

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS

MARIANA COLETTO CORRÊA

**Efeito fundador em populações de cativeiro: o caso do urso
de óculos (*Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825) e seu
significado para o manejo e futura conservação *ex situ***

SÃO CARLOS, SP

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Efeito fundador em populações de cativoiro: o caso do urso
de óculos (*Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825) e seu significado
para o manejo e futura conservação *ex situ***

Mariana Coletto Corrêa

Dissertação de mestrado 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 mestre em Ciências com área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Pedro Manoel Galetti Junior

SÃO CARLOS, SP

2015

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

C824ef

Corrêa, Mariana Coletto.

Efeito fundador em populações de cativeiro : o caso do urso de óculos (*Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825) e seu significado para o manejo e futura conservação *ex situ* / Mariana Coletto Corrêa -- São Carlos : UFSCar, 2015.
60 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Ecologia terrestre. 2. Microsatélite. 3. Diversidade genética. I. Título.

CDD: 574.5264 (20ª)

MARIANA COLETTO CORRÊA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 14 de agosto de 2014

BANCA EXAMINADORA

Presidente



Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Júnior
(Orientador)

1º Examinador



Profa. Dra. Alexandra Sanches
UFSCar

2º Examinador



Profa. Dra. Renata Alonso Miotto
ESALQ/USP



FONTE: Mariana C. Corrêa

Dedico este trabalho à todos os seres vivos que vivem e também aqueles que permanecem apenas um período em zoológicos, parques ecológicos, aquários, etc. Todos devem e merecem ser tratados com respeito e da melhor maneira possível, para que tenham sempre momentos felizes durante os longos anos que passam em um cativeiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à minha família, por todo o suporte e amor que me deram durante todo o período do mestrado.

Ao meu orientador Pedro Manoel Galetti Junior, por me aceitar como sua aluna e tornar possível a realização do mestrado e pela orientação ao longo do percurso.

Ao amigo Juan Pablo Torrez-Flores, pós-doutorando do Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação (DGE – UFSCar), por ter me ajudado muito durante a realização deste trabalho, revisando e criticando o mesmo.

A todos os meus amigos do Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação (DGE – UFSCar), pelas várias vezes em que me ajudaram na realização do trabalho, pelas conversas, pela companhia e pelas muitas risadas.

Aos amigos que fiz na UFSCar ao longo do mestrado.

Aos meus amigos da capoeira, pelos treinos, rodas, conversas, amizade, apoio, risadas, aprendizado e por todo o axé, que é tão importante em qualquer período da vida.

À toda a equipe das instituições que colaboraram com o trabalho, por fornecer as amostras e informações sobre os ursos de óculos de seus plantéis, e por me receber tão bem durante as coletas. Obrigado ao Bosque Municipal Fábio Barreto de Ribeirão Preto, ao Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros de Sorocaba; ao Parque Ecológico Dr. Antônio T. Vianna de São Carlos, à Fundação Parque Zoológico de São Paulo, ao Jardim Zoológico de Curitiba, à Fundação Jardim Zoológico do Rio de Janeiro, ao Parque Zoobotânico Getúlio Vargas de Salvador e à Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudos concedida e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro.

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza dos seus sonhos.”
(Eleanor Roosevelt)

RESUMO

Espécies mantidas em cativeiro são de grande importância na conservação *in situ* de populações naturais. A fim de que possam desempenhar este papel é necessário que sejam devidamente manejadas, para que as consequências que o cativeiro traz sejam evitadas, como por exemplo: perda de diversidade genética, depressão endogâmica, acúmulo de alelos deletérios e adaptação genética ao cativeiro (as três primeiras devido ao pequeno número de espécimes dos plantéis). No Brasil, uma espécie de mamífero que vem sendo criada em cativeiro desde 1970 e que passou por um efeito fundador, é o urso de óculos (*Tremarctos ornatus*). O plantel existente hoje totaliza o número de vinte e um ursos, encontrados em oito zoológicos do país, o qual se originou de apenas doze indivíduos fundadores. Para avaliar as consequências de um conhecido efeito fundador, analisamos doze locos heterólogos de microssatélites para todos os exemplares da espécie nos zoológicos do país, através de amostragem não-invasiva. Resultados referentes ao número de alelos e à riqueza alélica obtida por meio do método de rarefação mostraram que os ursos de óculos de cativeiro possuem valores reduzidos de riqueza alélica em relação a três populações naturais (Colômbia, Equador e Venezuela) estudadas por outros autores; sugerindo que os ursos dos zoológicos brasileiros sofreram as consequências de um efeito fundador, pois possuem apenas uma fração do *pool* gênico da população ancestral. A partir das informações presentes no *studbook* foi possível verificar que existem duas famílias de ursos de óculos, e de acordo com os genótipos multilocos dos indivíduos, encontramos alelos que estão presentes em uma mesma família e ausentes na outra. Em relação ao parentesco, houve uma discrepância nos resultados encontrados com os estimadores moleculares através dos softwares ML-Relate e Coancestry e o histórico cedido pelas instituições. As informações obtidas em nosso trabalho, portanto, são fundamentais para que os ursos encontrados nos zoológicos do Brasil possam participar na formação de casais em futuros programas de reprodução *ex situ* com o propósito de serem utilizados em planos de reintrodução da espécie na natureza.

Palavras-chave: Ursidae, microssatélite, diversidade genética, *studbook*, pedigree, método de rarefação.

ABSTRACT

Species kept in captivity are of great importance for *in situ* conservation of natural populations. In order to fulfill this role, they need to be properly managed with the aim to avoid the consequences of a captive environment, such as: loss of genetic diversity, inbreeding depression, accumulation of deleterious alleles and genetic adaptation to captivity (the first three due to the small number of breeding stock). Thus, with the aim to test founder effects in captive “populations”, we used as study model the spectacled bears from Brazilian zoos. This “population” consists of twenty-one bears found in eight zoos along the country, which are originated from just twelve founding individuals. To test a possible founder effect, we analyzed twelve heterologous microsatellite loci for all the specimens of the species in Brazil. Results for the number of alleles and allelic richness obtained through the rarefaction method showed that spectacled bears in captivity have reduced levels of allelic richness in relation to three natural populations (Colombia, Ecuador and Venezuela) studied by other authors; suggesting that bears from Brazilian zoos suffered the consequences of a founding effect, as they have only a fraction of the gene pool of the ancestral population. From the information present in the studbook was possible to verify that there are two families of spectacled bears, and according to the individuals’ multilocus genotypes, we found alleles that are present in a same family and absent in the other. Regarding the kinship, there was a discrepancy in the results with the molecular estimators through the softwares ML-Relate and Coancestry and the information given by the institutions. The information obtained in this work are fundamental to the *ex situ* conservation program in Brazil with the objective of maintain as high as possible the genetic diversity for future reintroduction plans of the species in nature.

Keywords: Ursidae, microsatellite, genetic diversity, *studbook*, pedigree, rarefaction method.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01** – Representantes vivos da família Ursidae. Espécies: *Ailuropoda melanoleuca*, *Tremarctos ornatus*, *Helarctos malayanus*, *Melursus ursinus*, *Ursus americanus*, *Ursus arctos*, *Ursus maritimus* e *Ursus thibetanus* (ordenados da esquerda para a direita)..... 15
- Figura 02** – Distribuição geográfica do urso de óculos (*Tremarctos ornatus*)..... 16
- Figura 03** – Registro genealógico do urso de óculos: exemplo do interior de um *Studbook*.. 18
- Figura 04** – Coleta de material não-invasivo (pelos) de *Tremarctos ornatus*..... 21
- Figura 05** – Descrição da qualidade das frequências alélicas obtidas pelo Bottleneck..... 29
- Figura 06** – Relações de parentesco e respectivos coeficientes de endogamia de heredograma (F) para cada um dos ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados neste estudo, e para todos os ursos até chegar nos primeiros indivíduos fundadores; distribuídos em nove gerações. Imagem gerada pelo software Pedigree Viewer..... 33
- Figura 07** – Genealogia de *Tremarctos ornatus* em cativeiro no Brasil. Relação de todos os ursos de óculos que contribuíram para a formação do plantel atual, constituído por 21 indivíduos alocados em oito zoológicos do país. Os valores do coeficiente de endogamia de heredograma (F) estão representados para cada uma das nove gerações de ursos, e estão demonstrados no lado esquerdo da figura..... 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Identificação de vinte e um ursos de óculos amostrados dentro de cada zoológico, seu respectivo número de registro no <i>Studbook</i> (BRACHO, 2009) e tipo de material coletado.....	20
Tabela 02 – Diversidade genética de dezessete indivíduos de <i>Tremarctos ornatus</i> em cativeiro no Brasil.....	27
Tabela 03 – Graus de informação de onze locos de microssatélites para dezessete indivíduos de <i>Tremarctos ornatus</i> em cativeiro no Brasil.....	28
Tabela 04 – Comparação dos valores de riqueza alélica (R_a) entre os ursos de óculos (<i>Tremarctos ornatus</i>) cativos do Brasil e cinco populações naturais simuladas (Colômbia, Equador, Venezuela, Bolívia e Peru) da mesma espécie, obtidas através do método de rarefação realizado no software HP-Rare (KALINOWSKY, 2005).....	29
Tabela 05 – Simulação realizada pelo software Coancestry (WANG, 2011) com dados dos genótipos multilocos e parentesco previamente definido referentes a 17 indivíduos de <i>Tremarctos ornatus</i> presentes em zoológicos do Brasil.....	30
Tabela 06 – Temperaturas de anelamento (°C) específicas dos doze locos de microssatélites utilizados nas reações de PCR das amostras de pelo e da amostra de fezes do presente estudo.....	47
Tabela 07 – Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (<i>Tremarctos ornatus</i>) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML-Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.....	48
Tabela 08 – Valores de r (coeficiente de parentesco) calculados para o estimador Lynch & Ritland através do software Coancestry (WANG, 2011) para uma estrutura familiar conhecida de quinze ursos de óculos (<i>Tremarctos ornatus</i>) de zoológicos brasileiros...	55
Tabela 09 – Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (<i>Tremarctos ornatus</i>) amostrados em oito zoológicos do Brasil; através do uso de dois <i>studbooks</i> da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e informações cedidas pelos zoológicos.....	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Obtenção das amostras.....	20
3.2 Extração de DNA e Amplificação dos locos de Microsatélites.....	22
3.3 Análises de Diversidade Genética.....	23
3.4 Análises de Parentesco.....	24
3.5 Análise do <i>Studbook</i> e do Coeficiente de Endogamia de Heredograma (F).....	25
4. RESULTADOS.....	27
4.1 Análises de Diversidade Genética.....	27
4.2 Análises de Parentesco.....	30
4.3 Análise do <i>Studbook</i> e do Coeficiente de Endogamia de Heredograma (F).....	31
5. DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÕES.....	39
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
APÊNDICE A – Temperaturas de Anelamento.....	47
APÊNDICE B – Parentesco: Estimadores Moleculares.....	48
APÊNDICE C – Parentesco: Coeficiente de Parentesco para uma estrutura familiar conhecida.....	55
APÊNDICE D – Parentesco: <i>Studbook</i> e Zoológicos.....	57

1. INTRODUÇÃO

É amplamente reconhecido que as espécies mantidas em cativeiro desempenham um papel importante na conservação *in situ* de espécies ameaçadas de extinção. Podem ser utilizadas em programas de recuperação em regiões onde as populações selvagens encontram-se em alto risco de extinção, ao reforçar e/ou restabelecer as mesmas, e para que esse objetivo seja atingido, as espécies cativas precisam ser adequadamente manejadas (MARSDEN et al., 2013; RAMIREZ et al., 2006). Para tal finalidade, alguns pontos que influenciam as espécies de cativeiro devem ser levados em consideração, como: perda de diversidade genética, depressão endogâmica, acúmulo de mutações deletérias e adaptação genética ao cativeiro (os três primeiros fatores relacionados ao pequeno tamanho dos plantéis) (FRANKHAM et al., 2002).

Em geral, os plantéis são formados no início por um pequeno número de indivíduos fundadores. Esse número reduzido traz consigo os alelos que estarão presentes na população fundada e nas próximas gerações, os quais são uma pequena fração da variação genética encontrada na população ancestral, da qual essa nova população se originou (MAYR, 1963). Esse tipo de evento conhecido como Efeito Fundador é de grande preocupação quando se trata da sobrevivência de espécies ameaçadas (HEDRICK et al. 2001), pois pode diminuir os níveis de variação genética, e consequentemente resultar em um fitness reduzido devido à fixação de alelos deletérios e do reduzido potencial para futuras adaptações, aumentando a probabilidade de extinção para as populações naturais (HEDRICK et al. 2001).

Embora ocorra em populações naturais que foram fundadas por um pequeno número de indivíduos (WRIGHT, 1931; MAYR, 1954; CARSON e TEMPLETON, 1984), o efeito fundador pode ser muito mais notável quando plantéis de cativeiro são estabelecidos. Considerando que os plantéis de cativeiro geralmente são fundados por um reduzido número de espécimes, e assim são mantidos ao longo dos anos, a falta de indivíduos não-relacionados faz com que indivíduos que são parentes próximos sejam utilizados na formação de casais para reprodução. Nesse caso, alelos deletérios podem ser expostos em homozigose nas subseqüentes gerações, acarretando o processo conhecido como depressão endogâmica, o que traz como consequência redução no fitness, e possivelmente um maior risco de extinção para as populações naturais (HEDRICK et al., 2001). O efeito do endocruzamento na redução do fitness em populações pequenas já foi observado tanto em condições experimentais (NEWMAN e PILSON, 1997), como

em cativeiro (SACCHERI et al. 1996), e também em populações naturais (KELLER et al., 1994). A ação desse efeito nas taxas de extinção foi demonstrada pela primeira vez por Saccheri e colaboradores em 1998.

