas três áreas.

O cálculo das frequências gênicas foi efetuado com base na análise dos padrões eletroforéticos obtidos, admitindo-se herança mendeliana simples, do tipo codominante.

Foram realizados testes para verificação de equilíbrio de Hardy-Weinberg tanto para as amostras das três áreas como para a amostra total. A análise de Wright (1965), de variância padronizada das frequências alélicas, foi realizada para o estudo da sub-estruturação populacional e endogamia. O

calculo de distância genética foi realizado através do método de Nei (1978) corrigido para amostras pequenas. Estes dois testes foram realizados através do programa Biosys-1 (Swofford e Selander, 1981).

4 RESULTADOS

4.1 Esforço amostral e eficiência de captura

A figura 11 indica as localidades em que tivemos sucesso de captura, a numeração junto ao ponto indica o tempo em dias em que as armadilhas ficaram armadas. Nesta figura, estão indicadas também as localidades em que a Polícia Ambiental encontrou os animais (PA) e os locais onde eram encontrados em vida livre, dois dos animais que atualmente estão em cativeiro e foram utilizados na presente pesquisa (Ca). Na figura 12, estão representadas as localidades onde não foi obtido sucesso de captura, a numeração indica os dias em que as armadilhas ficaram armadas. Em síntese, foram verificadas 26 localidades com sucesso de captura (43,3% dos casos) e 34 sem sucesso (56,7% dos casos). A tabela 2 mostra o número de animais amostrados de acordo com os interesses específicos do trabalho, assim como o esforço e eficiência amostral, divididos em 3 sub-áreas para os estudos de estruturação populacional: a sub-área 1 - entre os rios Mogi-guaçu e o rio Pardo; a sub-área 2 - ao sul do rio Mogi-guaçu; e a sub-área 3 - ao norte do rio Pardo (figura 13).

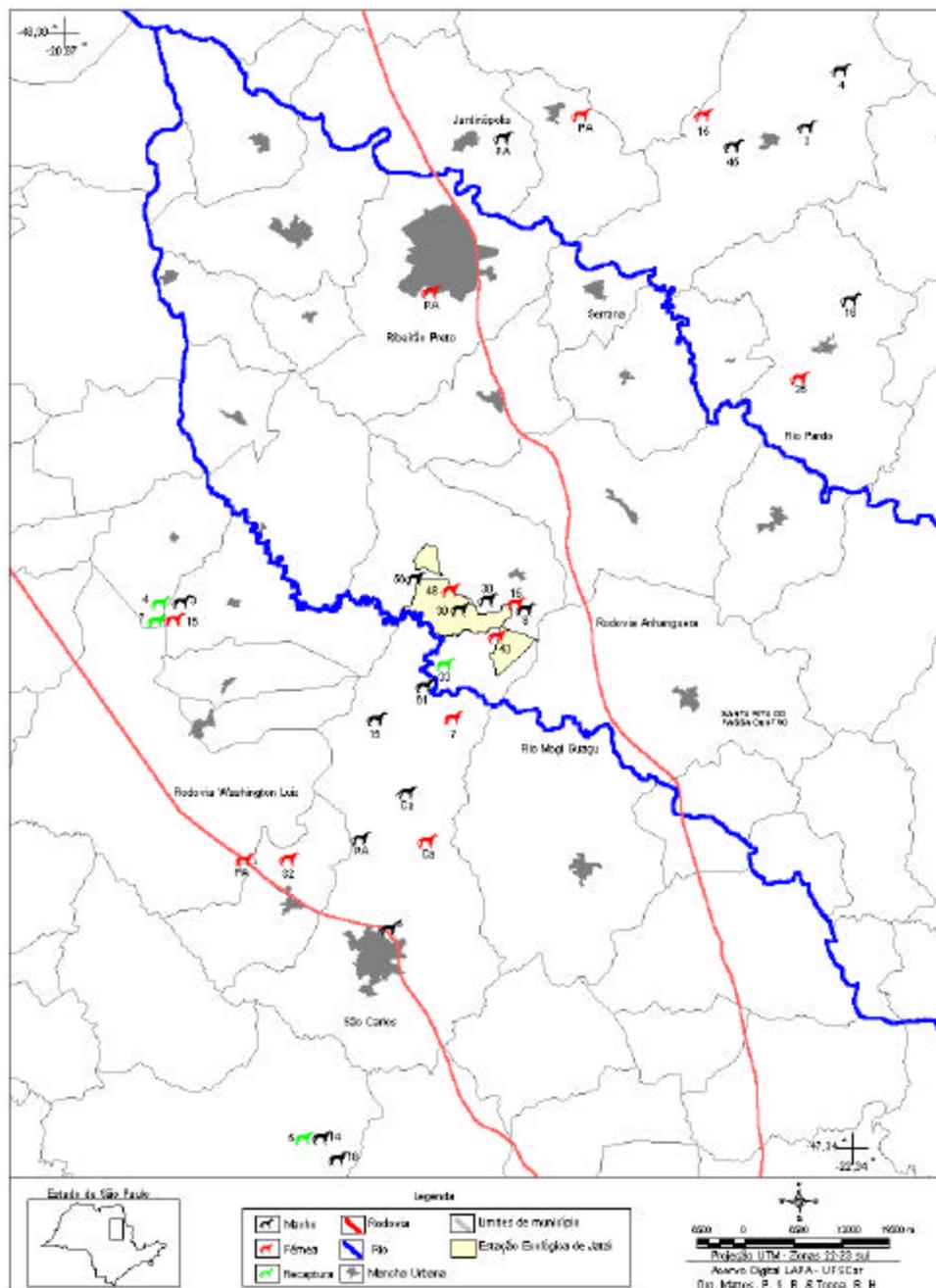


Figura 11- Localidades onde foi obtido sucesso na captura de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*); os números indicam o tempo em dias em que as armadilhas ficaram armadas.

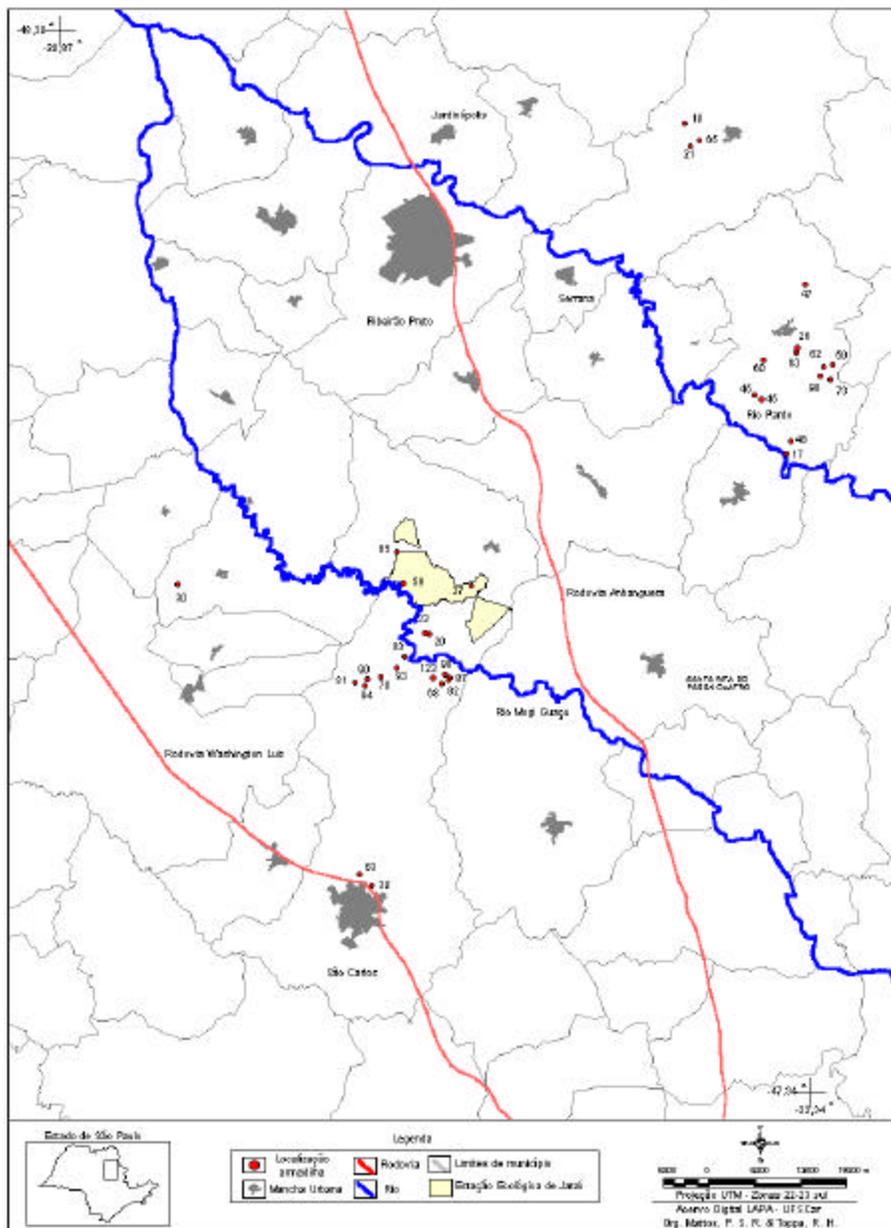


Figura 12- Localidades onde não foi obtido sucesso na captura de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*); os números indicam o tempo em dias em que as armadilhas ficaram armadas.

Tabela 2 - Número de Lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) utilizados para estudos específicos, esforço amostral e eficiência de captura.