Diferentes estudos já realizados encontraram uma redução na variação genética em plantéis de cativeiro que foram fundados por um pequeno número de indivíduos, ao compará-los com populações na natureza. Um exemplo é o caso da população de *Ovis canadensis mexicana*, uma população reintroduzida de carneiro selvagem que teve seus níveis de variação genética reduzidos devido à ocorrência de um efeito fundador. A população da Ilha de Tiburon foi composta inicialmente em 1975 por vinte indivíduos, cresceu rapidamente, e vinte e quatro anos depois atingiu o número de 650 carneiros. Segundo análise com locos de microssatélites e do complexo de histocompatibilidade (MHC) verificou-se níveis de heterozigosidade e número de alelos menores do que os encontrados em três populações da mesma espécie no Arizona (HEDRICK et al., 2001). O mesmo foi observado para a espécie em condições de cativeiro no refúgio Red Rock, no Novo México, onde também um pequeno número de indivíduos contribuiu para a formação do plantel. Os níveis de variação genética encontrados nesses carneiros foram menores do que o encontrado nas mesmas três populações no Arizona citadas acima (GUTIÉRREZ-ESPELETA et al., 2000, 2001).

Outros estudos demonstraram que algumas espécies sofreram as consequências da depressão endogâmica após a ocorrência de um efeito fundador, caracterizada pela perda na qualidade de ejaculação e mudanças morfológicas no esperma. Em um estudo realizado por Wildt e colaboradores em 1987, três populações de leões foram analisadas: uma no Parque Nacional do Serengeti (África) - sem ter sofrido redução populacional e efeito fundador -, uma na Cratera Ngorongoro (sudeste do Serengeti), isolada, sem entrada de novos leões e poucos emigrantes e outra no zoológico de Sakkarboug (Índia) – ambas tendo sofrido os efeitos de uma contração populacional e de consequente efeito fundador. Locos de aloenzimas foram utilizados para medir a variação genética entre os três grupos, e a população do Serengeti expressou maior variação, seguida da população da Cratera Ngorongoro, e por último, os indivíduos do cativeiro, com monomorfismo em 100% dos locos. No mesmo estudo, além da caracterização genética também foi realizada uma análise da função reprodutiva dos leões amostrados, e o resultado obtido foi o de que conforme a variação genética dos locos de aloenzimas entre os grupos diminuiu, a qualidade de ejaculação declinou e a estrutura do esperma se mostrou mais vulnerável. O efeito disso pode ser observado na atuação reprodutiva desses leões. Em um período de dois anos, um macho de seis anos de idade acasalou com uma fêmea em período reprodutivo e não houve filhotes, enquanto que outros três machos produziram crias de apenas um filhote ou com filhotes nascidos mortos.

Por último, há o efeito da adaptação genética ao cativeiro. Em um estudo realizado por Frankham e colaboradores em 2002, os autores demonstraram que as adaptações genéticas que as espécies adquirem no cativeiro e que estão relacionadas a uma melhora no sucesso reprodutivo dos animais nesse tipo de ambiente, tornam-se deletérias quando os indivíduos são devolvidos para a natureza. Em 2008, Frankham faz uma revisão sobre o tema e chama a atenção para a sua importância no que diz respeito à conservação das espécies. E para isso, o autor aponta para trabalhos como os de GRIFFITH et al., 1989; WOLF et al., 1996; FISCHER & LINDENMAYER, 2000, os quais mostram que projetos de reintrodução que utilizaram animais selvagens translocados obtiveram maior sucesso na reintrodução do que aqueles que utilizaram animais nascidos em cativeiro.

Nesse mesmo estudo, o autor relata as formas que existem para reduzir a ação da adaptação genética ao cativeiro, formas estas que foram demonstradas pelo mesmo autor e por Loebel em 1992, que são: reduzir o número de gerações no cativeiro, minimizar a ação da seleção, reduzir a diversidade genética, reduzir o tamanho efetivo populacional e introduzir indivíduos da natureza para o cativeiro. Porém, dentre essas, a alternativa mais viável e praticável para as espécies de animais seria reduzir a diversidade genética por meio de fragmentação. Segundo Margan e colaboradores (1998), a adaptação genética ao cativeiro pode ser minimizada ao fragmentar as populações de espécies ameaçadas entre as instituições, e assim depender de um baixo tamanho efetivo populacional e da deriva genética para reduzir a diversidade genética nas populações individuais, ao passo que é mantida ao nível global de espécie. Por fim, o autor salienta um fato elucidado no estudo de Frankham e colaboradores em 2002, que é a importância de serem feitas trocas de animais entre as instituições ocasionalmente, com a finalidade de manter o equilíbrio nas taxas de endogamia, as quais são aumentadas devido ao processo de fragmentação.

Dessa forma, o grande desafio do manejo *ex situ* é continuar a promover reprodução para as espécies ameaçadas com propósitos conservacionistas e para que haja sucesso, é necessário levar em consideração todos os fatores abordados anteriormente, os quais influenciam a saúde genética dos indivíduos que estão hoje no cativeiro e que futuramente poderão contribuir em programas de reintrodução.

O urso de óculos (*Tremarctos ornatus*), mamífero com alta longevidade (35-40 anos) (ROSENTHAL e BRACHO, 2005), é uma espécie interessante para se avaliar as consequências de um efeito fundador e para que recomendações mais sólidas de manejo sejam fornecidas. É uma dentre as oito espécies da família Ursidae (Figura 01), a qual se divide em três subfamílias: Ailuropodinae (panda gigante, *Ailuropoda melanoleuca*), Tremarctinae (urso de óculos, *Tremarctos*

ornatus) e Ursinae (urso malaio, *Helarctos malayanus*; urso beirão, *Melursus ursinus*; urso negro americano, *Ursus americanus*; urso pardo, *U. arctos*; urso polar, *U. maritimus* e urso negro asiático, *U. thibetanus*) (WOZENCRAFT, 1993; YU et al., 2004).

Figura 01 - Representantes vivos da família Ursidae. Espécies: *Ailuropoda melanoleuca*, *Tremarctos ornatus*, *Helarctos malayanus*, *Melursus ursinus*, *Ursus americanus*, *Ursus arctos*, *Ursus maritimus* e *Ursus thibetanus* (ordenados da esquerda para a direita).



FONTE: <http://www.bearbiology.com>

Considerado como espécie-bandeira, o urso de óculos é o único representante da família Ursidae que habita a América do Sul e atualmente é a única espécie viva da subfamília Tremarctinae (SOIBELZON e RINCÓN, 2007). Seu território estende-se desde a Venezuela até a Bolívia, incluindo a Colômbia, o Equador e o Peru (RODRÍGUEZ et al., 2003) (Figura 02). Existem evidências de que a espécie também ocuparia o Panamá, porém essa informação é incerta, pois ainda há controvérsias acerca da existência de populações residentes nesse país (GOLDSTEIN et al., 2008a). O mesmo também foi pensado para a região noroeste da Argentina (DEL MORAL e BRACHO, 2009), porém em um estudo recente Cosse e colaboradores (2014) com o uso de um marcador mitocondrial confirmaram a presença da espécie na Argentina, mais especificadamente 150 km a mais ao sul da região que se pensou anteriormente. Segundo os autores, é necessário que mais amostras sejam coletadas a fim de se melhor determinar a presença e a distribuição da espécie nesse país.

Figura 02 - Distribuição geográfica do urso de óculos (*Tremarctos ornatus*).



Área do mapa marcada pela cor laranja= países de ocorrência da espécie.

FONTE: <http://www.iucnredlist.org>

Do mesmo modo como as outras espécies de urso, *T. ornatus* também se encontra ameaçado de extinção (IUCN, 2014). Está classificado como vulnerável pela Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza) desde 1973, e está presente no Apêndice I da CITES (Convenção sobre Tráfico Internacional de Espécies Ameaçadas da Fauna e Flora Selvagens) desde 1977 (GOLDSTEIN et al., 2008b). Há uma série de motivos pelos quais o urso de óculos encontra-se nesse *status* de ameaça, sendo que todos eles são de origem antrópica. Dentre as principais causas estão: a degradação, redução e fragmentação das áreas naturais onde a espécie ocorre e a caça ilegal (RODRÍGUEZ et al., 2003). Atividades como mineração, extração de petróleo, construção de rodovias, monocultivos (PEYTON et al., 1998; RODRÍGUEZ et al., 2003) e utilização da terra na produção de narcóticos (YERENA, 1998; PEYTON, 1999; RODRÍGUEZ et al., 2003) são alguns dos exemplos os quais têm agido diretamente na degradação do habitat da espécie. Outro fator importante que contribui na redução do número de indivíduos é o comércio ilegal, tanto de filhotes que são vendidos como animais de estimação (GOLDSTEIN et al., 2006) como também partes do corpo do animal, que são utilizadas

dentro da medicina tradicional no Peru e também contrabandeadas para a Ásia (saindo do Peru, Equador e da Colômbia) (RODRÍGUEZ et al., 2003).

Estudos genéticos populacionais conduzidos ao longo de seu território de distribuição mostraram que essas populações apresentam baixos a moderados níveis de diversidade genética, sendo maiores para as populações das regiões ao norte do território (RUIZ-GARCÍA, 2003; RUIZ-GARCÍA et al., 2005).

Em cativeiro a espécie já foi encontrada em 161 zoológicos ao redor do mundo desde o ano de 1942 (ROSENTHAL, 2003). No Brasil, a espécie foi introduzida primeiramente na Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (Sapucaia do Sul, RS) durante o ano de 1970 e atualmente encontra-se alojada em oito zoológicos ao longo do país, com um total de vinte e um indivíduos. Os dois últimos *studbooks* da espécie - *Studbook* Internacional para o Urso Andino de 2000-2002 compilado por Mark A. Rosenthal e o Registro LatinoAmericano do Urso Andino de 2009 compilado por Andrés E. Bracho S. - mostram que o plantel de ursos de óculos existente hoje no Brasil originou-se de um grupo pequeno de apenas doze indivíduos fundadores, e desde então nove gerações foram criadas.

Os *Studbooks* são como bases de dados com conteúdo sobre o pedigree e eventos ocorridos durante a vida de cada um dos indivíduos pertencentes ao plantel de uma instituição (EARNHARDT et al., 2005). É o local de registro onde todos os dados que sejam relevantes para a população cativa de uma determinada espécie são compilados, como por exemplo: número de registro de cada animal; sexo; data e local de nascimento; data, local e causa da morte; número de registro dos pais; data e local de transferência; nome da instituição onde está atualmente e identificadores (transponders, tatuagens) (Figura 03). Os *studbooks* são constantemente atualizados e são realizados por um profissional responsável chamado de *studbook keeper*. Existe ainda uma seção de atualização contendo uma compilação de todos os nascimentos, capturas, transferências, mortes e solturas realizadas durante o período reportado. E por fim, informações sobre os mantenedores das coleções (nome, endereço e informações para contato) são disponibilizadas em um glossário com o intuito de permitir a comunicação entre os mantenedores e o *studbook keeper* (WASA, 2014).

Antigamente, os programas de reprodução *ex situ* de muitas espécies tinham como base apenas as informações contidas nos *studbooks* (BALLOU e FOOSE, 1995). Mais recentemente, as informações obtidas com o uso de marcadores moleculares em estudos com espécies cativas têm colaborado nessa questão, pois complementam os dados pré-existentes nos registros genealógicos (IVY e LACY, 2010).

Figura 03 – Registro genealógico do urso de óculos: exemplo do interior de um *Studbook*.

# Stud	Sex	Fecha Nac.	Padre	Madre	Locación	Fecha	ID Local	Evento	Nombre	Microchip #
52	M	~ 1968	WILD	WILD	S.AMERICA JU ARAGON	~ 1968 ~ 1968 28 Jan 1992	NONE	Capture Transfer Death		
[Death by: Unknown means]										
53	F	~ 1968	WILD	WILD	S.AMERICA MEXICOCTY	~ 1968 22 Jul 1968 7 Jan 1976	NONE	Capture Transfer Death		
[Death by: Unknown means]										
60	M	1 Jan 1969	WILD	WILD	S.AMERICA LOSANGELE MORELIA	~ 1969 21 Jun 1969 13 May 1975 26 Jul 1987	NONE	Capture Transfer Transfer Death		
[Death by: Unknown means]										
64	M	~ 1970	WILD	WILD	S.AMERICA SAOLEOPOL	~ 1970 5 May 1970 25 Mar 1974	NONE	Capture Transfer Death	MONTSEFU	
[Death by: Unknown means]										
65	F	~ 1970	WILD	WILD	S.AMERICA SAOLEOPOL LONDRINA	~ 1970 5 May 1970 ~ 1976 19 May 1987	NONE	Capture Transfer Transfer Death	MOSSME	
[Death by: Unknown means]										
71	M	~ 1963	WILD	WILD	S.AMERICA MEDELLIN	~ 1970 30 Nov 1970 20 Feb 1992	NONE	Capture Transfer Death	KAISER	
[Death by: Other/Unknown Bury No necropsy planned]										
75	M	31 Jan 1971	34	7	BERLIN TP WIESBADEN LONDRINA SAOLEOPOL	31 Jan 1971 6 Dec 1971 ~ 1976 23 Mar 1978 4 Jan 2000		Birth Transfer Transfer Transfer Death	LONDRINO	
[Death by: Unknown means]										

Stud= número de registro do indivíduo; Sex= sexo; Fecha Nac.= data de nascimento; Padre= pai; Madre= mãe; Locación= zoológico onde o indivíduo se encontra; Fecha= data de cada evento; ID Local= identificação do indivíduo dentro da instituição; Nombre= apelido que o indivíduo recebe na instituição; Microchip #= número do microchip; M= macho; F= fêmea; Wild= indivíduo oriundo da natureza.