Animais para estudos específicos	Área 1	Área 2	Área 3	Área total
Capturados (capturas + recapturas)	8	12	6	26
Para estudos de genética (capturas + Polícia Florestal + cativo)	7	13	8	28
Para estudos de sanidade de animais de vida livre (capturas + Polícia Florestal + recapturas)	9	14	8	30
Esforço amostral (tempo que as armadilhas ficaram armadas em dias)	467	1195	847	2509
Eficiência de captura (número de dias necessários para capturar um lobo guará).	58,4	99,6	141,2	96,0

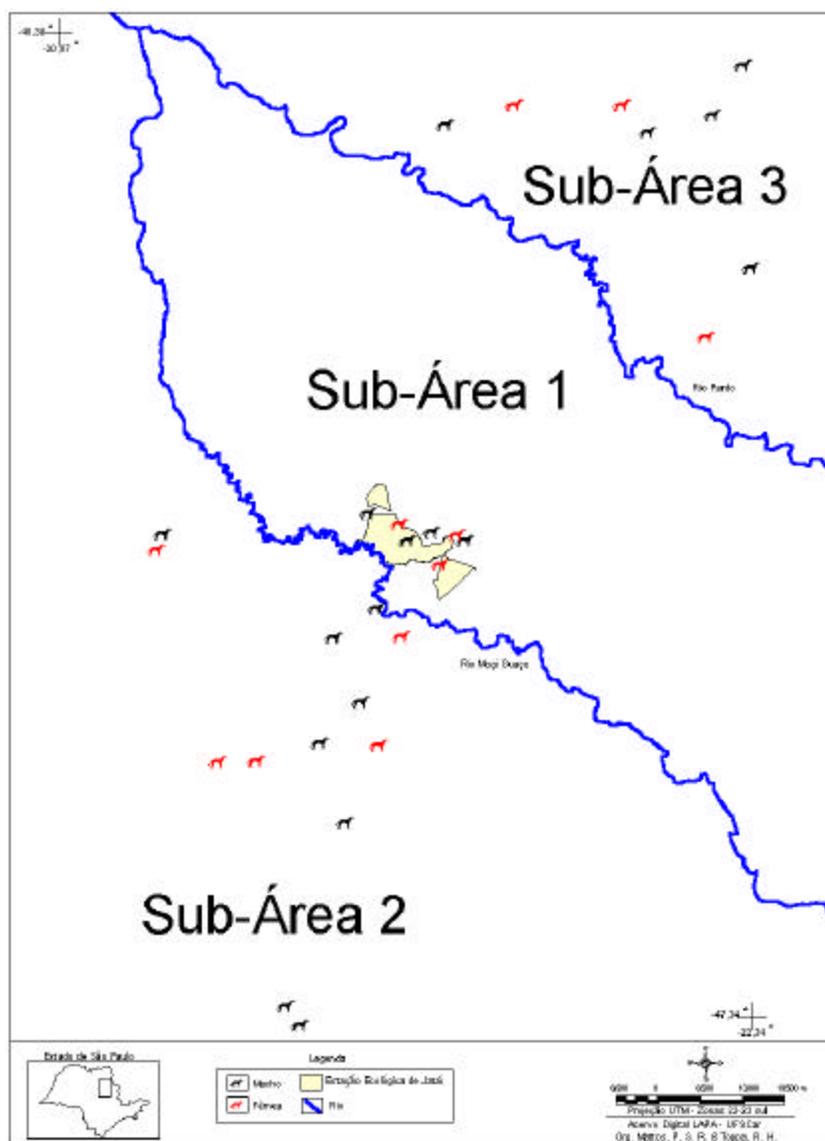


Figura 13- Mapa indicando as localidades onde foram obtidas amostras de sangue de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) para estudos genéticos, na região nordeste do estado de São Paulo.

4.2 Ocorrência de parasitoses

Os exames coproparasitológicos detectaram a ocorrência de ovos de ancilostomídeos, tricurídeos, ascarídeos, cápsula ovígera de *Dipylidium sp* e oocistos de coccídeos. Foi constatado, neste trabalho, a ocorrência inédita de *Hymenolepis sp* e *Prosthenorchis sp* (Figura 14). No exame de sedimento urinário foi detectada a presença de ovos de *Dioctophyme renale*. Como ectoparasitas, foram detectadas ocorrências de carrapatos e pulgas. Os percentuais de ocorrência geral e específica, tanto dos endo como dos ectoparasitas, estão indicados de forma comparativa na tabela 3. O número e o percentual de ocorrências de parasitismos por carrapatos estão indicados de forma específica na tabela 4. A pesquisa de hematozoários em esfregaços sanguíneos se mostrou negativa para todas as amostras.

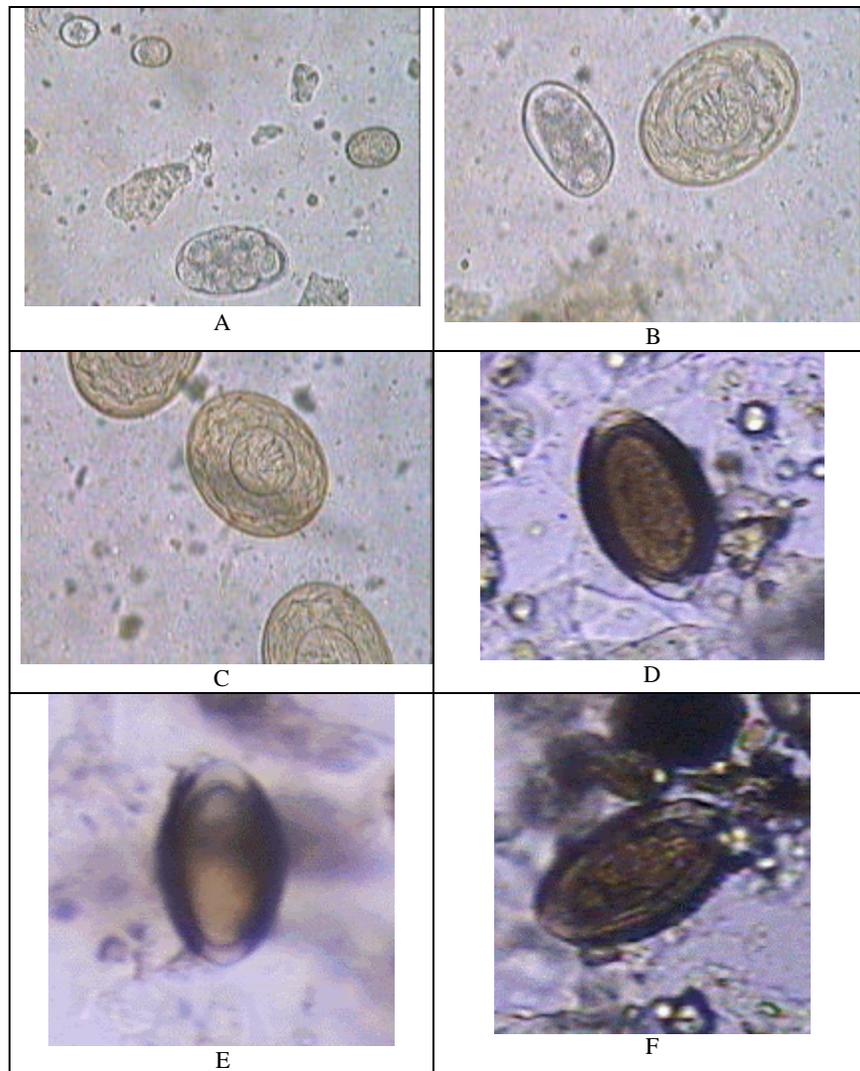


Figura 14 - A - Ovo de ancylostomídeo e oocistos, B- ovo de ancylostomídeo e de *Hymenolepis* sp, C - ovos de *Hymenolepis* sp, D-E-F, ovos de *Prosthenorchis* sp.

Tabela 3 – Análise comparativa de percentuais de ocorrência de ovos de endoparasitos e ectoparasitos em lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) de vida livre e de cativeiro.

Origem dos animais	Animais de vida livre		Animais de cativeiro	
	Este trabalho N= 17	Dietz (1984) N=9	Dinis et al.,(1999) N=97	Gilioli e Silva, 2000 N=31
Vermes intestinais	79,2%	Sem dados	Sem dados	Sem dados
Ancilostomídeos	60 %	78% <i>Ancylostoma</i>	38% <i>Ancylostoma</i>	3,2% <i>Urcinaria</i> 45,1% <i>Ancylostoma</i>
Tricurídeos	28 %	100% <i>Trichuris</i>	11,3% <i>Trichuris</i>	3,2% <i>Capilaria</i>
Estrongilídeos	12 %	Sem dados	3,8 %	29 %
Ascarídeos	8%	56 %	3,8 %	Sem dados
<i>Dipylidium sp</i>	4 %	11 %	Sem dados	Sem dados
<i>Hymenolepis sp</i>	20 %	Sem dados	Sem dados	Sem dados
<i>Prosthenorchis</i>	4%	Sem dados	Sem dados	Sem dados
Coccídeos	28%	11 %	2,5%	Várias subdivisões
Verme renal - <i>D. renale</i>	42%	Sem dados	7,6 %	Sem dados
Pulgas	4%	Sem dados	2,5%	Sem dados
Carrapatos	48 %	Sem dados	Sem dados	Sem dados

Tabela 4 - Número e percentual de ocorrências de parasitismo por carrapato em lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) no nordeste do estado de São Paulo.

Parâmetros		Classes	Número de animais	Percentual
Ocorrências		Isentos de carrapatos	14	51,9
		Parasitados	13	48,1
Classificação	Gênero	Não identificado	2	15,4
		<i>Amblyoma</i>	11	84,6
	Espécie	Não identificados (sp)	6	54,5
		<i>A. cajenense</i>	1	9,1
		<i>A. ovale</i>	1	9,1
		<i>A. aureolatum</i>	1	9,1
		<i>A. tigrinum</i>	2	18,2

4.3 Avaliação da resposta orgânica às parasitoses

A tabela 5 indica os testes nos quais os valores apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), nos valores que não apresentaram diferenças e os que não puderam ser realizados. Os valores orgânicos que apresentaram diferenças significativas, estão com as médias e os desvios padrões indicados na tabela 6.

4.4 Valores clínico-patológicos comparativos

As médias e os desvios padrões da amostragem total estão indicadas de forma comparativa com outros autores nas tabelas 7 para os valores hematimétricos e na tabela 8 para os valores de bioquímica sérica.

Tabela .5- Resultados do teste T da comparação de parâmetros clínico-patológicos de animais positivos e negativos para parasitoses específicas. A letra "A" indica os testes que não puderam ser realizados, "B" os que apresentaram diferenças significativas e "C" os que não apresentaram diferenças. As classificações de parasitos de 1 a 10 são de ancilostomídeos, tricurídeos, estrombilídeos, *Dyppilidum sp*, *Hymenolepis sp*, *Prosthenorchis sp*, *Toxocara sp*, carrapatos, *Dioctophyme renale* e coccídeos respectivamente.