FONTE: Registro LatinoAmericano del Oso Andino (*Tremarctos ornatus*): 2009 (Andrés Eloy Bracho S.)

Com esse intuito, pretendeu-se nesse estudo agregar tanto a abordagem molecular como a contida em *studbooks*, a fim de se verificar a situação genética em que os ursos de óculos dos zoológicos brasileiros se encontram e com isso, propor estratégias de manejo que façam com que esse grupo de ursos possam ser parte de um futuro programa de reintrodução na natureza, o qual é o objetivo principal das instituições de cativeiro: ajudar na conservação *in situ* de espécies ameaçadas.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar as consequências de um conhecido efeito fundador no plantel de cativeiro de ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) presentes em oito zoológicos do Brasil. Os objetivos específicos deste estudo foram:

- › Verificar as consequências de um conhecido efeito fundador na diversidade genética da população de cativeiro brasileira de urso de óculos e comparar com as populações de vida livre previamente avaliadas por outros autores (RUÍZ-GARCIA, 2003; RUÍZ-GARCIA et al., 2005) através do uso de doze locos de microssatélites;
- › Construir a genealogia da espécie nos zoológicos do país, incluindo os primeiros ursos fundadores até a geração encontrada hoje nas instituições;
- › Calcular o coeficiente de endogamia de heredograma (F) para os ursos de cativeiro;
- › Verificar as possíveis relações de parentesco entre os indivíduos amostrados;
- › Testar a ocorrência de um possível efeito de gargalo nos ursos dos zoológicos brasileiros;
- › Propor estratégias de manejo para programas de reprodução levando em consideração o nível de diversidade genética mantida nas populações de cativeiro e os potenciais efeitos de depressão endogâmica para uma futura reintrodução na natureza com o mínimo possível de perda de diversidade genética. Finalmente, os resultados darão suporte para um possível programa de reprodução em cativeiro para futuras reintroduções, preservando o máximo de diversidade genética no cativeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das amostras

O presente estudo foi realizado em colaboração com oito instituições brasileiras que possuem o urso de óculos em cativeiro. Foram elas: quatro zoológicos no estado de São Paulo (Ribeirão Preto, Sorocaba, São Carlos e São Paulo), um no Paraná (Curitiba), um no Rio de Janeiro (Rio de Janeiro), um na Bahia (Salvador) e um no Rio Grande do Sul (Sapucaia do Sul). As oito instituições juntas totalizam a quantia de vinte e um ursos de óculos. Desse total, onze são machos e dez são fêmeas (ver Tabela 01).

Tabela 01 - Identificação de vinte e um ursos de óculos amostrados dentro de cada zoológico, seu respectivo número de registro no *Studbook* (BRACHO, 2009) e tipo de material coletado.

Identificação Zoo	Microchip	Identificação <i>Studbook</i>	Sexo	Zoo	Tipo de amostra
Renan	-	-	♂	BMFBRP	pelo (a)
Pepito	-	-	♀	PZMQB	pelo (b)
Luna	230035	834	♀	PZMQB	pelo (b)
Jabu	-	493	♀	PESC	fezes
Princesa	-	474	♀	PESC	pelo (b)
Paula	-	-	♀	PESC	pelo (b)
Tábata	-	-	♀	PESC	pelo (b)
Bob	-	757	♂	FPZSP	pelo (b)
Marley	-	758	♂	FPZSP	pelo (b)
Endy	-	-	♂	ZMC	pelo (a)
Susi	00-004F-0607	532	♀	FJZRJ	pelo (b)
Pancho	-	833	♂	FJZRJ	pelo (b)
Capitu	360346	832	♀	PZGV	pelo (b)
Zugão	96300000061737	575	♂	PZGV	pelo (b)
Joana	-	-	♀	PZGV	pelo (b)
Antônia	-	-	♀	PZGV	pelo (b)
Sara	-	-	♀	FZRS	pelo (b)
Nei	-	-	♂	FZRS	pelo (b)
Peposa	-	271	♀	FZRS	pelo (a)
Caly	00-0137-DED2	574	♂	FZRS	pelo (a)
Curitiba/Guaxu	-	-	♂	FZRS	pelo (a)

BMFBRP= Bosque Municipal Fábio Barreto de Ribeirão Preto; PZMQB= Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros de Sorocaba; PESC= Parque Ecológico Dr. Antônio T. Vianna de São Carlos; FPZSP= Fundação Parque Zoológico de São Paulo; ZMC= Zoológico Municipal de Curitiba; FJZRJ= Fundação Jardim Zoológico do Rio de Janeiro; PZGV= Parque Zoobotânico Getúlio Vargas de Salvador; FZRS= Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul; (-) = ausência de microchip ou de registro no *Studbook*; ♂= macho; ♀= fêmea; pelo (a) e pelo (b)= pelo coletado da superfície do cambeamento e retirado direto do animal, respectivamente.

O tipo de amostra coletada dependeu da possibilidade permitida por cada instituição. A fim de se evitar anestésias os animais com o único propósito de realizar a coleta de apenas um trabalho, optou-se pela abordagem não-invasiva. Portanto, foram coletadas amostras de pelo com bulbo e de fezes. As amostras de pelo foram coletadas de duas maneiras (Figura 04): (I) com um

animal de cada vez no cambejamento, os pelos foram retirados ao serem puxados dos animais. Para isso, uma pessoa ficou responsável em distrair o urso com mel, para uma segunda pessoa poder coletar o material. Em outra instituição, foram utilizadas técnicas de treinamento e condicionamento animal para a retirada dos pelos. A segunda maneira (II) foi coletar os pelos que ficam caídos na superfície do cambejamento de um dia para o outro, com o auxílio de uma pinça esterilizada. É importante ressaltar que a primeira abordagem foi realizada pelos veterinários e tratadores das instituições; e que a segunda abordagem foi utilizada nos zoológicos que possuem apenas um exemplar da espécie em sua coleção (Ribeirão Preto e Curitiba), ou naqueles onde os locais em que os animais são mantidos (sejam recintos expostos ou não à visitação pública) são em pontos diferentes dentro do mesmo zoológico, o que evita o risco de contaminação entre as amostras.

Figura 04 – Coleta de material não-invasivo (pelos) de *Tremarctos ornatus*.



A e C= coleta de pelos puxados no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (Sorocaba, S.P.); B= coleta de pelos caídos no Bosque Municipal Fábio Barreto de Ribeirão Preto (S.P.).

FONTE: Marcelo Leite (imagem A) e Ueslei Lopes (imagens B e C).

As amostras foram guardadas em tubos do tipo *falcon* e apenas a amostra de fezes foi preservada em etanol 90%. Todas as amostras foram devidamente individualizadas, identificadas e

armazenadas em freezer a -20°C até sua utilização. Dois *studbooks* da espécie, o *Studbook* Internacional para o Urso Andino de 2000-2002 compilado por Mark A. Rosenthal e o Registro Latino-americano do Urso Andino de 2009 compilado por Andrés E. Bracho S., foram utilizados para verificar a identificação de cada exemplar amostrado, bem como o histórico de criação da espécie nos zoológicos brasileiros desde os primeiros animais fundadores.

3.2 Extração de DNA e Amplificação dos locos de Microssatélites

Para a extração do DNA da amostra de fezes, utilizou-se o kit de extração próprio para esse tipo de amostra da Quiagen (QIAamp® DNA Stool Mini Kit - 50), e seguiu-se as instruções fornecidas pelo fabricante. O DNA das amostras de pelo foi extraído segundo o protocolo de extração padrão de fenol-clorofórmio proposto por Sambrook e Russel (2001), e para cada indivíduo foi utilizada a quantidade de dez pelos com bulbo. O DNA extraído das amostras de pelo foi então ressuspendido em TE, quantificado em biofotômetro (Eppendorf), a fim de verificar sua concentração e a presença ou ausência de contaminantes, e por fim, a fim de se observar se o DNA estava degradado foi feito gel de agarose a 1%.

Doze locos de microssatélites heterólogos previamente testados para a espécie foram utilizados neste estudo (RUIZ-GARCÍA, 2003; RUIZ-GARCÍA et al., 2005; VITERI e WAITS, 2009). G1D, G10B, G10C, G10H, G10J, G10L, G10M, G10O, G10P e G10X, desenvolvidos para o urso negro americano (*Ursus americanus*) (PAETKAU e STROBECK, 1994; PAETKAU et al., 1995); UarMU50, desenvolvido para o urso pardo (*U. arctos*) (TABERLET et al., 1997) e CXX20 desenvolvido para canídeos (OSTRANDER et al., 1993). Todos os locos continham a cauda universal (M13) de dezoito pares de base (TGT AAA ACG ACG GCC AGT), de acordo com Schuelke (2000). A reação otimizada da PCR das amostras de pelo teve como volume final $12,5\ \mu\text{l}$, contendo: MgCl_2 2,5mM; *buffer* 1x (Promega); dNTPs 0,3mM; *primer forward* a $0,2\ \mu\text{M}$ e *reverse* a $0,8\ \mu\text{M}$; fluoróforo a $0,8\ \mu\text{M}$; BSA 0,48 mg/ μl ; 1 unidade de *Taq* Polimerase; 0,5; 1 ou 2 μl de DNA e H_2O . A reação para a amostra de fezes teve como volume final $15\ \mu\text{l}$, contendo: MgCl_2 2,6 mM; *primer forward* a $0,2\ \mu\text{M}$ e *reverse* a $0,8\ \mu\text{M}$; fluoróforo a $0,8\ \mu\text{M}$; BSA 0,48 mg/ μl ; 7,5 μL Go Taq® Hot Start Colorless Master Mix e DNA. No termociclador Veriti Termocycler (Applied Biosystem), o programa empregado foi: 95°C durante 5 minutos; 35 ciclos de 1 minuto a 95°C , 1 minuto na temperatura de anelamento específica de cada par de *primers* (ver Tabela 06 - Apêndice A), 1 minuto a 72°C ; 15 ciclos de 45seg a 95°C , 1 minuto a 53°C e 1 minuto a 72°C ; e 72°C por 10 minutos. No caso da amostra de fezes, o número de ciclos de amplificação aumentou para 40 a

95°C durante 45seg, 45seg na temperatura de anelamento específica e 72°C por 1 minuto. Para avaliar o rendimento da PCR, os produtos da amplificação passaram por eletroforese em gel de agarose a 2%. Por último, esses produtos foram genotipados em sequenciador automático MegaBACE ET-550 Size Standard (Amersham Biosciences) pela empresa DNA Consult (São Carlos, SP) e analisados no software MegaBace™ Fragment Profiler (GE Healthcare Life Sciences), a fim de detectar os alelos amplificados para cada loco.

3.3 Análises de Diversidade Genética

Em primeiro lugar, antes de realizar as análises de diversidade genética, o software Micro-Checker (VANOOSTERHOUT et al., 2004) foi utilizado com a finalidade de verificar se havia alelos nulos, alelos *dropout* e/ou possíveis erros de identificação dos alelos devido à *stutter bands*. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) de cada um dos locos foi estimado pelo software Cervus 3.0.3 (KALINOWSKI et al., 2007). Possíveis desvios no Equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados para os locos testados através do software Genepop (RAYMOND; ROUSSET, 1995). Os intervalos de significância foram corrigidos através da correção sequencial de Bonferroni (RICE, 1989). Para a análise de diversidade genética, foram estimados os valores de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o), número de alelos (N_a) no programa GenAlex 6.4.1 (PEAKALL & SMOUSE, 2006). A probabilidade de identidade (a probabilidade de dois indivíduos não-relacionados ter o mesmo genótipo multi-loco ao acaso) PID e PID(*sib*) para a combinação de todos os locos juntos foi estimada pelo mesmo software com o objetivo de verificar o quanto informativos os marcadores testados foram. Também foi calculada a riqueza alélica (R_a) e o coeficiente de endocruzamento (Fis) no programa FSTAT (GOUDET, 2001).

Com o objetivo de se comparar a diversidade genética dos ursos de cativeiro com as populações naturais, as frequências alélicas reportadas por Ruiz-García et al. (2005) foram obtidas e a partir disso, foi simulado a mesma quantidade de genótipos para cada uma das populações após 50,000 permutações mantendo as frequências alélicas para cada loco e para cada população através do software R (versão 3.1.1). Devido ao motivo de que a riqueza alélica depende do tamanho amostral, foi utilizado o método de rarefação para que fosse possível comparar os indivíduos de cativeiro com as populações de vida livre. A rarefação foi realizada utilizando o software HP-Rare (versão 1) (KALINOWSKY, 2005).