	1 ANC	2 TRI	3 STR	4 DIP	5 HYM	6 PRO	7 TOX	8 CARA	9 DIO	10 COC
Glóbulos vermelhos	B	C	A	A	C	A	A	C	C	B
Hematócrito	B	C	A	A	C	A	A	C	C	C
Hemoglobina	B	C	A	A	C	A	A	C	C	B
V.G.M.	B	C	A	A	B	A	A	B	C	B
HGM	B	C	A	A	B	A	A	C	C	C
C.H.G.M.	B	C	A	A	C	A	A	C	C	B
Plaquetas	C	C	A	A	C	A	A	C	C	B
Glóbulos brancos	C	C	C	A	C	A	A	C	C	B
Segmentados	C	C	C	A	C	A	A	B	C	B
Mielócitos metamielócitos	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Bastonetes	C	C	C	A	C	A	A	C	C	C
Eosinófilos	B	C	C	A	C	A	A	C	C	C
Basófilos	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Linfócitos	C	C	C	A	C	A	A	C	C	C
Monócitos	C	C	C	A	C	A	A	C	C	C
Índice de adiposidade	C	C	C	A	C	A	A	C	C	C
Albumina	A	C	A	A	C	A	A	C	C	A
AST	C	C	A	A	C	A	A	C	C	C
ALT	C	C	A	A	C	A	A	C	C	C
Uréia	C	C	A	A	C	A	A	C	C	C
Creatinina	C	C	A	A	C	A	A	C	C	C
pH urinário	C	C	A	A	C	A	A	C	C	C
Densidade Urinária	B	C	A	A	C	A	A	C	C	C

Tabela 6 - Valores que apresentaram diferenças significativas entre os parâmetros de animais positivos e negativos para parasitismo

Patógeno	Ancilostomídeos		Hymenolepis		Carrapatos		Coccídeos	
	diagnóstico negativo	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo
parâmetros	média ±DP	média ±DP	média ±DP	média ±DP	média ±DP	média ±DP	média ±DP	média ±DP
Glóbulos vermelhos	8.546 ±0,1	5.428 ±1,5	NS	NS	NS	NS	6.803 ±1,9	4.696 ±0,7
hematócrito	42.8 ±0,8	38.384 ±4,1	NS	NS	NS	NS	NS	NS
hemoglobina	14.26 ±0,2	10.339 ±2,2	NS	NS	NS	NS	12.0114 ±2,7	9.576 ±0,7
V.G.M.	50.084 ±0,3	74.529 ±19,3	63.118 ±16,7	90.838 ±20,1	62.323 ±16,3	73.153 ±22,3	61.030 ±15,9	85.179 ±19,4
HGM	16.687 ±0,1	19.589 ±3,9	17.889 ±2,8	23.820 ±3,4	NS	NS	NS	NS
C.H.G.M.	33.319 ±0,2	26.773 ±4,6	NS	NS	NS	NS	30.0763 ±4,8	24.729 ±2,5
plaquetas	NS	NS	NS	NS	NS	NS	371.6 ±295,0	1063.5 ±26,2
Glóbulos brancos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	13363.3 ±6282,5	9650 ±1045,2
segmentados	NS	NS	NS	NS	11124.4 ±5812,2	8149.89 ±4605,0	10668.6 ±5977,7	7137.6 ±1029,7
eosinófilos	0.000 ±78,7	129.133 ±138,6	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Densidade Urinária	1022.333 ±15,3	1054.00 ±9,3	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS-não.significante

Tabela 7- Valores hematológicos comparativos (média \pm desvio padrão) em lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*).

Parâmetros Hematológicos	Este trabalho	Dietz (1984)	Barbiers e Bush (1995)	Wallack e Boever (1983)
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu$)	6,4 \pm 1,9	6,2 \pm 1,0	5,4 \pm 1,0	3 - 5
Hematócrito (%)	39,5 \pm 3,9	38,1 \pm 4,1	43,1 \pm 6,9	-
Hemoglobina(g/dl)	11,6 \pm 2,5	12,2 \pm 1,7	14,6 \pm 2,6	11,5
VGM(μm^3)	65,9 \pm 19,1	-	80,2 \pm 5,9	-
HGM($\mu\mu\text{g}$)	18,7 \pm 3,5	-	-	-
CHGM (%)	29,2 \pm 4,7	-	-	-
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	12,8 \pm 5,4	14,2 \pm 1,83	11,2 \pm 4,6	10 - 14
Segmentados (%)	76,5 \pm 7,0	68,1 \pm 9,93	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	10,0 \pm 5,1	-	12,2 \pm 14,8	-
Eosinófilos (%)	1,0 \pm 1,5	6,0 \pm 3,7	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,1 \pm 0,1	-	0,6 \pm 0,5	-
Basófilos (%)	0 \pm 0	0,2 \pm 0,6	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0 \pm 0	-	0,0 \pm 0,0	-
Linfócitos (%)	17,8 \pm 6,2	21,1 \pm 10,2	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	2,2 \pm 1,0	-	4,4 \pm 6,8	-
Monócitos (%)	4,5 \pm 1,8	1,8 \pm 1,1	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,5 \pm 0,2	-	0,3 \pm 0,3	-
Bastonetes (%)	0,1 \pm 0,2	3,0 \pm 1,8	-	-
Valor global ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0,4 \pm 1,9	-	1,7 \pm 4,9	-
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	474,8 \pm 353,1	-	-	-

Tabela 8- Valores sorológicos comparativos (média \pm desvio padrão) das enzimas alanina aminotransferase (ALT- antiga TGP) e aspartato aminotransferase (AST- antiga TGO), os produtos de metabolismo uréia e creatinina e proteína sérica em lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*).

Parâmetros Bioquímicos	Neste trabalho	Dietz (1984)	Barbiers e Bush (1995)
ALT –(U/l)	20,7 \pm 9,1	51,0 \pm 4,2	42,0 \pm 24,0
AST – (U/l)	24,0 \pm 26,5	-	36,0 \pm 13,0
Uréia (mg/dl)	70,4 \pm 27,5	-	-
Creatinina (mg/dl)	1,6 \pm 0,4	-	-
Proteína sérica(g/dl)	7,4 \pm 1,0	7,7 \pm 1,0	6,4 \pm 0,7

4.5 Translocamentos e outras ocorrências

Foram mapeados três translocamentos realizados pela Polícia Ambiental da região de entorno para a Estação Ecológica do Jataí (Figura 15).

O primeiro animal (Padu) foi capturado no município de Jardinópolis, SP e translocado para o interior da unidade de conservação. Esta localidade dista aproximadamente 70 km da EEJ. O animal foi sedado e marcado com um radiocolar modelo ST-10. O exame clínico mostrou que o animal apresentava bom estado de saúde. Um dia após o translocamento o animal ainda foi localizado dentro da EEJ, e depois não foi mais detectado sinal de localização dentro da unidade de conservação (Mantovani, 2001). O animal foi encontrado morto em um talhão de cana queimada nove dias após sua última localização, no município de Serrana (Figura 13). Na necropsia, o animal estava em avançado estado de decomposição, mas foi possível detectar que os pêlos estavam queimados. O animal apresentava cortes realizados de forma circular no olho esquerdo, além de dois cortes no pavilhão auricular direito e três cortes profundos na região dos dentes incisivos superiores, com a amputação dos mesmos. Os dentes caninos inferiores estavam quebrados, embora estivessem íntegros na ocasião do exame clínico realizado no manejo. O segundo animal translocado

(Gadhyke) foi capturado no estacionamento de uma churrascaria, dentro do limite urbano da cidade de Ribeirão Preto, SP, e levado para a EEJ. Após o manejo e liberação o animal não foi mais encontrado. O terceiro animal translocado (Darcy) foi capturado na região urbana do município de Santa Rita do Passa Quatro e levado à EEJ. Este translocamento foi confirmado pela imprensa local (Jornal "O Jatahy", edição do dia 27 de agosto de 2000, página 8) que exibia fotos do lobo contido na armadilha.

Na região de entorno da EEJ foram detectados 4 atropelamentos da espécie em rodovias (Karen, Bidri, Araraquara e Ibaté); um outro (Figueira) foi provavelmente morto por arma de fogo e outro animal (Luiza) foi encontrado em más condições de saúde. Um dos animais mortos na rodovia foi capturado na EEJ (Bidri) e estava sendo monitorado por telemetria (Mantovani, 2001).

4.6 Avaliação do papel dos rios Moji-guaçu e Pardo como possíveis barreiras de fluxo gênico para a espécie

Os padrões eletroforéticos da Hb, Hp, Ptn 1-4, Pgi, Ldh e Sod, Mdh, Pep-B e Pgd estão representados nas figuras 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21 respectivamente. Como os padrões eletroforéticos de lobo guará não são conhecidos, utilizamos como controle, amostras com padrão de migração conhecida de outros mamíferos. A haptoglobina foi detectada como complexo hemoglobina de lobo guará com haptoglobina humana por apresentar uma dissociação com a banda de hemoglobina humana, com uma resolução melhor do que quando usamos a hemoglobina de lobo guará (figura 14). Destes 17 marcadores genéticos protéicos estudados (compreendendo 20 locos), apenas a fosfoglico-isomerase (Pgi), a peptidase B (Pep-B), a proteína inespecífica 4 (Ptn-4) e a glioxalase (Glo) apresentaram variação. As frequências alélicas de cada sub-região e da região total estão indicadas na tabela 10. O grau de polimorfismo em toda a área de estudo foi de 20% e o número de alelos por loco foi de 1,2. A heterozigosidade intraloco dos sistemas Pgi, Pep-B, Pt-4 e Glo foram de 0.25, 0.42, 0.21 e 0,25 respectivamente e a heterozigosidade média foi de 0.057. Os testes do equilíbrio de Hardy Weinberg, mostraram valores não significantes, indicando que a amostragem encontra-se em equilíbrio genético para estes locos (tabela 10). As análises da estatística-F de Wright (1965) mostraram

um coeficiente de diferenciação interpopulacional (F_{ST}) não significativa (tabela 11), o que indica a ausência de barreiras de fluxo gênico entre as amostragens das três áreas. Os valores de F de Wright (1965) revelaram também um coeficiente de endogamia (F_{IS}) não significativa (tabela 11), o que indica ausência de redução significativa da heterozigosidade na amostra. Com estes resultados podemos inferir que os rios Mogi-guaçu e Pardo não se caracterizaram como barreiras ao fluxo gênico para a espécie. Como esperado, para uma amostragem sem sub-divisão populacional, os valores de distância genética foram bastante baixos, de 0,007 entre as áreas 1 e 2, de 0,079 entre as áreas 1 e 3 e de 0,054 entre as áreas 2 e 3.