A fim de se testar a ocorrência de um possível efeito de gargalo recente foi utilizado o método analítico descrito por Cornuet e Luikart em 1996, e implementado no programa

computacional Bottleneck v. 1.2.0.2 (PIRY et al., 1999). Esse tipo de análise baseia-se no pressuposto de que alelos raros são perdidos rapidamente através de deriva genética durante um processo de redução populacional. Logo, é esperado que populações que passaram por um efeito de gargalo tenham valores mais baixos de heterozigosidade esperada quando comparados com os valores atuais de heterozigosidade observada (CORNUET e LUIKART, 1996). Para o propósito dessa análise, foi utilizado um modelo mutacional “two-phase” (TPM) (95% de mutações simples; 5% de mutações múltiplas; 1000 iterações), como recomendado por Piry et al. (1999). Os valores de probabilidade para o excesso de heterozigosidade foram calculados através do teste unilateral de Wilcoxon, o qual é recomendado quando se trabalha com um reduzido número de amostras e de locos (PIRY et al., 1999).

3.4 Análises de Parentesco

A definição do parentesco entre os indivíduos através da utilização de estimadores moleculares foi determinada para dezessete ursos de óculos. Os ursos Endy, Peposa, Caly e Jabu não foram inseridos nesse tipo de análise devido ao grande número de dados ausentes nos respectivos genótipos multilocos. E para tal, fez-se uso de duas abordagens. A primeira através do software ML-Relate (KALINOWSKI et al., 2006), o qual utiliza um estimador de máxima verossimilhança e discrimina os pares de indivíduos analisados em quatro categorias possíveis de relacionamento: não-relacionados (*unrelated-U*), meio-irmãos (*half sibs-HS*), irmãos completos (*full sibs-FS*) e pais-filhos (*parent-offspring-PO*). A segunda através do software Coancestry (WANG, 2011). Este software é interessante porque permite verificar qual é o melhor estimador de parentesco a ser utilizado para o conjunto de amostras estudado. Inicialmente, realiza uma simulação com os dados dos genótipos multilocos e com uma relação de parentesco previamente definida. O resultado obtido com a simulação é o valor real de r (coeficiente de parentesco) para o conjunto de amostras e o valor do mesmo coeficiente para sete estimadores de parentesco (dois de máxima verossimilhança e cinco de momento). O estimador que possuir valores mais próximos do valor real e o menor valor de variância deverá ser escolhido como melhor método a ser aplicado.

A definição das categorias de relacionamento dos valores de parentesco (r) obtidos pelo melhor estimador selecionado dentro do software Coancestry foi realizada de duas maneiras. A primeira ao comparar os valores de r com os valores teóricos, de acordo com Russello & Amato (2004). Onde valores de 0,0 a 0,25 referem-se a pares de indivíduos “não-relacionados-U”; valores entre 0,25 e 0,5 referem-se a indivíduos classificados como “meio-irmãos-HS” e acima de 0,5 como

“irmãos-completos-FS” ou “pai-filho-PO”. A segunda ao comparar os valores de r com novos valores que refletem melhor a realidade do grupo de amostras que está sendo estudado, de acordo com Vonholdt et al. (2008). Para a obtenção dos novos valores, utilizou-se uma estrutura familiar conhecida dentre os vinte e um ursos amostrados, e que continha relacionamentos de pais e filhos, irmãos completos, meio-irmãos e primos. O coeficiente de parentesco foi então calculado novamente no software Coancestry, usando o mesmo estimador que foi selecionado e utilizado anteriormente para o grupo de ursos. Porém, desta vez foi calculado somente para a estrutura familiar conhecida. Os novos valores de r foram então comparados com os valores de r obtidos para os dezessete ursos de óculos, e dessa forma, as categorias de relacionamento foram definidas.

O parentesco entre cada um dos pares de indivíduos analisados foi confirmado quando os relacionamentos foram os mesmos nos dois estimadores, de acordo com a metodologia proposta por Miño (2010).

No final, a categoria de relacionamento definida para cada um dos pares de indivíduos através dos estimadores moleculares foi comparada com as informações fornecidas por dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e com as informações cedidas pelas instituições acerca dos ursos de óculos de seus respectivos plantéis, com a finalidade de comparar os resultados obtidos através dos dados moleculares com os dados do registro genealógico e dos zoológicos.

3.5 Análise do Studbook e do Coeficiente de Endogamia de Heredograma (F)

Para a análise do pedigree dos ursos de óculos utilizou-se o programa Pedigree Viewer (versão 6.5.2.0) (KINGHORN, 1994), o qual utiliza as informações referentes aos números de identificação de cada indivíduo e o de seus pais presentes no *Studbook*, e através delas calcula o valor do coeficiente de endogamia de heredograma (F) para todos os indivíduos e para cada geração existente. Todos os animais registrados no *Studbook* (desde o primeiro exemplar introduzido no cativeiro até o último indivíduo registrado no período de elaboração do *Studbook*) são necessários para o cálculo. O programa também gera um gráfico contendo os relacionamentos de todos os espécimes, alocados por gerações. Para isso, as informações necessárias foram retiradas dos dois *Studbooks* mais recentemente publicados, o *Studbook* Internacional do Urso Andino referente aos anos de 2000 a 2002 (ROSENTHAL, 2003) e o Registro Latino Americano do Urso Andino de 2009 (BRACHO, 2009). Com esses dados em mãos, foi construído um heredograma contendo todos os ursos de óculos encontrados nos zoológicos brasileiros, vivos e falecidos; desde os primeiros

ursos fundadores até a última geração que encontrada atualmente. O heredograma foi elaborado através do software GenoPro 2011 (versão 2.5.4.1) (GENOPRO, 2003).

4. RESULTADOS

4.1 Análises de Diversidade Genética

As análises de diversidade genética foram realizadas sem os ursos Endy, Peposa, Caly e Jabu. Esses quatro indivíduos foram retirados devido à grande quantidade de dados ausentes, por motivos de dificuldades na amplificação e na genotipagem em mais de 80% dos locos no caso dos três primeiros ursos e de 34% dos locos para o urso Jabu. Não foi detectada a presença de alelos nulos, alelos *dropout* e *stutter bands* em nenhum dos locos testados. Constatou-se a ocorrência de polimorfismo em onze locos dentre os doze marcadores utilizados como pode ser visto na Tabela 02. O loco G10L não foi incluído nas análises por apresentar 100% de monomorfismo, entretanto, foi inserido na discussão devido à diferença encontrada no número de alelos para este marcador no presente estudo em comparação aos dados obtidos por Ruiz-García e colaboradores em 2005.

Tabela 02 - Diversidade genética de dezessete indivíduos de *Tremarctos ornatus* em cativeiro no Brasil.

Loco	N	Na	Ra	Ho	He	P _{EHW}	F _{is}	pLarger	pSmaller
G1D	17	2	2	0,706	0,484	0,1019	-0,433	0,9909	0,1318
G10B	17	4	3,9	0,529	0,505	0,5310	-0,018	0,7045	0,6227
G10C	17	2	2	0,588	0,415	0,1536	-0,391	1	0,1409
G10H	17	4	3,9	0,706	0,637	0,4129	-0,079	0,7455	0,4500
G10J	17	2	2	0,529	0,389	0,2399	-0,333	1	0,2136
G10M	16	3	2,8	0,500	0,525	0,4717	0,080	0,4545	0,7273
G10O	17	2	2	0,529	0,472	0,5589	-0,091	0,7818	0,6091
G10P	14	3	3	0,357	0,304	0,6440	-0,140	1	0,6591
G10X	16	2	2	0,938	0,498	0,0009*	-0,875*	1	0,0045
CXX20	16	3	2,8	0,250	0,225	0,8046	-0,081	1	0,8182
UarMU50	17	4	3,8	0,824	0,618	0,0660	-0,306	0,9591	0,0864
Média	16,45	2,81	2,74	0,587	0,461	-	-	-	-

N= tamanho amostral; Na= número de alelos; Ra= Riqueza alélica; Ho= Heterozigosidade Observada; He= Heterozigosidade Esperada; P_{EHW}= P-valor para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg após correção Sequencial de Bonferroni ($0,0045 < \alpha < 0,05$); Fis= Coeficiente de Endocruzamento; pLarger e pSmaller= P-valor para o coeficiente de endocruzamento. (*)= Significativo.

Foi encontrado um valor médio de PIC= 0,38 para os marcadores testados, o que indicou que os locos foram razoavelmente informativos (ver Tabela 03). O loco menos informativo foi o CXX20 (PIC= 0,21) e o mais informativo foi o G10H (PIC= 0,56). Segundo Botstein et al. (1980), valores de PIC abaixo de 0,25 são considerados como pouco informativos; entre 0,25 e 0,5 como razoável e acima de 0,5 são altamente informativos. Valores da probabilidade de identidade foram: P_{ID} = 0,00001 e P_{ID(sib)} = 0,004 (ver Tabela 03).

Tabela 03 - Graus de informação de onze locos de microssatélites para dezessete indivíduos de *Tremarctos ornatus* em cativeiro no Brasil.

Loco	P _{ID}	P _{ID(sib)}	PIC
G1D	0,383	0,603	0,36
G10B	0,107	0,342	0,47
G10C	0,045	0,222	0,32
G10H	0,009	0,107	0,56
G10J	0,004	0,071	0,31
G10M	0,001	0,040	0,41
G10O	0,0005	0,024	0,36
G10P	0,0002	0,018	0,27
G10X	0,0001	0,010	0,37
CXX20	0,00006	0,008	0,21
UarMU50	0,00001	0,004	0,54
Média	-	-	0,38

P_{ID} e P_{ID(sib)} (*sibling*)= Probabilidades de Identidade, e PIC= Conteúdo de Informação Polimórfica.

Apenas o loco G10X encontrou-se fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 02), mesmo depois da correção sequencial de Bonferroni ($0,0045 < \alpha < 0,05$), devido a um excesso de heterozigotos. Como este estudo foi conduzido com indivíduos de cativeiro e portanto não representam uma população, logo não é esperado que estejam dentro das premissas que o equilíbrio de Hardy-Weinberg requer para uma população natural. Este mesmo loco também apresentou valor significativo para o coeficiente de endocruzamento ($F_{is} = -0,875$ e valor de $p_{Smaller} = 0,0045$).

A média do número de alelos e da heterozigosidade observada e esperada por loco (somente para os locos polimórficos) foi de $N_a = 2,81$, $H_o = 0,587$ e $H_e = 0,461$, respectivamente. Os locos G10B, G10H e UarMU50 apresentaram o maior número alelos ($N_a = 4$); em seguida os locos G10M, G10P e CXX20 com três alelos; e para G1D, G10C, G10J, G10O e G10X foram identificados somente dois alelos.

A heterozigosidade esperada (H_e) estimada a partir das populações simuladas não foi similar ao valor obtido por Ruiz-García et al. (2005), portanto não foi possível comparar a heterozigosidade dos ursos de óculos de cativeiro com as populações de vida livre simuladas. Entretanto, devido ao fato de que a riqueza alélica depende do tamanho amostral, após a rarefação realizada com as populações de vida livre que foram simuladas (padronizado para o menor tamanho amostral) foi possível então comparar essas populações com os indivíduos dos zoológicos brasileiros (Tabela 04). A riqueza alélica (R_a) obtida para as populações naturais (Colômbia, Equador e Venezuela) foi maior do que a riqueza alélica dos ursos de cativeiro ($R_a = 3,89$ para Colômbia e $R_a = 2,41$ para o Brasil; $R_a = 4,31$ para Ecuador e $R_a = 2,41$ para o Brasil; $R_a = 2,67$ para Venezuela e $R_a = 2,59$ para o Brasil). Quando comparações foram feitas com a Bolívia e com o Peru, a riqueza alélica dos ursos de cativeiro foi maior em ambos os casos ($R_a = 1,50$ para Bolívia e

$R_a = 1,93$ para o Brasil; $R_a = 1,33$ para Peru e $R_a = 2,17$ para o Brasil). Ao colocar todas as populações de vida livre simuladas juntas como uma população panmítica, a riqueza alélica ($R_a = 9,43 \pm 3,01$) foi maior em comparação aos indivíduos do cativeiro ($R_a = 2,10$).

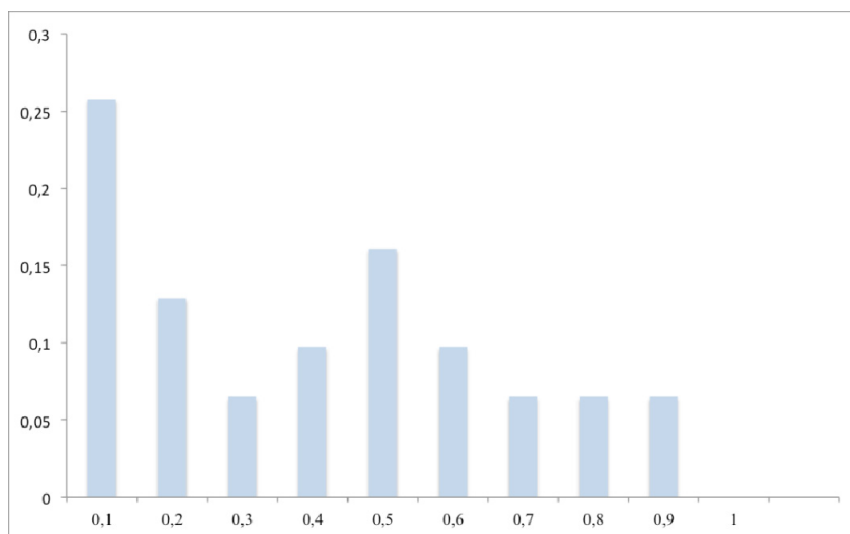
Tabela 04 – Comparação dos valores de riqueza alélica (R_a) entre os ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) cativos do Brasil e cinco populações naturais simuladas (Colômbia, Equador, Venezuela, Bolívia e Peru) da mesma espécie, obtidas através do método de rarefação realizado no software HP-Rare (KALINOWSKY, 2005).