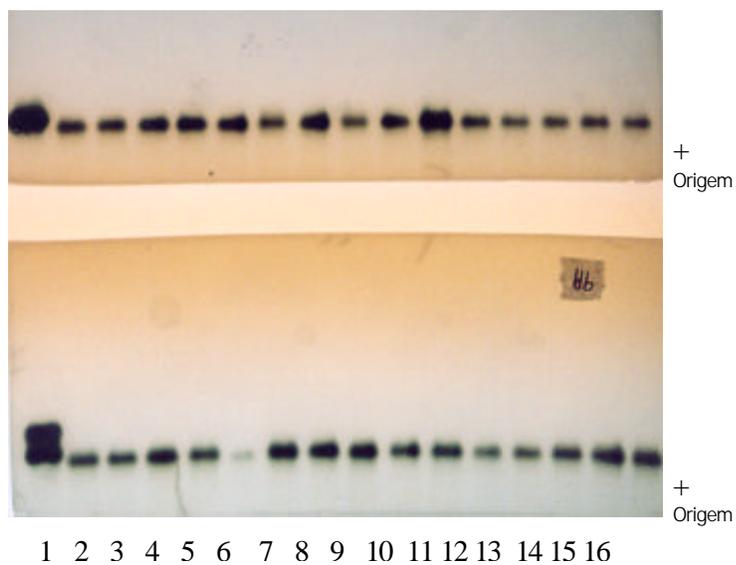


Figura 16- Eletroforese com coloração específica para hemoglobina. 1 – bovino, 2-16 – lobo guará

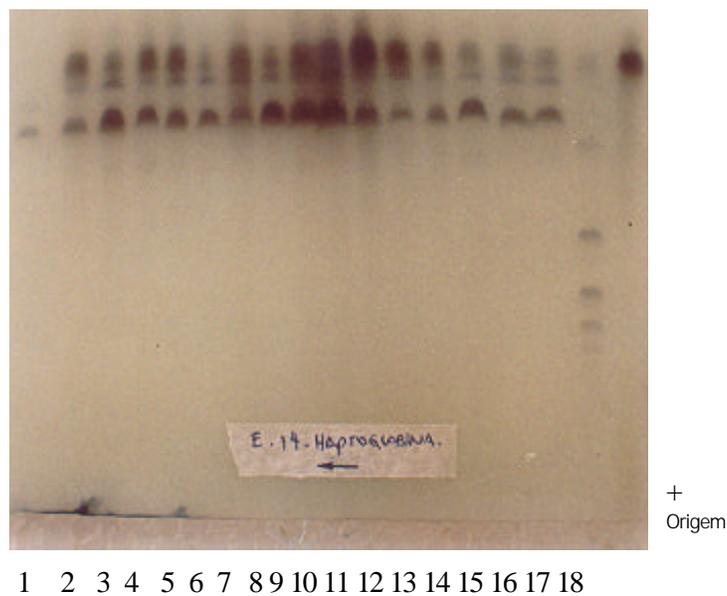


Figura 17 - Eletroforese com coloração específica para proteínas com atividade peroxidásica, objetivando o estudo da haptoglobina. 1 – soro de lobo guará, 2-16 – soro de lobo guará e hemoglobina humana, 17 – soro humano, 18 – hemoglobina humana.

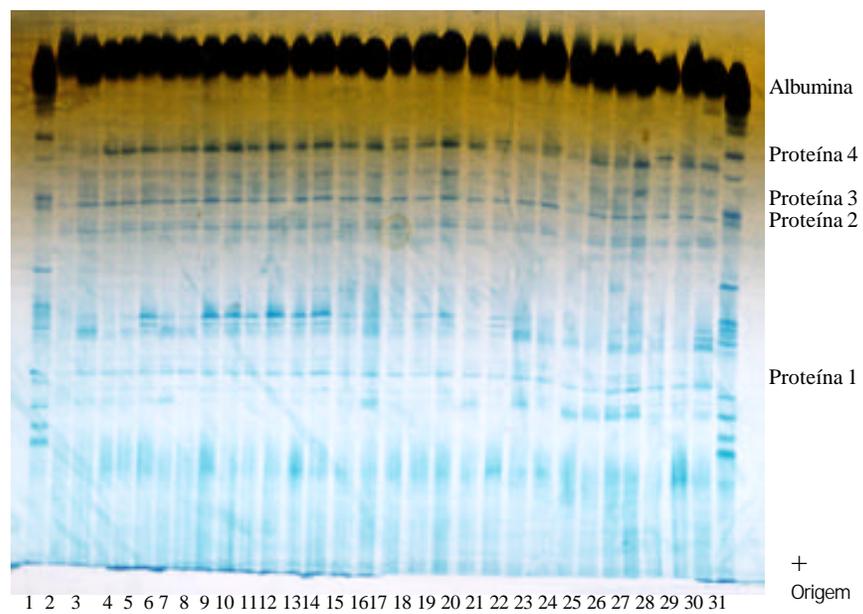


Figura 18 - Eletroforese de proteínas gerais do plasma. 1 e 31 equino, 2 a 30 lobo guará

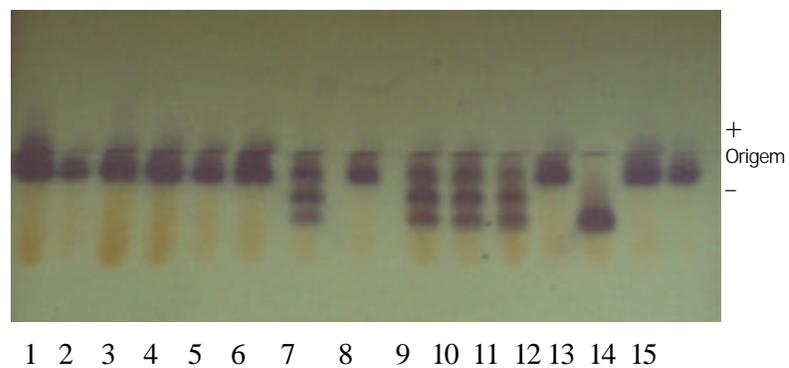


Figura 19- Eletroforese com coloração específica para fosfoglicoseisomerase (Pgi) em amostras de lobos guarás

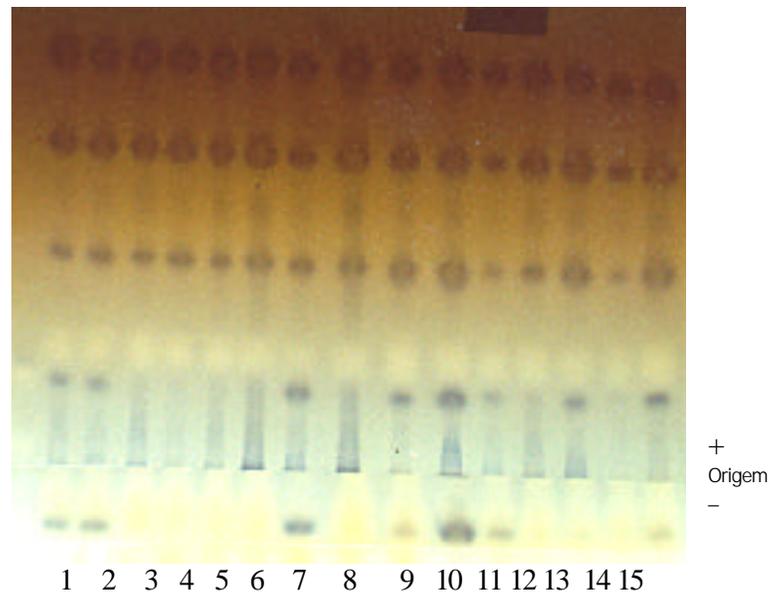


Figura 20- Eletroforese com coloração específica para lactato desidrogenase (Ldh) de lobos guarás, a superóxido dismutase (Sod) também pode ser visualizada.

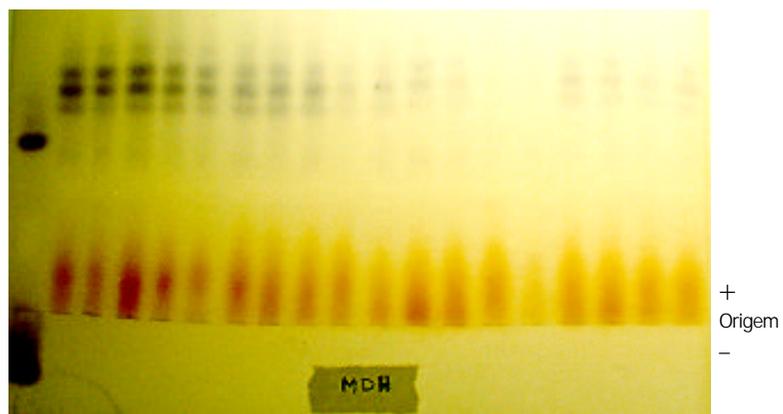


Figura 21 - Eletroforese com coloração específica para malato desidrogenase (Mdh). 1- abelha, 2 a 19 lobo guará.