Riqueza Alélica por população		Riqueza Alélica para todas as populações juntas	
População	R_a	População	R_a
Colômbia e Brasil	3,89 e 2,41	Colômbia	3,01
Equador e Brasil	4,31 e 2,41	Equador	3,12
Venezuela e Brasil	2,67 e 2,59	Venezuela	4,47
Bolívia e Brasil	1,50 e 1,93	Bolívia	7,55
Peru e Brasil	1,33 e 2,17	Peru	9,43
		Zoo Brasil	2,10

R_a = riqueza alélica.

A análise do efeito de gargalo fornece evidências de uma redução populacional recente baseado no modelo de teste Wilcoxon TPM. Os resultados mostraram uma heterozigosidade (H_e) maior do que o equilíbrio heterozigosidade esperado (H_{eq}) sob equilíbrio de mutação-deriva ($P < 0,05$). Embora o descritor qualitativo da distribuição da frequência alélica mostrou um formato “L” (Figura 05), esta forma foi bi-modal, portanto, não representa um formato “L” o qual é o esperado para populações que não sofreram um efeito de gargalo.

Figura 05 - Descrição da qualidade das frequências alélicas obtidas pelo Bottleneck.



4.2 Análises de Parentesco

A partir dos dezessete ursos de óculos analisados para o parentesco genético, foram gerados 136 pares de relacionamento ou díades. Com o estimador de máxima verossimilhança do programa ML-Relate (ver Tabela 07 – Apêndice B), 97 pares de indivíduos foram classificados como “não-relacionados” e 39 como “relacionados” (PO= 17 díades; FS= 11 díades e HS= 11 díades).

A simulação realizada pelo software Coancestry apontou que o melhor estimador a ser aplicado para o grupo de dezessete ursos de óculos foi o estimador de momento Lynch & Ritland. Dentre os sete estimadores, o Lynch & Ritland foi o que apresentou menor valor de variância (0,05821) e valor de r (-0,00064) mais próximo do valor real (ver Tabela 05).

Tabela 05 – Simulação realizada pelo software Coancestry (WANG, 2011) com dados dos genótipos multilocos e parentesco previamente definido referentes a 17 indivíduos de *Tremarctos ornatus* presentes em zoológicos do Brasil.

	Valor real	Estimadores Moleculares de Parentesco						
		TrioML	Wang	LynchLi	LynchRd	Ritland	QuellerGt	DyadML
Média	0,00070	0.16666	-0.00346	-0.00294	-0.00064	-0.00005	-0.00111	0.19587
Variância	0,00031	0.03886	0.11926	0.11914	0.05821	0.06474	0.08380	0.04813

Sete estimadores moleculares de parentesco presentes no software Coancestry (WANG, 2011): TrioML; Wang; LynchLi; LynchRd= Lynch & Ritland; Ritland; QuellerGt= Queller & Goodnight e DyadML.

Após a simulação, os dezessete ursos foram analisados utilizando o estimador selecionado Lynch & Ritland. As categorias de relacionamento para os valores de r calculados com esse estimador foram definidas através de duas abordagens. Na primeira, os valores de r foram comparados com os valores teóricos (RUSSELLO & AMATO, 2004). Nesse caso, 118 pares de indivíduos foram discriminados como “não-relacionados” e 18 como “relacionados (PO/FS= 05 díades e HS= 13 díades) (ver Tabela 07 – Apêndice B). Na segunda, os valores de r foram comparados com os valores obtidos com a análise de uma estrutura familiar conhecida (VONHOLDT et al., 2008). Nesse caso, 87 pares de indivíduos foram discriminados como “não-relacionados” e 49 como “relacionados” (ver Tabela 07 – Apêndice B).

A estrutura familiar aqui analisada foi a seguinte: Capitu e Zugão como pais (PO); Pancho e Luna como irmãos-completos da primeira cria (FS); Antônia, Joana e Pepito como irmãos-completos da segunda cria (FS); filhotes da primeira cria como meio-irmãos dos filhotes da segunda cria (HS); e os ursos Renan, Guaxu, Sara, Nei, Bob, Marley, Paula e Tábata como primos

de Zugão (PRIMO). Essa família foi escolhida com base no heredograma construído neste trabalho. Os quinze ursos da família foram analisados também com o estimador Lynch & Ritland no software Coancestry (ver Tabela 08 – Apêndice C). Os valores de r obtidos para todos os ursos de cada categoria de relacionamento citada acima foram agrupados, e deste agrupamento foram selecionados os menores e os maiores valores (0,06 e 0,73 para PO; 0,04 e 0,58 para FS; 0,002 e 0,78 para HS; 0,02 e 0,38 para PRIMO). Dessa forma, foi possível elaborar um novo intervalo com os valores de r calculados, onde: valores abaixo de 0,002 indicam indivíduos “não-relacionados”; e de 0,002 até 0,78 indicam indivíduos “relacionados”. Esses novos valores serviram então como parâmetro para determinar as categorias de relacionamento dos dezessete ursos analisados com o software Coancestry.

O diagnóstico final do parentesco genético (comparação entre os estimadores dos softwares ML-Relate e Coancestry) (ver Tabela 07 – Apêndice B) foi de: 97 pares de indivíduos definidos como “não-relacionados”, 18 como “relacionados” e 21 como “não definido” (quando os dois estimadores fornecem categorias de relacionamento diferentes) no caso do uso dos valores teóricos. O uso dos valores obtidos a partir da estrutura familiar conhecida possibilitou definir 87 pares de indivíduos como “não-relacionados”, 39 como “relacionados” e 10 como “não definido”.

As informações apresentadas nos *studbooks* (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) para os dezessete ursos amostrados indicaram a presença de 06 pares de indivíduos “não-relacionados”, 108 “sem definição” e 22 “relacionados” (ver Tabela 09 – Apêndice D). Dentro dos pares de indivíduos “relacionados” foram encontradas as seguintes categorias de relacionamento: pai e filho, irmãos-completos, meio-irmãos, primos de primeiro e segundo grau, avô(ó)-neto(a) e tio(a)-sobrinho(a). Os dados fornecidos pelos zoológicos sobre os ursos de óculos de seus plantéis apontaram para 11 pares de indivíduos “não-relacionados” e 125 “relacionados”. As mesmas categorias de relacionamento detectadas nos *studbooks* também estavam aqui presentes, com exceção da categoria “tio(a)-sobrinho(a)” (ver Tabela 09 – Apêndice D).

4.3 Análise do Studbook e do Coeficiente de Endogamia de Heredograma (F)

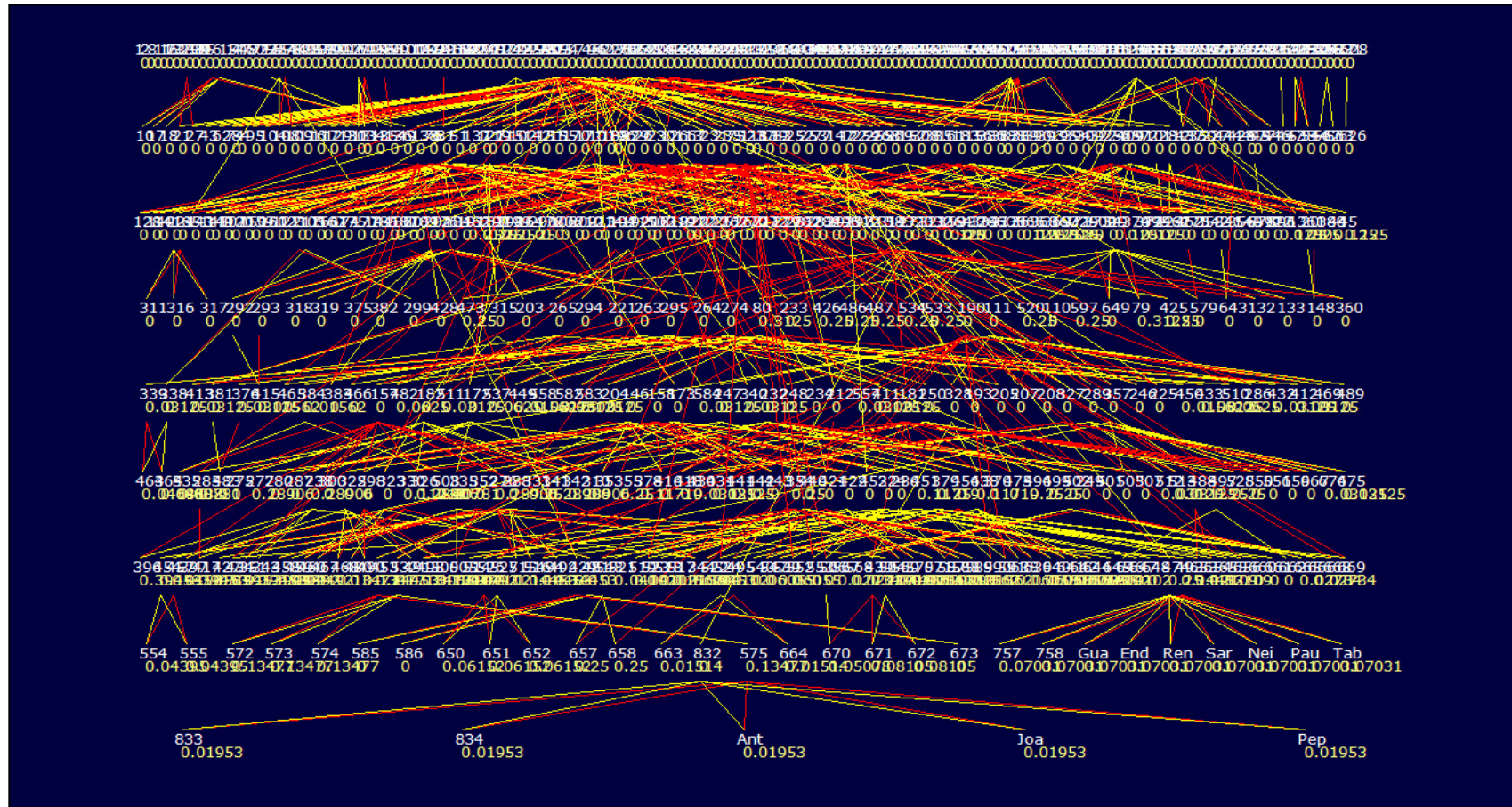
O software Pedigree Viewer utilizou as informações contidas em dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) para todos os ursos de óculos registrados até 2009 (data do *studbook* mais recente), o que totalizou o número de 677 animais. A partir disso, foi possível reconstruir todo o histórico de acasalamentos entre os indivíduos até chegar nos primeiros ursos responsáveis em fundar o plantel que hoje está distribuído em oito zoológicos no país.

Segundo a imagem gerada (Figura 06), os vinte e um ursos amostrados nesse estudo descenderam de um grupo pequeno de apenas doze fundadores, e desde a fundação até os dias de hoje existiram nove gerações de ursos de óculos pelo mundo. O primeiro espécime a chegar em um zoológico brasileiro foi a urso Mossme em 1970, e desde então, a espécie continuou a ser criada em cativeiro no país por quatro gerações.

Os valores do coeficiente de endogamia de heredograma (F) para as duas primeiras gerações foram iguais a zero. Assume-se sempre este valor para as primeiras gerações, pois é levado em consideração que os indivíduos fundadores não são aparentados. A partir da terceira geração em diante, foi observada uma flutuação no valor desse coeficiente. Aumentou nas gerações II (F=0,017) e III (F=0,078), e foi restabelecido na geração IV com F= 0. O mesmo ocorreu nas gerações V, VI e VII que apresentaram um aumento para F (F= 0,041; F= 0,044 e F= 0,190 respectivamente), e uma subsequente redução na geração VIII (F= 0,049). Esses resultados mostram que os níveis de endogamia de heredograma estão sendo mantidos, sem drásticos aumentos, ao longo das nove gerações de ursos de óculos responsáveis pela formação do plantel que existe hoje no Brasil.