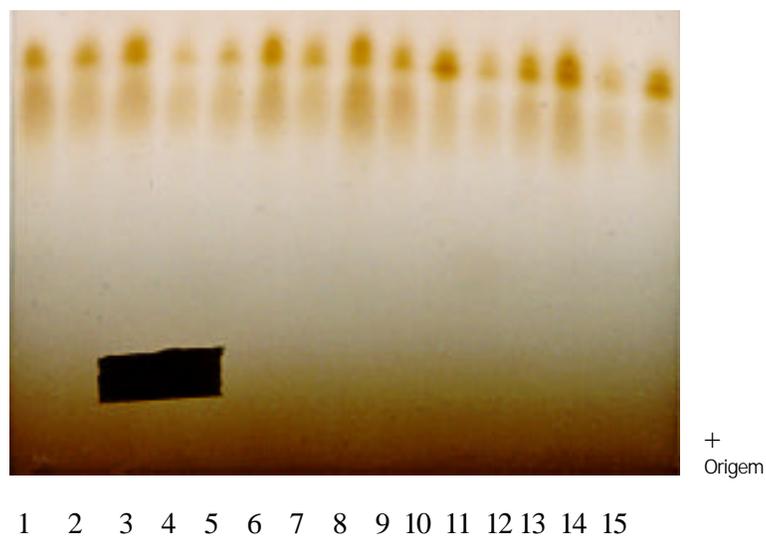


Figura 22 - Eletroforese com coloração específica para peptidase B (Pep-B) de lobos guarás.

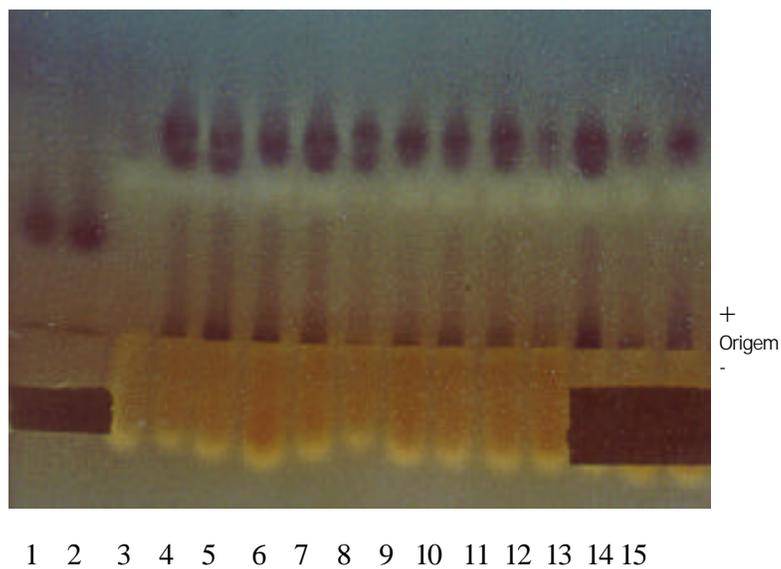


Figura 23 - Eletroforese com coloração específica para 6 fosfogluconato desidrogenase (Pgd), a superóxido dismutase (Sod) também pode ser visualizada. 1 e 2 – abelha, 3 a 15 lobo guará.

Tabela 9- Valores de frequências alélicas de amostras de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*) provenientes de 3 áreas do nordeste do Estado de São Paulo – Brasil. O equilíbrio de Hardy-Weinberg das amostras foi testado pelo Qui-quadrado (χ^2) e os respectivos graus de liberdade (GL). Os resultados foram considerados para 5% de significância. Estes valores foram estimados pelos fenótipos dos seguintes sistemas protéicos: Fosfoglicoisomerase (Pgi), peptidase B (Pep-b), proteína inespecífica do plasma 4 (Ptn-4) e glioxalase (Glo).

Sistemas	Alelos	Frequências alélicas				Hardy-Weinberg
		Área 1 N=7	Área 2 N=13	Área 3 N=8	Área total	χ^2
Pgi	S	0,857	0,770	0,562	0,732	3,681 (1 GL)
	F	0,230	0,230	0,438	0,268	Não significativo
Pep-B	S	0,917	0,875	0,562	0,788	1,871 (1 GL)
	F	0,083	0,125	0,438	0,212	Não significativo
Ptn – 4	S	0,786	0,923	0,812	0,857	0,437 (1 GL)
	F	0,214	0,077	0,188	0,142	Não significativo
Glo	F	0,857	0,846	0,937	0,875	0,571 (1 GL)
	S	0,143	0,154	0,063	0,125	Não significativo

Tabela 10 – Coeficientes da estatística F (F_{st} , F_{is} e F_{it}) e suas significâncias (*) considerando como única população de lobos guarás (*Chrysocyon brachyurus*), provenientes de 3 sub-áreas do nordeste do Estado de São Paulo.

Sistemas	F_{is}	χ^2	GL	F_{st}	χ^2	GL	F_{it}
Pgi	0,342	3,275	2	0,077	4,312	2	0,393
Pep-B	-0,495	6,371	2*	0,148	7,696	2*	-0,274
Ptn-4	0,143	0,573	2	0,026	1,456	2	0,165
Glo	-0,154	0,664	2	0,016	0,896	2	-0,136
Média	-0,011	10,883	8	0,075	14,360	8	0,064

5 DISCUSSÃO

5.1 Ocorrência de parasitismo e resposta orgânica da espécie

A ocorrência de altos índices de parasitismo por parasitas intestinais (79,2 %), renais (42%) e por carrapatos (48%), indica a susceptibilidade dos lobos guarás e/ou a alta incidência destes parasitos na região de estudo. Estudos de ocorrência parasitária em lobos guarás de vida livre também foram realizados por Dietz (1984), e em animais de cativeiro por Dinis et al. (1999) e Gilioli e Silva (2000). Estes estudos indicaram que, de uma forma geral, a ocorrência de parasitismos em animais de cativeiro é menos intensa do que de animais de vida livre (tabela 4). O motivo deste resultado está ligado ao fato dos animais de cativeiro serem submetidos a um monitoramento e controle parasitário. A detecção inédita da ocorrência de ovos de *Hymenolepis sp* e de *Prosthenorchis sp* nas fezes do lobo guará abrem precedentes para a discussão das possíveis relações tróficas e epidemiológicas ligadas a estes parasitismos. Um estudo específico com avaliação da morfologia de outras formas do ciclo de vida destes dois parasitas (adultos e cistos) seria necessário para a determinação das espécies; porém, pela morfologia dos ovos existem fortes evidências de que se trata de *Hymenolepis nana* e *Prosthenorchis elegans*. Segundo Georgi (1982), *Hymenolepis nana* é um cestóide que parasita ratos e camundongos,

podendo parasitar também primatas (simiescos e o homem). Este parasita não necessita, mas pode utilizar-se de um hospedeiro intermediário como pulgas e o besouro da farinha (hospedeiros intermediários facultativos). Dietz (1984) e Aragona (1997) estudando a ecologia trófica, detectaram que os roedores estão entre os principais itens alimentares de origem animal do lobo guará. Desta forma, é possível que estes roedores estejam veiculando o parasita para o lobo. A ocorrência do parasitismo por *Prosthernorchis elegans* é bastante interessante pelo fato de ser um acantocéfalo específico de primatas, que são infectados quando da ingestão de baratas (*Blatela sp*) que são os hospedeiros intermediários (Georgi, 1982). Na literatura, não foi constatada a ocorrência de primatas como item alimentar do lobo guará. É importante salientar que os estudos de ecologia trófica por resíduos fecais só podem identificar os elementos que passam pelo trato digestivo dos animais com pouca alteração na sua morfologia. Desta forma, apenas os alimentos que mantêm as suas características originais, apesar da mastigação e da ação de enzimas digestivas, podem ser identificados. Assim, os tecidos moles ingeridos não são detectados, sendo confiáveis apenas os diagnósticos de itens presentes, não podendo ser afirmado que itens não encontrados não fazem parte da dieta do animal estudado. Assim, a possibilidade do lobo guará ter se alimentado de primatas pode ter acontecido, seja ela por predação ou necrofagia, não descartando a

possibilidade do lobo ter adquirido as parasitoses por alimentar-se dos hospedeiros intermediários.

Outra questão a ser levantada sobre a ocorrência de *Hymenolepis sp* e de *Prosthenorchis sp* seria se estes vermes estão utilizando-se do lobo como hospedeiro definitivo ou se os ovos encontrados representam apenas o parasitismo do animal ingerido. Segundo Georgi (1982) uma forma de realizar esta avaliação é manter o animal com uma dieta isenta de parasitismo e realizar um novo exame após 48 horas. Desta forma os ovos ou formas larvais dos parasitas que hospedam o animal ingerido terão sido defecados e o exame se negativará. Porém, se o lobo guará estiver sendo um hospedeiro definitivo, a tendência é que isso não ocorra. Foi realizada uma tentativa de aplicação deste método em um animal positivo para ovos de *Hymenolepis sp*, alimentando-o com fruta do lobo, mas o experimento não pôde ser concluído pois como o animal se encontrava dentro da armadilha, alguém o libertou imaginando que se tratava de um animal caçado, antes que fosse possível sua complementação (48 horas). Apesar disso, os resultados da avaliação da resposta orgânica da espécie a parasitismos específicos mostram alterações no quadro hemático dos animais parasitados por *Hymenolepis sp* (tabela 6), indicando que este parasita deve estar usando o lobo como hospedeiro definitivo, espoliando-o. O diagnóstico de alterações orgânicas por *Prosthenorchis sp* não foi

possível, pois apenas um animal apresentou diagnóstico positivo de ovos nas fezes, o que impossibilitou a avaliação estatística (tabela.5).

Assim como no parasitismo por *Hymenolepis sp*, os ancilostomídeos, os carrapatos e os coccídeos também indicaram alterações no quadro hemático, sendo que os ancilostomídeos apresentaram também alteração da densidade urinária (tabela 6). Todos estes parasitas provocaram uma anemia macrocítica hipocrômica (aumento do VGM e diminuição do CHGM) que segundo Ferreira Neto et al. (1981) está associada a uma condição regenerativa de grande perda de hemácias. Estes resultados são coerentes com o fato dos ancilostomídeos e os carrapatos serem hematófagos espoliativos vorazes.

Quanto à série branca, as coccidioses indicaram uma leucopenia provavelmente causada pela neutropenia absoluta (tabela 6). Uma eosinofilia acentuada foi detectada nos parasitismos por ancilostomídeos.

A trombocitose detectada nas coccidioses pode ser o resultado de hemorragias agudas (segundo Ferreira Neto et al., 1981), porém nem no exame clínico nem no coproparasitológico, foi detectada a melena.

Estes resultados indicam que os ancilostomídeos, o *Hymenolepis sp*, os carrapatos e os coccídeos são agentes etiológicos que criam um impacto importante na saúde do lobo guará na região de estudo. No presente trabalho, apenas o parasitismo por carrapatos do gênero *Amblyoma* foi detectado (tabela 4). Este gênero parasita principalmente equinos, podendo

parasitar também aves e mamíferos, inclusive o homem e animais de “sangue frio” (cobras). O artrópode é apontado como o principal vetor da febre maculosa brasileira (*Rickettsia rickettsi* – Corrêa, 1976). No presente trabalho, a pesquisa de hematozoários por esfregaços sanguíneos se mostrou negativa para todas as amostras. O fato do diagnóstico não ter sido realizado com sangue periférico pode estar indicando um resultado do tipo falso negativo, apesar da amostragem de sangue venoso ser de grande utilidade no diagnóstico de infestações maciças por *Babesia canis* em cães domésticos.

O fato de não terem sido encontrados carrapatos de bovinos (*Boophilus microplus*), que são criados na região de estudo, pode estar relacionado à maior especificidade desta espécie aos bovinos e por serem monoxenos, diferente do gênero *Amblyoma* que são trioxenos, o que lhe confere uma maior mobilidade interespecífica de hospedeiros. Uma proposta de minimização da carga parasitária por carrapatos no lobo guará seria pela instituição de um programa regional de diminuição da carga parasitária de carrapatos nos equinos, na região de ocorrência do lobo guará. Uma monitoração da carga parasitária do lobo seria necessária para avaliar a validade deste manejo.

Quanto ao controle de parasitismos intestinais em lobos guarás de vida livre, uma metodologia que também pode ser avaliada é a de diagnóstico e terapêutica remota de parasitoses, com a realização de

exames parasitológicos de fezes coletadas do chão e a inserção do medicamento específico misturado a um alimento apropriado, colocado nas trilhas de passagem dos animais. Apesar da possibilidade de existência de contaminação externa, esta metodologia apresentou uma forte indicação de sua validade, pois foi realizada e foi capaz de diagnosticar a presença de ovos de ancilostomídeos em fezes frescas de lobos coletadas pela manhã. MacCallum e Dobson (1995), em sua revisão bibliográfica, discutem a utilização da terapêutica remota em animais silvestres, assim como o impacto do parasitismo nas espécies em perigo de extinção e no ecossistema.

Em relação ao parasitismo renal por *D. renale*, os valores da uréia e creatinina séricos e o pH e a densidade urinária não mostraram diferenças significativas. Em uma necrópsia realizada em um lobo guará atropelado foi detectada a destruição total do parênquima do rim direito, com um verme em seu interior, e o rim esquerdo apresentava-se hipertrofiado. Estes achados anátomo-patológicos (que estão de acordo com os achados de Dinis et al., 1999) indicam que deve estar havendo uma hipertrofia compensatória, levando a um quociente de filtração glomerular normal, pelo fato dos parâmetros de função renal não mostrarem diferenças significativas entre os animais parasitados por *Diotophyme renale* e os livres deste parasitismo (tabela 5).

É importante salientar que o impacto dos parasitismos por *Dipylidium sp.*, *Porsthenorchis sp.* e *Toxocara sp.* não puderam ser avaliados devido ao baixo número de ocorrências, inviabilizando a análise estatística (tabela 5).

No presente trabalho, foram confeccionadas tabelas comparativas de valores hematológicos e bioquímicos médios com os respectivos desvios padrões, a título de enriquecer as fontes de consultas de valores referências no estudo clínico-patológico da espécie (tabelas 7 e 8). Barbiers e Bush (1995) encontraram um Volume Globular Médio (VGM $-80,2 \pm 5,9 \mu\text{m}^3$) maior do que do presente trabalho ($65,9 \pm 19,1 \mu\text{m}^3$). Como os animais estudados por estes autores são de cativeiro, as diferenças no quadro hemático devem ser ocasionadas pelas diferenças de regime alimentar, mobilidade e relações sociais dos animais de vida livre. Dietz (1984) trabalhou com lobos guarás de vida livre e entre as diferenças do quadro hemático com o presente trabalho, destacam-se os altos valores médios de eosinófilos (de $6,0 \pm 3,7 \%$) comparado a valores deste trabalho ($1,0 \pm 1,5 \%$). Este autor também encontrou um intenso parasitismo na espécie (tabela 3), portanto as diferenças de respostas eosinofílicas podem estar ligadas a uma maior adaptação dos animais da região amostrada à verminose.

5.2 Estudos de genética populacional

Em relação aos estudos de marcadores genéticos protéicos, o grau de polimorfismo verificado para a amostra coletada na área de estudo (20%) foi similar ao descrito por outros autores para o lobo guará e para canídeos filogeneticamente próximos. Moreira et al. (1998) detectaram em amostras de lobos guarás um grau de polimorfismo de 21,4% em região de baixa pressão antrópica (Brasília e Goiânia) e de 14,3% em região de alta pressão antrópica (São Paulo e Minas Gerais). O parâmetro utilizado para avaliar a pressão antrópica foi a densidade populacional humana, embora este estimador (de pressão antrópica) deva ser tomado com precaução, uma vez que áreas de baixa densidade populacional humana podem apresentar alta fragmentação e redução de habitats, principalmente por impacto da atividade agropecuária. Níveis de variabilidade genética mensurada através de marcadores protéicos foram relatados em lobos cinzentos (*Canis lupus*) por Kennedy et al.(1991) e Waine et al. (1991). Kennedy et al.(1991) encontraram 13,5% de locos polimórficos em lobos cinzentos de vida livre, um valor mais baixo que o verificado no presente trabalho. Waine et al. (1991), analisando a variabilidade genética de lobos cinzentos em área continental da América do Norte, estimaram em 20% a proporção de locos polimórficos. Ao comparar estes dados com uma população isolada de lobos cinzentos de uma área insular (Ilha Royale), estes autores verificaram uma

percentagem de locos polimórficos de 8%, bem mais baixa do que a da população continental. Estes dados apontam para a importância do estudo de marcadores genéticos, como ferramenta útil no diagnóstico da diminuição de variabilidade genética em populações isoladas de canídeos silvestres ameaçados de extinção.

Moreira *et al.* (1998) realizaram o estudo de genética de populações (com marcadores protéicos) em lobos guarás, de uma parcela bastante representativa da área de ocorrência da espécie (no sudeste e centro-oeste do Brasil). Estes autores, estimaram heterozigosidade média com valores de 1,4 a 8,3%, valores aproximados ao encontrado no presente trabalho (5,7%), o que indica que não está havendo diminuição da heterozigosidade nos animais amostrados.

Stockwell *et al.* (1996) levanta a questão da validade de se realizar translocamentos de animais com o objetivo de aumentar a diversidade alélica da população. Este tipo de manejo tem sido proposto como medida conservativa em populações depauperadas geneticamente.

Ao que tudo indica, como os parâmetros estimados no presente trabalho não mostram uma redução de variação genética e endogamia, os translocamentos de animais não são necessários (como medida para aumentar a diversidade alélica) para a região de estudo. Estes achados adquirem maior relevância quando se consideram os efeitos negativos dos translocamentos para as espécies, como a introdução de doenças

infecciosas na população (Cunningham, 1996; McCallum & Dobson, 1995) e a impossibilidade de adaptação dos animais aos locais em que foram introduzidos (Campbell, 1980).

Os translocamentos de lobos guarás, detectados no presente trabalho (figura 15), mostraram a dificuldade desta espécie de se adaptar a outras áreas. É possível que o insucesso do translocamento do animal “Padu” tenha ocorrido pelo fato de já haver uma ocupação territorial por outros animais na Estação Ecológica de Jataí (EEJ - figura 15). A ocupação territorial por outros lobos guarás, em toda a área da EEJ, foi constatada nos estudos de radiotelemetria realizados por Mantovani (2001). O comportamento territorialista da espécie foi detectado também por Rodrigues (2002) e Dietz (1984). Rodrigues (2002) testou o translocamento de 3 lobos guarás de outras regiões para o interior de uma Unidade de Conservação (Estação Ecológica de Águas Emendadas – DF), e verificou que nenhum deles permaneceu no local por mais de 3 dias, o que corrobora a constatação do presente trabalho.

Foi constatado que a Polícia Ambiental vem translocando animais para o interior da Estação Ecológica de Jataí, com o argumento de que a Unidade de Conservação apresenta as melhores condições para a sobrevivência da espécie. Este tipo de manejo deve ser avaliado com mais cautela pois, além da possibilidade de não estar atingindo os objetivos de conservação preconizados para a área (PIRES, 2000), o animal pode estar levando

patógenos para a unidade de conservação e infectando os animais que ali ocorrem.

Nos estudos de avaliação do papel dos rios Moji-guaçu e Pardo, como bloqueadores de fluxo gênico para a espécie, o coeficiente de diferenciação interpopulacional (F_{ST}), obtido por marcadores genéticos não se mostrou significativo (tabela 10), o que indica uma ausência de barreiras ao fluxo gênico entre as amostras das três sub-áreas (figura 13). Este resultado sugere que a transposição dos rios pela espécie ocorreu e/ou está ocorrendo de alguma forma. A verificação de equilíbrio de Hardy Weinberg na amostra total (tabela 9) reforça esta suposição. Como esperado para uma população sem estruturação, os valores de distância genética entre as amostras das três áreas mostraram-se bastante baixos (entre 0,054 - 0.079).

Os estudos de estruturação populacional por marcadores genéticos de amostras com pequeno número de indivíduos (o que ocorre em estudos de animais em extinção devido à baixa densidade populacional), se tornam mais robustos e consistentes quando se tem acesso a um grande número de locos (Nei, 1978). Em animais vivos e ameaçados de extinção, as amostras de material biológico que são possíveis obter sem colocar o animal em risco, são as de sangue, sêmem e bulbo piloso.

A técnica de coleta de sêmem em canídeos silvestres a campo é promissora (Ronaldo Morato – comunicação pessoal) e deve ser considerada como uma alternativa viável.