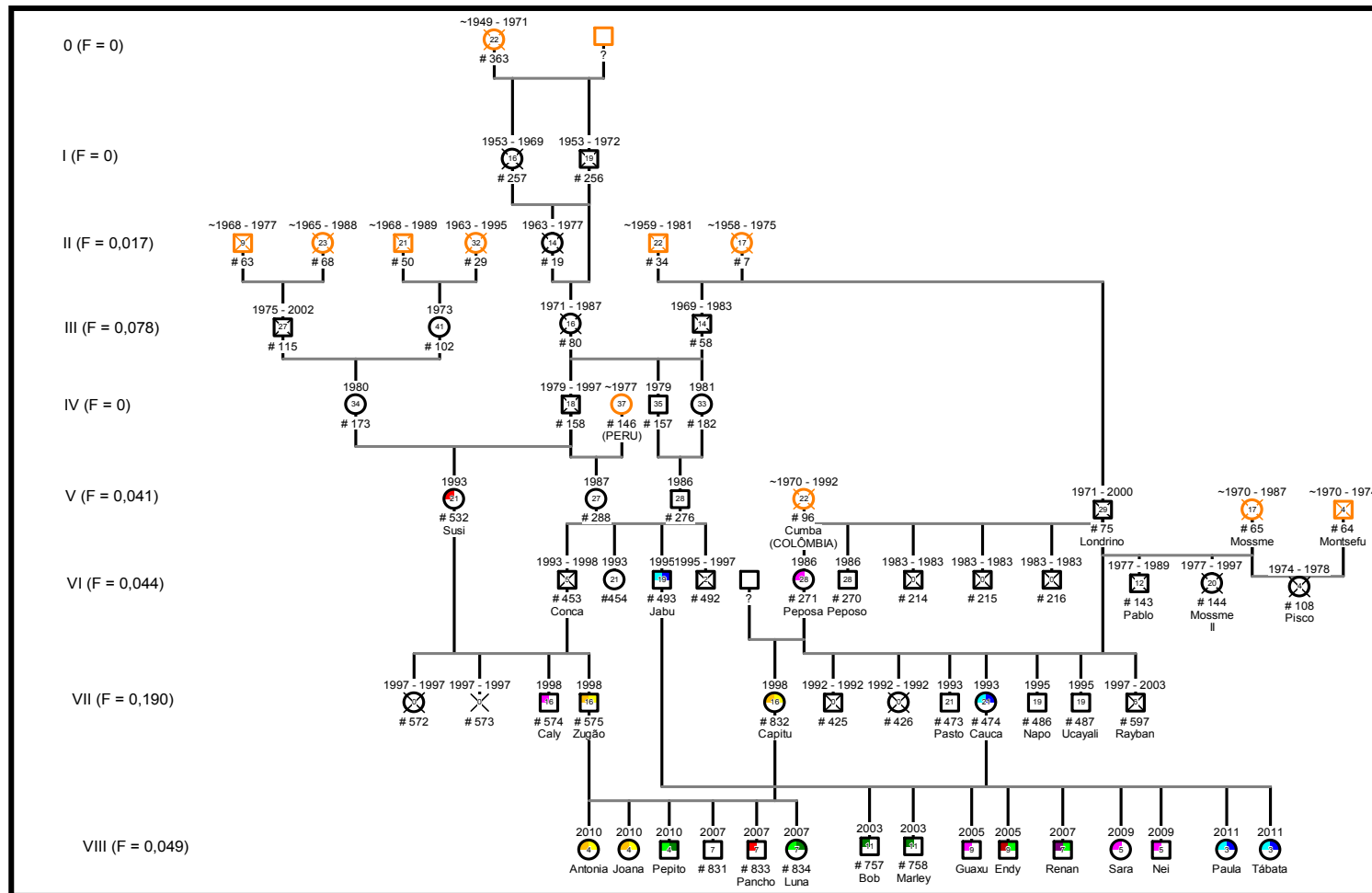
Por fim, foi construído um heredograma (Figura 07) com as informações sobre as relações de parentesco entre os ursos de óculos fornecidas pelo Pedigree Viewer. A partir do heredograma gerado, foi possível observar que dentro das quatro gerações de ursos criados em cativeiro no país, todos os indivíduos são aparentados. Os vinte e um ursos amostrados, por exemplo, todos possuem três ancestrais em comum: os ursos registrados no *studbook* com as numerações 158, 288 e 276.

Figura 06 – Relações de parentesco e respectivos coeficientes de endogamia de heredograma (F) para cada um dos ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados neste estudo, e para todos os ursos até chegar nos primeiros indivíduos fundadores; distribuídos em nove gerações. Imagem gerada pelo software Pedigree Viewer.



Os números em branco representam as identificações do Studbook de cada urso de óculos; os números em amarelo referem-se aos valores do coeficiente de endogamia de heredograma (F) para cada indivíduo, os traços em amarelo e em vermelho simbolizam as relações de parentesco entre os indivíduos, sendo que a cor amarela representa as mães e a vermelha, os pais.

Figura 07 – Genealogia de *Tremarctos ornatus* em cativeiro no Brasil. Relação de todos os ursos de óculos que contribuíram para a formação do plantel atual, constituído por 21 indivíduos alocados em oito zoológicos do país. Os valores do coeficiente de endogamia de heredograma (F) estão representados para cada uma das nove gerações de ursos, e estão demonstrados no lado esquerdo da figura.



Círculos e quadrados representam fêmeas e machos, respectivamente; símbolos com contorno em laranja representam ursos nascidos em vida livre; ?= indivíduo desconhecido; #= identificação no *Studbook*; Símbolos preenchidos em vermelho= zoo do Rio de Janeiro; Símbolos preenchidos em rosa= zoo do Rio Grande do Sul; Símbolos preenchidos em verde claro e escuro= zoo de Sorocaba; Símbolos preenchidos em amarelo= zoo de Salvador; Símbolos preenchidos em verde escuro= zoo de São Paulo; Símbolos preenchidos em azul claro e escuro= zoo de São Carlos; Símbolo preenchido em vermelho e verde= zoo de Curitiba e Símbolo preenchido em roxo e verde= zoo de Ribeirão Preto; Os anos de nascimento e falecimento são indicados acima de cada símbolo.

5. DISCUSSÃO

Considerando a informação molecular, os ursos de óculos dos zoológicos brasileiros passaram por um efeito fundador e sua consequente perda de diversidade genética foi confirmada através dos resultados obtidos por meio dos microssatélites, como seu reduzido número de alelos quando a rarefação foi empregada. Os doze microssatélites escolhidos para esse estudo, com exceção do loco monomórfico G10L, foram suficientemente informativos e a maioria exibiu níveis moderados de conteúdo de informação polimórfica (PIC= 0,38). O nível de significância ($P < 0,01$) da $P_{ID(sib)}$ conforme Waits et al. (2001) confirmou que o painel de microssatélites utilizados foi suficiente para realizar as análises de diversidade genética.

O número de alelos (N_a) encontrado nos ursos amostrados nos zoológicos brasileiros foi notoriamente menor do que a quantidade observada nos indivíduos de vida livre (RUIZ-GARCÍA, 2003; RUIZ-GARCÍA et al., 2005). No estudo de Ruiz-García em 2003, 82 ursos de óculos da Colômbia, Equador e Venezuela foram amostrados (alguns ursos em cativeiro no Equador também foram utilizados). Quatro locos de microssatélites, também testados em nosso estudo - G1D, G10B, G10C e G10X (o loco G1A foi excluído por ser monomórfico) foram usados nas análises de diversidade genética e foi confirmado que esses ursos tiveram um N_a muito maior do que os ursos dos zoológicos do Brasil. O loco com maior discrepância entre os dois grupos foi o G10X, que exibiu um $N_a = 2$ para os ursos cativos (zoológicos Brasileiros) e $N_a = 8$ para os indivíduos de vida livre. Posteriormente em um outro estudo, Ruiz-García e colaboradores (2005) ampliaram a área de amostragem e coletaram representantes de todo o território da espécie, que compreendeu a Colômbia, o Equador, a Venezuela, o Peru e a Bolívia ($N = 155$ indivíduos). O número de marcadores também foi aumentou, e foram incluídos os locos G10P, G10L, G10M e UarMU59, além dos quatro locos já testados no estudo anterior. E novamente, o número de alelos encontrados para os ursos de vida livre foi consideravelmente maior do que o número observado nos indivíduos em cativeiro no Brasil. Nesse caso, o loco que mereceu nossa atenção foi o G10L, para o qual foi observado um $N_a = 7$ para os ursos das populações naturais, enquanto que esse mesmo loco apresentou-se 100% monomórfico nos ursos cativos. A mesma diferença entre ursos de cativeiro e de populações naturais foi observado por Viteri e Waits (2009) ao analisar dezesseis ursos em condições de cativeiro no Equador através dos locos G10B, G10C, G10M,

G10P e G10X. O número de alelos encontrado pelos autores nos locos G10B, G10C e G10X foi menor quando comparado ao observado nos ursos de vida livre da Colômbia, do Equador e da Venezuela (RUIZ-GARCÍA, 2003). Além disso, o número de alelos para os ursos de cativeiro nos locos G10B, G10C, G10M, G10P e G10X também foi menor do que o que foi verificado para os ursos que vivem ao longo dos cinco países de sua ocorrência (RUIZ-GARCÍA et al., 2005).

Como foi mencionado anteriormente, a riqueza alélica depende do tamanho amostral. Entretanto, mesmo após ter sido feita a equalização do tamanho amostral (rarefação para o menor tamanho amostral), a diversidade genética (R_a) dos ursos de cativeiro continuou sendo menor do que as populações de vida livre simuladas (Colômbia, Equador e Venezuela). Em contraste, a R_a dos ursos cativos foi maior do que a R_a das populações simuladas para a Bolívia e para o Peru. Uma possível explicação para o ocorrido, segundo apontado por Ruiz-García et al. (2005), seria que as populações da região norte do território de distribuição da espécie possuem maior diversidade genética do que as populações da região sul (Bolívia e Peru). Essas diferenças podem ser o resultado do processo de colonização da espécie na América do Sul, no qual a expansão da espécie ocorreu da região norte para a região sul do território de distribuição, com perda de diversidade genética como consequência de diferentes eventos fundadores (RUIZ-GARCÍA et al., 2005).

A partir desses resultados é possível inferir que os ursos de óculos dos zoológicos brasileiros não carregam o mesmo número de alelos que a população ancestral carrega, o que possivelmente poderia ser uma consequência de um efeito fundador porque o plantel da espécie no Brasil teve início com doze ursos fundadores ($N= 12$). A fim de se tentar evitar que continue havendo perda de diversidade genética e suas subseqüentes consequências, seria interessante que esse grupo de ursos de óculos fossem manejados de tal forma a se manter sua variação genética, reduzir a endogamia e evitar as consequências deletérias vindas da adaptação genética ao cativeiro (FRANKHAM et al., 2002). Uma proposta previamente testada por Margan et al. (1998) seria fragmentar as populações das espécies ameaçadas no cativeiro entre as instituições, e ocasionalmente trocar indivíduos entre os zoológicos a fim de minimizar o endocruzamento (BALLOU, 1993; FRANKHAM et al., 2002).

Ao revisar os dados do *studbook* da espécie e analisar o heredograma construído com base nos dados inseridos nesse tipo de registro foi possível identificar dentre os ursos amostrados, a presença de duas famílias: uma com doze indivíduos (composta pela avó Peposa, os pais Jabu e

Princesa, e seus nove filhos: Renan, Bob, Marley, Endy, Guaxu, Sara, Nei, Paula e Tábata) e outra com nove ursos (composta por Susi que é mãe de Caly e Zugão, este último sendo casal de Capitu, e seus cinco filhos: Pancho, Luna, Joana, Antonia e Pepito).

Ao checar os dados moleculares fornecidos pelo genótipo multilocos foi possível observar que nos locos G10B, G10H e CXX20 alguns indivíduos de uma mesma família possuem alelos que foram encontrados somente nos ursos dessa mesma família. Além disso, os resultados mostraram que não há endocruzamento (valores negativos para o Fis) dentro de ambas as famílias, sugerindo pouco ou nenhum relacionamento entre os ursos utilizados para acasalar e produzir a maior parte da prole. Entretanto, os futuros casais devem ser formados com cautela, já que a maior parte dos indivíduos reprodutores em cativeiro hoje vieram de apenas duas famílias. Mesmo com um baixo número de locos que tiveram diferentes alelos entre as famílias, é possível começar uma proposta de reproduzir um macho de uma família com uma fêmea da outra família, como parte de um programa de reprodução. Este seria o primeiro passo para reproduzir ursos de diferentes famílias para um programa de reprodução envolvendo indivíduos de cativeiro, com a finalidade de reduzir as taxas de endocruzamento e manter a diversidade genética dentro do plantel. Isso permitiria que os ursos de óculos pertencentes aos zoológicos do Brasil fizessem parte de futuros programas de reintrodução para a conservação da espécie em vida livre.

O resultado obtido com as análises de parentesco através dos dois estimadores genéticos utilizados (máxima verossimilhança implementado no ML-Relate, e de momento implementado no software Coancestry, denominado Lynch & Ritland) mostrou que foi possível detectar relacionamentos entre os dezessete ursos analisados. Porém isso representou um número muito reduzido de apenas 18 pares de indivíduos relacionados quando comparado com a quantidade detectada através das informações que os zoológicos cederam de seus animais, e que representou o número de 125 pares de indivíduos relacionados (do total de 136 díades geradas). Uma possível explicação seria em relação ao uso dos valores teóricos para o coeficiente de parentesco (r), e que poderia ser o responsável por essa quantidade tão reduzida de relacionamentos que foi detectada pelos estimadores utilizados. Por esse motivo, o valor de r foi calculado novamente, porém utilizando uma estrutura familiar conhecida (VONHOLDT et al., 2008); e então, foi utilizado como base para definir as categorias de relacionamento. De fato houve uma melhora nos resultados. Com o uso dessa metodologia um número maior de relacionamentos foi reconhecido e 39 pares de ursos foram classificados como “relacionados”. Mas, apesar dessa melhora nos resultados, a discrepância entre o diagnóstico final do parentesco com o uso dos dois estimadores moleculares e os dados fornecidos pelos zoológicos ainda continua grande. Uma alternativa a esse problema seria a

utilização, segundo Souza (2011), do software IRel 1.0 (GONÇALVES DA SILVA; RUSSELO 2010). Através das frequências alélicas observadas na população e na simulação de díades (10000 interações), este software é capaz de determinar valores médios entre as três classes de relacionamentos (FS, HS e U) que sejam mais próximos aos observados nas nossas amostras populacionais.

Os resultados obtidos com as informações presentes nos dois *studbooks* (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) da espécie mostrou uma quantidade baixa de relacionamentos. Dentre as 136 díades geradas, somente 22 pares de indivíduos foram considerados como “relacionados”. Entretanto, é importante lembrar que existem ursos que ainda não foram registrados no *studbook*, como é o caso dos ursos Renan, Sara, Nei, Paula, Tábata, Joana, Antônia, Pepito, Guaxu e Endy. Esse fato explica o porque do baixo número de pares de indivíduos “relacionados” de acordo com os *studbooks*.

6. CONCLUSÕES

- ❖ Os ursos de óculos dos zoológicos brasileiros, de fato, estão sofrendo as consequências de um efeito fundador. O que foi verificado pela notória perda de alelos ao comparar os resultados obtidos no presente estudo com os dados evidenciados por outros autores com indivíduos de populações naturais;
- ❖ Os marcadores moleculares escolhidos no presente estudo foram capazes de responder as perguntas referentes às análises de diversidade genética que foram propostas no início do estudo;
- ❖ Para as análises de parentesco genético, os marcadores testados não responderam com sucesso às questões propostas no estudo. Alguns relacionamentos foram identificados, porém a maior parte não o foi. Uma explicação seria em relação à utilização de valores teóricos para a definição das categorias de relacionamento obtidas pelo software Coancestry. Seria interessante, que esses valores fossem ajustados de acordo com o tipo de amostragem (número pequeno de amostras, número pequeno de marcadores, população endogâmica), pois assim muitos relacionamentos inferidos não seriam perdidos devido ao valor de corte do coeficiente de parentesco (r).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir de nossos resultados foi possível sugerir possíveis opções de indivíduos para a formação de casais para reprodução. O interessante é que as instituições continuem a manejar os ursos de óculos de seus plantéis a fim de se tentar manter os níveis de diversidade genética e diminuir a endogamia entre eles. Dessa forma, em gerações futuras será possível começar a se pensar em programas de reintrodução com os ursos encontrados nos zoológicos brasileiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALLOU, J.D. Assessing the risks of infectious diseases in captive breeding and reintroduction programs. **Journal of Zoo Wildlife Medicine**, v. 24, p. 327–335, 1993.

BALLOU, J.D.; FOOSE, T.J. Demographic and genetic management of captive populations. In: KLEINMAN, D. G.; LUMPKIN, S.; ALLEN, M.; HARRIS, H. & THOMPSON, K. (Ed.). **Wild Mammals in Captivity**. University of Chicago Press, Chicago, 1995. p. 263–283.

BRACHO, S.A.E. **Registro Latinoamericano del Oso Andino (*Tremarctos ornatus*): 2009**. Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios (ALPZA), Meta, Colombia, 2009.

BOTSTEIN, D. et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n.3, p. 314, 1980.

CARSON, H.L.; TEMPLETON, A.R. Genetic Revolutions in Relation to Speciation Phenomena: The Founding of New Populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 97-131, 1984.

CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v. 144, p. 2001-2014, 1996.

COSSE, M.; SACHETTI JF, Del Moral.; MANNISE, N.; ACOSTA, M. Genetic evidence confirms presence of Andean bears in Argentina. **Ursus**, v. 25, n. 2, p. 163-171, 2014.

DEL MORAL, J.F.; BRACHO, S.A.E. Indicios indirectos de la presencia del oso andino (*Tremarctos ornatus* Cuvier, 1825) en el noroeste de Argentina. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales**, v. 11, p. 69–79, 2009.

EARNHARDT, J.M.; THOMPSON, S.D.; WILLIS, K. ISIS database: an evaluation of records essential for captive management. **Zoo Biology**, v. 14, p. 493–508, 2005.

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

FRANKHAM, R.; LOEBEL, D.A. (1992) Modeling problems in conservation genetics using captive *Drosophila* populations: rapid genetic adaptation to captivity. **Zoo Biology**, v. 11, p. 333–342, 1992.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2002.

FRANKHAM, R. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 325–333, 2008.

GARCÍA-RANGEL, S. Review: Andean bear *Tremarctos ornatus* natural history and conservation. **Mammal Review**, v. 42, p. 85–119, 2012.

GenoPro, Inc. (2003) GenoPro software. Technical Report. Disponível em: < <http://www.genopro.com/> >.

GOLDSTEIN, I.; PAISLEY, S.; WALLACE, R. B.; JORGENSEN, J.P.; CUESTA, F.; CASTELLANOS, A. Andean bear-livestock conflicts: a review. **Ursus**, v. 17, p. 8–15, 2006.

GOLDSTEIN, I.; GUERRERO, V.; MORENO, R. Are there Andean bears in Panama? **Ursus**, v. 19, p. 185–189, 2008a.

GOLDSTEIN, I.; VELEZ-LIENDO, X.; PAISLEY, S. & GARSHELIS, D.L. (IUCN SSC Bear Specialist Group) 2008. (2008b) *Tremarctos ornatus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. Disponível em: < <http://www.iucnredlist.org> >. Acesso em: Julho, 2014.

GONÇALVES DA SILVA, A.; RUSSELLO, M. A. iREL: software for implementing pairwise relatedness estimators and evaluating their performance. **Conservation Genetic Resources**. v. 3, p. 69–71, 2010.

GOUDET, J. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Disponível em: < <http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm> >. Acesso em: Julho, 2014.

GUTIÉRREZ-ESPELETA, G.A.; KALINOWSKI, S.T.; BOYCE, W.M.; HEDRICK, P.W. Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. **Conservation Genetics**, v. 1, p. 3–15, 2000.

GUTIÉRREZ-ESPELETA, G.A.; HEDRICK, P.W.; KALINOWSKI, S.T.; BOYCE, W.M. Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the result of low MHC variation? **Heredity**, v. 86, p. 439–450, 2001.

GRIFFITH, B.; SCOTT, J.M.; CARPENTER, J.W.; REED, C. Translocations as a species conservation tool: status and strategy. **Science**, v. 245, p. 477–480, 1989.

HEDRICK, P.W.; GUTIERREZ-ESPELETA, G.A.; LEE, R.N. Founder effect in an island population of bighorn sheep. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 851–857, 2001.

IUCN. IUCN Red List of Threatened Species. Versão 2014.3. Disponível em: < www.iucnredlist.org >. Acesso em: Julho, 2014.

IVY, J.A.; LACY, R.C. Using molecular methods to improve the genetic management of captive breeding programs for threatened species. In: DEWOODY, J.A.; BICKHAM, J.W.; MICHLER, C.H.; NICHOLS, K.M.; RHODES Jr, O.E.; WOESTE, K.E. (Ed.). **Molecular approaches in natural resource conservation and management**. Cambridge University Press, New York, 2010. p. 267-295.

KALINOWSKY, S.T. Program Note HP-Rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, p. 187–189, 2005.

KALINOWSKI, S. T.; WAGNER, A. P.; TAPER M. L. ML-RELATE: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 2, p. 576-579, 2006.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 5, p. 1099-1106, 2007.

KELLER, L.F.; ARCESE, P.; SMITH, J.N.M.; HOCHACHKA, W.M.; STEARNS, S.C. Selection against inbred song sparrows during a natural population bottleneck. **Nature**, v. 372, p. 356–357, 1994.

Kinghorn, B.P. Pedigree viewer — a graphical utility for browsing pedigreed data sets. In: SMITH, C.; GAVORA, J.S.; BENKEL, B. et al. (Ed.). **5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**. University of Guelph, Ontario, Canada, 1994. p. 85–86.

MARGAN, S.H.; NURTHEN, R.K.; MONTGOMERY, M.E. et al. Single large or several small? Population fragmentation in the captive management of endangered species. **Zoo Biology**, v. 17, p. 467– 480, 1998.

MARSDEN, C.D.; VERBERKMOES, H.; THOMAS, R.; WAYNE, R.K.; MABLE, B.K. Pedigrees, MHC and microsatellites: an integrated approach for genetic management of captive African wild dogs (*Lycaon pictus*). **Conservation Genetics**, v. 14, p. 171-183, 2013.

MAYR, E. Change of genetic environment and evolution. In: HUXLEY, J.; HARDY, A. C.; FORD, E. B. (Ed.). **Evolution as a Process**. Allen & Unwin, London, 1954. pp. 157–180.

MAYR, E. **Animal Species and Evolution**. Harvard University Press, Cambridge, 1963.

MIÑO, C. I. Genética de Populações e Relações de Parentesco em Ciconiiformes (Aves). (2010). (Tese) Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos (SP), 2010.

NEWMAN, D.; PILSON, D. Increased probability of extinction due to decrease defective population size: experimental populations of *Clarkiapulchella*. **Evolution**, v. 51, p. 354–362, 1997.

OSTRANDER, E.A.; SPRAGUE Jr, G.F.; RINE, J. Identification and Characterization of Dinucleotide Repeat (CA)_n Markers for Genetic Mapping in Dog. **Genomics**, v. 16, p. 207-213, 1993.

PAETKAU, D.; CALVERT, W.; STRILLING, I.; STROBECK, C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 347-354, 1995.

PAETKAU, D.; STROBECK, C. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. **Molecular Ecology**, v. 3, p. 489-495, 1994.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenALex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, p. 288-295, 2006.

PEYTON, B.; YERENA, E.; RUMIZ, D.; JORGENSEN, J.; OREJUELA, J. Status of wild Andean bears and policies for their management. **Ursus**, v. 10, p. 87-100, 1998.

PEYTON, B. Spectacled bear conservation action plan. In: SERVHEEN, C.; HERRERO, S.; PEYTON, B. (Ed.). **Bears: Status Survey and Conservation Action Plan**. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups, Gland, Switzerland, 1999. p. 157-198.

PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J-M. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in effective population size from allele frequency data. **Journal of Heredity**, v. 90, p. 502-503, 1999.

RAMIREZ, O.; ALTET, L.; ENSEN, C.; VILA, C.; SANCHEZ, A.; RUIZ, A. Genetic assessment of the Iberian wolf *Canis lupus signatus* captive breeding program. **Conservation Genetics**, v. 7, p. 861-878, 2006.

RICE, W.R. Analyzing tables of statistical tests. **Evolution**, v. 43, n. 1, p. 223-225, 1989.

RODRÍGUEZ, D.; CUESTA, F.; GOLDSTEIN, I.; BRACHO, A.E.; NARANJO, L.; HERNANDEZ, O. Estrategia Ecorregional para la Conservación del Oso Andino en los Andes del Norte. Comunicaciones WWF Colombia, Cali, Colombia, 2003.

ROSENTHAL, M.A. **International Studbook for the Andean Bear (*Tremarctos ornatus*) 2000-2002**. The Lincoln Park Zoological Society, Chicago, 2003.

ROSENTHAL, M.; BRACHO, S.A.E. Reproducción. Red Tremarctos, 2005. Disponível em: <<http://oso.shroom.net/taller/index.htm>>. Acesso em: Julho, 2014.

ROUSSET, F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 1, p. 103-106, 2008.

RUIZ-GARCÍA, M. Molecular population genetic analysis of the spectacled bear (*Tremarctos ornatus*) in the northern Andean area. **Hereditas**, v. 138, p. 81-93, 2003.

RUIZ-GARCÍA, M.; OROZCO-TERWENGEL, P.; CASTELLANOS, A.; ARIAS, L. Microsatellite analysis of the spectacled bear (*Tremarctos ornatus*) across its range distribution. **Genes & Genetic Systems**, v. 80, p. 57–69, 2005.

RUSSELLO, M. A.; AMATO, G. Ex situ population management in the absence of pedigree information. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 9, p. 2829-2840. 2004.

SACCHERI, I.J.; BRAKEFIELD, P.M.; NICHOLS, R.A. Severe inbreeding and rapid fitness rebound in the Butterfly *Bicyclus anynana* (Satyridae). **Evolution**, v. 50, p. 2000–2013, 1996.

SACCHERI, I.; KUUSSAARI, M.; KANKARE, M.; VIKMAN, P.; FORTELIUS, W.; HANSKI, I. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. **Nature**, v. 392, p. 491-494, 1998.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. Molecular cloning: a laboratory manual. **Quarterly Review of Biology**, v. 76, p. 348-349, 2001.

SOIBELZON, L.H.; RINCÓN, A.D. The fossil record of the short-faced bears (Ursidae, Tremarctinae) from Venezuela. Systematic, biogeographic, and paleoecological implications. **Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie**, v. 244, p. 287–298, 2007.