Em animais que não apresentam estudos anteriores de marcadores genéticos, os estudos de marcadores protéicos podem apresentar uma grande rapidez na obtenção de resultados em laboratórios que já apresentam a rotina de estudar estes marcadores em outros animais. Isto se dá pelo fato de que as técnicas de coloração costumam detectar a atividade enzimática, que é semelhante entre as espécies. Porém, os estudos de um maior número de marcadores se tornam limitados quando se tem apenas amostras de sangue, devido ao fato que o metabolismo das células vermelhas é constituído primordialmente pela via glicolítica de Embden-Meyerhoff e do “shunt” alternativo da hexose monofosfato (Beutler, 1975), o que limita o estudo apenas às enzimas destas vias metabólicas. O plasma e as células brancas apresentam um número limitado de componentes protéicos com concentrações compatíveis para o estudo eletroforético.

Desta forma, estudos de marcadores de DNA nuclear e mitocondrial provenientes das células brancas ou de bulbos pilosos se tornam a principal alternativa na busca de um maior número de marcadores genéticos. Rodrigues (2002) trabalhou com marcadores heterólogos de DNA microssatélite de cães domésticos (CXX 2001, CXX 2010, CXX2054 E CXX2088) em amostras de lobos guará, porém, apesar de promissores, estes trabalhos preliminares ainda não se mostraram conclusivos.

Estudos de genética de populações com marcadores nucleares e mitocondriais foram realizados em canídeos silvestres (Wayne *et al.*, 1991.,

Garcia-Moreno *et al.*, 1996., Girman *et al.*, 1993) e em outros carnívoros de vida livre (Eizirik *et al.*, 1998, Eizirik *et al.*, 2001). Estes estudos indicaram que estes marcadores podem ser uma importante ferramenta de estudo de genética populacional do lobo guará.

5.3 Ocorrências e conservação da espécie na área de estudo

Os principais problemas relatados nos contatos realizados com moradores nos locais em que foram armadas as armadilhas, em relação à presença dos lobos nas fazendas, foram a predação de galinhas domésticas, o medo de ser atacado pelo animal e a utilização de partes do corpo para obtenção de “poderes mágicos”. Neste último caso o aspecto mais citado é a utilização do olho do lobo guará para conquista do sexo oposto (tanto por parte do homem quanto da mulher). Algumas pessoas citaram que, se o olho for obtido pelo animal ainda vivo, se tornará ainda mais “poderoso”.

A utilização do lixo para forrageamento foi detectada neste trabalho por meio do avistamento de 3 animais buscando alimento em lixões. Estes animais (denominados, Julio, Sílvia e Boca da Mata) foram capturados nestes locais por meio de armadilhas (Figura 15).

A despeito da reclamação envolvendo a predação de aves domésticas por lobos guarás, estudos sobre ecologia trófica do mesmo mostraram que a

presença deste item alimentar em sua dieta é extremamente raro (com. pes. José Carlos Motta Junior), sugerindo que outros carnívoros podem ser os responsáveis pelos ataques. Foi verificado também que certos proprietários rurais adotaram medidas para a convivência pacífica com predadores silvestres no sentido de evitar a predação de galinhas e o acesso de animais ao lixo. As medidas que mais contribuíram para o sucesso em evitar a predação de galinhas foram a construção de galinheiros resistentes às investidas de carnívoros silvestres e a aquisição de cães de grande porte (cães de pequeno porte não demonstram a mesma eficiência, pois se intimidam com a presença do lobo). Quando a opção da criação de galinhas não era o confinamento, a opção de semiconfinamento incluía a reclusão das mesmas antes do anoitecer e a liberação após a alvorada, horários opostos ao período de caça da maioria dos predadores silvestres. Segundo Dietz (1984) os lobos guarás apresentam uma atividade mais intensa das 18:00 horas às 6:00 horas (período crepuscular e noturno). O manejo correto do lixo da fazenda, tornando-o inacessível à espécie, também foi importante.

Na área de estudo, um animal apresentou fortes indicações de ter sido alvejado por arma de fogo (Figueira – figura 15), pois apresentava uma forte hemorragia no ponto de entrada na região da jugular próxima à escápula e um ponto de saída na lateral da escápula, levando-o à óbito. Os motivos mais prováveis para este tipo de atitude devem estar relacionados (i) ao controle de predadores, por ser o principal suspeito de predação de

galinhas, (ii) devido à falsa crença de que o animal possa atacar o ser humano, principalmente as crianças ou (iii) para obter partes do corpo por motivos místicos ou para medicina popular (Costa-Neto, 1999). O medo dos seres humanos em relação ao ataque do lobo guará é infundado, pois os animais se alimentam de presas de pequeno porte (Motta-Junior et al., 1996; Branco et al., 1998; Azevedo & Gastal, 1997) e nenhum caso de ataque foi constatado, na área de estudo ou em qualquer outra localidade onde ocorra esta espécie. O trabalho de desmistificação das crendices populares que são danosas à espécie deve estar baseado em um programa de educação ambiental que considere tanto o homem rural quanto as crianças em idade escolar.

No presente trabalho, os atropelamentos foram a maior causa da morte do animal na região de estudo. Uma pesquisa sobre impacto de estradas sobre animais silvestres da região vem apoiando tal conclusão (com.pes. Cristiana Prada). Rodrigues (2002) também identificou os atropelamentos como a principal causa de mortalidade da espécie, com a detecção da morte de 13 lobos guarás nas estradas limítrofes da Estação Ecológica de Águas Emendadas – DF.

A minimização deste problema deve considerar uma melhor iluminação das rodovias e estradas vicinais, a diminuição da velocidade máxima permitida e placas de sinalização indicando a ocorrência de animais

silvestres nas regiões de maior ocorrência, e a criação de equipes de resgate veterinário.

Outras causas de mortalidade podem ser tão ou mais importantes para a redução da população de lobos guarás nesta região. A dificuldade de adaptação na área, de filhotes desmamados e sub-adultos, pode estar ocorrendo pela fragmentação e diminuição de habitats. Foi constatado um animal sub-adulto prostrado no campo, em avançado estado de desidratação e desnutrição, e apresentando um ferimento na base da cauda com 4 perfurações simétricas sugerindo que tenha sido mordido. Felizmente foi possível recuperar o animal. Este animal apresentava aproximadamente 4 meses de idade. Este caso permitiu levantar hipóteses sobre o que poderia ter acontecido com este lobo guará. Que animal poderia tê-lo mordido? Talvez um cão doméstico defendendo a fazenda de intrusos, ou até mesmo um dos pais do animal fazendo com que o mesmo busque uma outra área de vida. De qualquer forma, o animal parece ter sido privado do seu objetivo de obter alimento e água de forma satisfatória. É possível que esta região, com alta pressão antrópica, esteja propiciando um aumento de mortalidade destes animais na desmama, pela dificuldade dos mesmos em obter refúgio e forrageamento.

Apesar dos lobos guarás não viverem preferencialmente em áreas de mata (Dietz, 1984; Mantovani, 2001), foi obtido um maior sucesso de captura em estradas próximas às bordas das mesmas que apresentaram uma maior

quantidade de pegadas e de fezes. Uma hipótese para explicar esta ocorrência pode ser expressa pelo fato de que os itens alimentares mais importantes para a espécie, que são os pequenos mamíferos e a “fruta do lobo” (*Solanum lycocarpum* - Dietz, 1984; Motta Junior, 1996; Mantovani, 2001), estão mais disponíveis nas bordas das áreas de mata. A alta incidência de *Solanum lycocarpum* nas bordas das matas, na beira de estradas e nos chamados “pastos sujos” foi detectada por Couternay (1994). O deslocamento do lobo guará pelas bordas pode estar relacionado a uma estratégia de forrageamento em função de uma maior disponibilidade de alimentos, principalmente por haver pequenos mamíferos que utilizam fragmentos naturais como áreas de vida. Desta forma, torna-se imprescindível a existência de áreas naturais protegidas para a sobrevivência desta espécie.

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

As propostas de conservação de populações de lobos guarás, assim como para outros carnívoros silvestres que ocorrem na região, foram focadas em estratégias “in situ” e “inter situ”, ou seja, nas áreas preservadas e nas alteradas pela atividade humana. Estas propostas estão ligadas a ações de políticas públicas envolvendo tanto órgãos governamentais quanto não governamentais (ONGs). Entre as propostas de ação direta do Poder Executivo, está a intensificação da iluminação das rodovias e estradas vicinais, sinalização e a instituição de limites de velocidade mais baixos em áreas críticas, onde ocorrem atropelamentos freqüentes de fauna silvestre. Outro órgão público diretamente envolvido na problemática da conservação regional é a Polícia Ambiental. Um intercâmbio maior de informações e tomadas de decisões conjuntas com pesquisadores especialistas é imprescindível para a região.

Nas propriedades rurais é importante a promoção de um programa de minimização da predação de animais domésticos e acesso ao lixo, com a construção de recintos e lixões totalmente vedados à abordagem dos carnívoros silvestres. Além disso, uma intensificação e monitoramento da carga parasitária de animais domésticos, em especial dos carrapatos dos eqüinos, deve ser estimulado.

Por fim, é importante a instituição de um amplo plano de Educação Ambiental na região, no sentido de desmistificar crenças que causam um impacto negativo para a espécie e mostrar a importância da mesma para os ecossistemas e para o ser humano.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGONA, M. **Hábito alimentar do lobo guará, (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811) nas estações seca e chuvosa, no Parque Estadual de Ibitipoca**, Rio Claro: UNESP, 1997. 35p. Trabalho de conclusão de curso.

AZEVEDO, F. C. C.; GASTAL, M. L. A. Hábito alimentar do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*), na APA do Gama/Veado-DF. In: LEITE, L.L.; SAITO, C.H. **Contribuição ao conhecimento ecológico do cerrado**. Brasília: UnB, 1997. p. 238-240.

BARBIERS, R.; BUSH, M. **Medical management of maned wolves: Maned Wolf Husbandry Manual**. Philadelphia : University of Pennsylvania. 1995, Cap. 7.

BECKER, M., DALPONTE, J.C. **Rastros de mamíferos silvestres brasileiros**. 2ª Ed. Brasília: Ed. Unb; Ed. IBAMA, 1999. 180p.

BESTELMEYER, S. V., WESTBROOK, C. Maned Wolf (*Chrysocyon brachyurus*) predation on Pampas Deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in central Brazil. **Mamm.** v. 62, n. 4, p. 591-595, 1998.

BEUTLER, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. New York : Ed. Grune & Stratton, 1975. 160p.

BOOTH, N.H. Estágios clínicos da anestesia geral. In : JONES, M.; BOOTH, N.H., McDONALD, L.E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 4. Ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1983. 100p.

BOROVICZENY, C.G. Erythrocytometry methods and their standardization.

Bibl. Haematol., v. 18, p. 68-72, 1964.

BRANCO, M.B.C. **Dieta do lobo guará, Chrysocyon brachyurus**

(Mammalia: Canidae), na região central do estado de São Paulo. São

Carlos -: USP, 1998. 27p. Relatório final de iniciação científica

BROWN, L. **Hematology, principles and procedtures** 2.ed. Philadelphia :

Lea & Ferbiger, 1976. 136p.

BURNS, G. V. Genética: uma introdução à hereditariedade. 4.ed. Rio de

Janeiro : GUANABARA KOOGAN 1983. 558p.

CAMPBELL, S. Is a reintroduction a realistic goal? *In*: SOLÉ, M. E.&

WILCOX, B. W. **Conserv. Biol.**: an evolutionary–ecological perspective.

Sunderland, (MA): Sinauer Association, 1980, 395 p.

CHEW, D.J.; DiBARTOLA, S.P. Insuficiência renal. *In*: FENNER, W.R.

Manual de prática clínica veterinária. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan,

1985. 413p.

CORRÊA, O. **Doenças parasitárias dos animais domésticos.** 3.ed. Porto

Alegre: Sulina, 1976. 370p.

COSTA-NETO, E. M. **“Barata é um santo remédio”**: introdução à

zooterapia popular no Estado da Bahia. Feira de Santana : Universidade

Federal de Feira de Santana, 1999. 103 p.

COURTENAY, O. Conservation of the maned wolf: fruitful relations in a changing environment. **Canid News**, n. 2, p. 41-43, 1994.

CUNNINGHAM, A. A. Disease risks of wildlife translocations. **Conserv. Biol.**, v.10, p.349-353, 1996

DIETZ, J.M. Ecology and social organization of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). **Smith. Contr. Ecol.** V. 392, p.1-24, 1984

DINIS, L. S. M., LAZZARINI, S.M., ANGELO, M.J. Problemas médico-veterinários de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) em cativeiro. **Rev. Ed. Cont.**, v.2, n. 2, p.34-42, 1999.

EIZIRIK E. et al. Phylogeographic patterns and evolution of the mitochondrial DNA control region in two neotropical cats (Mammalia, Felidae). **J. Mol. Evol.** v.47, p. 613-624, 1998.

EIZIRIK E. et al. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). **Mol. Ecol.** v. 10, p. 65-79, 2001.

FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte : Rabelo, 1981. 279p.

FERREL, R.E., MORIZOT, D. C., HORN, J. & CARLEY, C. J. Biochemical markers in a species endangered by introgression: the red wolf. **Biochem. Genet.**, v.18, p.39-49, 1980.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Porto Alegre : Sulina, 1987, 643p.

FRANKEL, S.; REITMAN, S.; SONNENWIRTH, Y. **Clinical laboratory methods and diagnosis**. Ed. Gradwohl's. 7.ed., 1970. 123p.

GARCIA-MORENO, J. et al. Relationship and genetic purity of the endangered Mexican Wolf based on analysis of microsatellite loci. **Conserv. Biol.**, v 10, n. 2, p. 376-387, 1996.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo : Varela, 1994. 169 p.

GEORGI, J.R. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1988. 354p.

GILIOLI, R.; SILVA, F. A. Frequency of parasites and *Salmonella* infection in captive maned-wolf , *Chrysocyon brachyurus*, kept in Zoos at the State of São Paulo, Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 52, n.4, p. 2000.

GIRMAN D.J. et al. Molecular-genetic and morphological analyses of the african wild dog (*Lycaon pictus*). **J. Hered.**, v.84, n.6, p. 450-459, 1993.

HARRIS, H.& HOPKINSON, D.A., , **Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics**. Amsterdam : North Holland, 1978. 670p.

HILDEBRAND, M. An analysis of body proportions in the Canidae. **Am. J. Anatom.**, v.90, n.2, p. 217-256, 1952.

HOSKINS, L.D. Ehrlichiosis. **Selec. Veter.**, v. 1, n. 3, p.149-154, jul., 1993.

IUCN – **Red list of threatened animals**. IUCN. Gland, Switzerland and Cambridge. 1994. 286 p.

KAPLAM, L. A., PESCE, A. J. **Clinical chemistry**– theory, analysis na correlation. The C.V. Mosby Company, 2. ed, 1989.

KENNEDY, P.K.; KENNEDY, M. L.; CLARKSON, P. L.; LIEPINS, I. S., Genetic variability in natural populations of the gray wolf, *Canis lupus*. **Can. J. Zool.**, v. 69, p. 1183-1188, 1991

LAIKRE, L., RYMAN, N. Inbreeding depression in a captive wolf (*Canis lupus*) population. **Conserv. Biol.** v. 5, n.1. p. 33-40, 1991

MAIA, O. B., GOUVEIA, A. M. G. Birth and mortality of maned wolves *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) in captivity. **Braz. J. Biol.** V.62, n.1, p. 25-32, 2002.

MANTOVANI, J. E., **Telemetria convencional e via satélite na determinação da área de vida de três espécies de carnívoros da região nordeste do estado de São Paulo**. 2001. 118p, Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. – SP.

McCALLUM, H.; DOBSON, A. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. **Tree**, v.10, p.190-194, 1995.

MOREIRA, J. R.; GUIMARÃES, N. K.; PILLA, E. J. S.; CONTEL, E. P. B.; BEM, A. R. D., Estudo preliminar da variabilidade genética do lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*). **Comunicado técnico EMBRAPA** v. 30, p.1-10,1998

MOTTA-JUNIOR, J. C. et al. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in central **Brazil. J. Zool.**, v. 240, p. 277-284, 1996.

NEI, M., , Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v.89, p.583-590, 1978.

NEVES, D.P., MELO,A.L., GENARO, O., LINARDI,P.M. **Parasitologia humana**. 9. ed. Rio de Janeiro: Ateneu, 1995, 457p.

NOVAES, A . P. **Contenção farmacológica de animais**. 2.ed. São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 1997. 106 p.

PIRES, A. M. Z. C. R. **Diretrizes para a conservação da biodiversidade em planos de manejo de Unidades de Conservação. Caso de estudo> Estação Ecológica de Jataí e Estação Experimental de Luiz Antônio (Luiz Antônio - SP)**. 2000.Tese de doutorado Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2000.

PIRES, J. S. R. **Análise ambiental voltada ao planejamento e gerenciamento do ambiente rural: abordagem metodológica aplicada ao município de Luis Antônio–SP**. 1995. 192f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.1995.

PIRES, J.S.R., SANTOS, J.E., PIREs, A. M. Z. C., MANTOVANI, J.E.,
PAESE, A. Estratégias “*Inter situ*” de conservação: Elaboração de cenários regionais para a conservação da biodiversidade. In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS: CONSERVAÇÃO, 5, 2000, Vitória.
Anais...

RODRIGUES, F. H. G. **Biologia e conservação do lobo guará na Estação Ecológica de Águas Emendadas, D.F.** 2002, 105p Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

ROGERS, W. A. Insuficiência hepática. In: Fenner, W.R. et al. **Manual de prática clínica veterinária**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1985. p. 371-384.

ROSS, L. A . Avaliação da função renal no cão e gato. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária**. São Paulo : Manole., 1988. P.1395-1400.

SANTOS, J. E.; PIRES, A. M. Z. C. R.; PIRES, J. S. R. **Caracterização ambiental de uma unidade de conservação: Estação Ecológica do Jataí, Luís Antônio, SP**. São Carlos: UFSCar, 2000. 17 p. Folheto.

SCHWANTES, A R. Haptoglobins in snakes. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 55(B), p. 235-238, 1976.

SCHWANTES, A R., TONDO, C.V. Preliminary data on haptoglobins in vertebrates. **Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.**, v. 2, n. 2, p. 105-108, 1969.

SILVEIRA, J.M. **Interpretação de exames laboratoriais em veterinária**. Rio de Janeiro : Guanabara. 1988. p. . 47p.

SILVEIRA, L., JACOMO, A. T. A., RODRIGUES, F. H. G. e CRAWSHAW, P. G. Hunting association between the Aplomado Falcon (*Falco femoralis*) and the Maned Wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in Emas National Park Central Brasil. **The condor**. V.99, p. 201-202, 1997.

STOCKWELL, C. A.; MULVEY, M.; VINYARD, G. L., , Translocations and preservation of allelic diversity. **Conservation Biol.**, v.10, p.1133-1141, 1996.

SWANGO, L.J.; BANKEMPER, K.W.; KONG, L.I. Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais e outras. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3.ed. São Paulo : Manole, 1992, p. 277-311, v.1,.

SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. Byosys-1: A Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. **J. Heredity**, v.72, p.281-283, 1981

TOLEDO FILHO, D.Z. **Composição florística e estrutura fitossociológica da vegetação de cerrado de Luiz Antônio - SP** 1984. Dissertação de mestrado. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas.

TOPPA, R. H.; PIRES, J. S. R. DURIGAN, G., DE FIORI, A., MAROTI, P.S., OLIVEIRA, C. H. Fitofisionomias da Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio - SP. Congresso brasileiro de unidades de conservação. 3, 2002, Fortaleza, p. 611-620. 2001. **Anais...**

WALLACH, J.D., BOEVER, W.J.. In: **Canidae**; diseases of exotic animals – medical and surgical management. Philadelphia: W.B. Saunders, 1983. 1159p.

WAYNE, R. K.; GILBERT, D.A.; LEHMAN, N.; HANSEN, K., EISENHAWER, A.; GIRMAN, D.; PETERSON, R.O.; MECH, L.D.; GOGAN, P.J.P.; SEAL, U.S. ; KRUMENAKER, R.J., , Conservation genetics of endangered Isle Royale gray wolf. **Conservation Biol.**, v.5, p.41-51, 1991

WOODROFFE, R. ; GINSBERG, J.R., , Edge effects and the extinction of populations inside protected areas. **Science**, v.280, p.2126-2128, 1988.

WRIGHT, S., The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, v.19, p:395-420, 1965.