SOUZA, A.S.M. de Castro e. Caracterização genética populacional e parentesco em Tapicuru, *Plegadis chihi* (Vieillot, 1817) (Threskiornithidae), do Rio Grande do Sul (2011). (Dissertação) Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos (SP), 2011.

SCHUELKE, M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. **Nature Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 233-234, 2000.

TABERLET, P.; CAMARA, J.J.; GRIFFIN, S. Non-invasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 869-876, 1997.

TABERLET, P.; LUIKART, G. Non-invasive genetic sampling and individual identification. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 68, p. 41–55, 1999.

VANOOSTERHOUT, C. et al. Micro-checker: *software* for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 535-538, 2004.

VITERI, M.P.; WAITS, L.P. Identifying polymorphic microsatellite locos for Andean bear research. **Ursus**, v. 20, n. 2, p. 102-108, 2009.

VONHOLDT, B.M.; STAHLER, D.R.; SMITH, D.W.; EARL, D.A.; POLLINGER, J.P. and WAYNE, R.K. The genealogy and genetic viability of reintroduced Yellowstone grey wolves. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 252–274, 2008.

WAITS, L.P.; LUIKART, G.; TABERLET, P. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 249-256, 2001.

WANG, J. COMPUTER PROGRAM NOTE. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, p. 141–145, 2011.

WAZA. International Studbooks. Disponível em: <
<http://www.waza.org/en/site/conservation/international-studbooks>>. Acesso em: Setembro, 2014.

WILDT, D.E.; BUSH, M.; GOODROWE, K.L.; PACKER, C.; PUSEY, A.E.; BROWN, J.L.; JOSLIN, P.; O'BRIEN, S.J. Reproductive and genetic consequences of founding isolated lion populations. **Nature**, v. 329, p. 328-331, 1987.

WOLF, C.M.; GRIFFITH, B.; REED, C.; TEMPLE, S.A. Avian and mammalian translocations: update and reanalysis of 1987 survey data. **Conservation Biology**, v. 10, p. 1142–1154, 1996.

WOZENCRAFT, W.C. 1993. Order Carnivora. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (Eds.). **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, p. 279–349.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, v. 16, p. 97–159. 1931.

Yerena, E. Protected areas for the Andean bear in South America. **Ursus**, v. 10, p. 101–106, 1998.

Yu Li, Qing-wei Li, RYDER, O.A.; and ZHANGA, Ya-ping. Phylogeny of the bears (Ursidae) based on nuclear and mitochondrial genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, p. 480–494, 2004.

APÊNDICE A – Temperaturas de Anelamento

Tabela 06 - Temperaturas de anelamento (°C) específicas dos doze locos de microssatélites utilizados nas reações de PCR das amostras de pelo e da amostra de fezes do presente estudo.

Loco	Sequência 5'-3'	Temperaturas de Anelamento (°C)	
		Amostra de pelo	Amostra de fezes
G1D	F: GATCTGTGGGTTTATAGGTTACA R: CTACTCTTCCTACTCTTTAAGAG	53	53
G10B	F: GCCTTTTAATGTTCTGTTGAATTTG R: GACAAATCACAGAAACCTCCATCC	57,5	57,5
G10C	F: AAAGCAGAAGGCCTTGATTTCTG R: GGGGACATAAACACCGAGACAGC	57,5	51
G10H	F: CAACAAGAAGACCACTGTAA R: AGAGACCACCAAGTAGGATA	50	52
G10J	F: GATCAGATATTTTCAGCTTT R: AACCCCTCACACTCCACTTC	49	50
G10L	F: GTACTGATTTAATTCACATTTCCC R: GAAGATACAGAAACCTACCCATGC	53	53
G10M	F: TTCCCCTCATCGTAGGTTGTA R: GATCATGTGTTTCCAAATAAT	53	53
G10O	F: TGGTTATGAATCAGGATATTG R: CAACAGAACAATCCAAAGATG	51	50
G10P	F: AGGAGGAAGAAAGATGGAAAAC R: TCATGTGGGGAAATACTCTGAA	54	53
G10X	F: CCCTGGTAACCACAAATCTCT R: TCAGTTATCTGTGAAATCAAAA	50	50
CXX20	F: AGCAACCCCTCCCATTTACT R: TTGATCTGAATAGTCCTCTGCG	52	52
UarMU50	F: GGAGGCGTTCTTTTCAGTTGGT R: TGGAACAAAACCTTAACACAAATG	52	53

F= sequência *forward*; R= sequência *reverse*.

APÊNDICE B – Parentesco: Estimadores Moleculares

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Renan	Pepito	U	-0.2843	U	U	U	U
Renan	Luna	U	-0.1631	U	U	U	U
Renan	Susi	U	-0.2855	U	U	U	U
Renan	Pancho	U	-0.2348	U	U	U	U
Renan	Bob	HS	0.0380	U	-	relacionado	relacionado
Renan	Marley	U	-0.2876	U	U	U	U
Renan	Princesa	PO	0.3328	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Renan	Tábata	PO	0.3908	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Renan	Paula	U	0.0590	U	U	relacionado	-
Renan	Capitu	U	0.0020	U	U	relacionado	-
Renan	Zugão	U	-0.3465	U	U	U	U
Renan	Joana	U	-0.4191	U	U	U	U
Renan	Antonia	PO	0.1860	U	-	relacionado	relacionado
Renan	Sara	FS	0.1714	U	-	relacionado	relacionado
Renan	Nei	FS	0.7800	PO/FS	relacionado	relacionado	relacionado
Renan	Curitiba	U	-0.1747	U	U	U	U
Pepito	Luna	U	-0.0374	U	U	U	U
Pepito	Susi	U	-0.1250	U	U	U	U

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Pepito	Pancho	U	0.0323	U	U	relacionado	-
Pepito	Bob	U	-0.2257	U	U	U	U
Pepito	Marley	U	-0.1162	U	U	U	U
Pepito	Princesa	U	-0.0923	U	U	U	U
Pepito	Tábata	U	-0.2552	U	U	U	U
Pepito	Paula	U	-0.2437	U	U	U	U
Pepito	Capitu	U	0.0198	U	U	relacionado	-
Pepito	Zugão	HS	0.1255	U	-	relacionado	relacionado
Pepito	Joana	U	-0.0138	U	U	U	U
Pepito	Antonia	PO	0.2198	U	-	relacionado	relacionado
Pepito	Sara	HS	0.0740	U	-	relacionado	relacionado
Pepito	Nei	U	-0.3939	U	U	U	U
Pepito	Curitiba	U	-0.2965	U	U	U	U
Luna	Susi	U	-0.3974	U	U	U	U
Luna	Pancho	HS	0.1197	U	-	relacionado	relacionado
Luna	Bob	PO	0.2150	U	-	relacionado	relacionado
Luna	Marley	FS	0.0548	U	-	relacionado	relacionado
Luna	Princesa	U	-0.1612	U	U	U	U
Luna	Tábata	U	-0.2504	U	U	U	U
Luna	Paula	U	0.0081	U	U	relacionado	-

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Luna	Capitu	FS	0.2263	U	-	relacionado	relacionado
Luna	Zugão	U	-0.1325	U	U	U	U
Luna	Joana	U	-0.2412	U	U	U	U
Luna	Antonia	PO	0.1991	U	-	relacionado	relacionado
Luna	Sara	PO	0.4271	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Luna	Nei	U	-0.1296	U	U	U	U
Luna	Curitiba	U	-0.2544	U	U	U	U
Susi	Pancho	U	-0.0720	U	U	U	U
Susi	Bob	U	-0.2478	U	U	U	U
Susi	Marley	U	-0.1267	U	U	U	U
Susi	Princesa	U	-0.3743	U	U	U	U
Susi	Tábata	U	-0.2405	U	U	U	U
Susi	Paula	U	-0.2559	U	U	U	U
Susi	Capitu	U	-0.5568	U	U	U	U
Susi	Zugão	PO	0.3524	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Susi	Joana	U	0.1137	U	U	relacionado	-
Susi	Antonia	U	-0.1837	U	U	U	U
Susi	Sara	U	-0.4710	U	U	U	U
Susi	Nei	U	-0.1895	U	U	U	U
Susi	Curitiba	U	-0.0422	U	U	U	U

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Pancho	Bob	U	-0.2504	U	U	U	U
Pancho	Marley	U	-0.2144	U	U	U	U
Pancho	Princesa	U	-0.4437	U	U	U	U
Pancho	Tábata	U	0.0919	U	U	relacionado	-
Pancho	Paula	U	-0.0949	U	U	U	U
Pancho	Capitu	HS	0.2708	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Pancho	Zugão	PO	0.2637	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Pancho	Joana	HS	0.1217	U	-	relacionado	relacionado
Pancho	Antonia	U	-0.0977	U	U	U	U
Pancho	Sara	U	-0.0335	U	U	U	U
Pancho	Nei	U	-0.1079	U	U	U	U
Pancho	Curitiba	U	-0.3732	U	U	U	U
Bob	Marley	U	-0.0493	U	U	U	U
Bob	Princesa	PO	0.5014	PO/FS	relacionado	relacionado	relacionado
Bob	Tábata	U	-0.2033	U	U	U	U
Bob	Paula	FS	0.1987	U	-	relacionado	relacionado
Bob	Capitu	U	-0.1454	U	U	U	U
Bob	Zugão	U	-0.2830	U	U	U	U
Bob	Joana	U	-0.2724	U	U	U	U
Bob	Antonia	U	-0.4042	U	U	U	U

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Bob	Sara	U	-0.1985	U	U	U	U
Bob	Nei	PO	0.2591	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Bob	Curitiba	PO	0.3745	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Marley	Princesa	U	-0.1116	U	U	U	U
Marley	Tábata	U	-0.0151	U	U	U	U
Marley	Paula	FS	0.0936	U	-	relacionado	relacionado
Marley	Capitu	U	-0.1227	U	U	U	U
Marley	Zugão	U	-0.2557	U	U	U	U
Marley	Joana	U	-0.2181	U	U	U	U
Marley	Antonia	U	-0.2101	U	U	U	U
Marley	Sara	U	-0.0951	U	U	U	U
Marley	Nei	U	-0.2136	U	U	U	U
Marley	Curitiba	FS	0.7094	PO/FS	relacionado	relacionado	relacionado
Princesa	Tábata	HS	0.1175	U	-	relacionado	relacionado
Princesa	Paula	HS	0.0816	U	-	relacionado	relacionado
Princesa	Capitu	U	-0.0368	U	U	U	U
Princesa	Zugão	U	-0.3883	U	U	U	U
Princesa	Joana	U	-0.2338	U	U	U	U
Princesa	Antonia	U	-0.2367	U	U	U	U
Princesa	Sara	HS	0.1001	U	-	relacionado	relacionado

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Princesa	Nei	PO	0.1600	U	-	relacionado	relacionado
Princesa	Curitiba	PO	0.2553	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Tábata	Paula	FS	0.5814	PO/FS	relacionado	relacionado	relacionado
Tábata	Capitu	U	0.0357	U	U	relacionado	-
Tábata	Zugão	U	-0.4280	U	U	U	U
Tábata	Joana	U	-0.3262	U	U	U	U
Tábata	Antonia	U	-0.1740	U	U	U	U
Tábata	Sara	PO	0.3491	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Tábata	Nei	U	-0.0042	U	U	U	U
Tábata	Curitiba	U	-0.0715	U	U	U	U
Paula	Capitu	FS	0.3836	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Paula	Zugão	U	-0.6264	U	U	U	U
Paula	Joana	U	-0.3004	U	U	U	U
Paula	Antonia	U	-0.4490	U	U	U	U
Paula	Sara	U	0.0376	U	U	relacionado	-
Paula	Nei	U	-0.0052	U	U	U	U
Paula	Curitiba	PO	0.1973	U	-	relacionado	relacionado
Capitu	Zugão	U	-0.5290	U	U	U	U
Capitu	Joana	U	-0.1079	U	U	U	U
Capitu	Antonia	HS	0.1764	U	-	relacionado	relacionado

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

Tabela 07 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em sete zoológicos do Brasil; através do uso de dois estimadores de parentesco genético. Um estimador de máxima verossimilhança implementado no software ML – Relate e um estimador de momento (Lynch & Ritland), calculado no software Coancestry.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	ML - Relate	Lynch&Ritland	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (A)	Definição (A)	Categoria de relacionamento (Lynch&Ritland) (B)	Definição (B)
Capitu	Sara	FS	0.2574	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Capitu	Nei	U	-0.0981	U	U	U	U
Capitu	Curitiba	U	-0.1905	U	U	U	U
Zugão	Joana	FS	0.7050	PO/FS	relacionado	relacionado	relacionado
Zugão	Antonia	HS	0.1115	U	-	relacionado	relacionado
Zugão	Sara	U	-0.3493	U	U	U	U
Zugão	Nei	U	-0.1475	U	U	U	U
Zugão	Curitiba	U	-0.3573	U	U	U	U
Joana	Antonia	U	0.0173	U	U	relacionado	-
Joana	Sara	U	-0.2476	U	U	U	U
Joana	Nei	U	-0.1307	U	U	U	U
Joana	Curitiba	U	-0.3518	U	U	U	U
Antonia	Sara	PO	0.4331	HS	relacionado	relacionado	relacionado
Antonia	Nei	U	-0.0449	U	U	U	U
Antonia	Curitiba	U	-0.3004	U	U	U	U
Sara	Nei	U	-0.2761	U	U	U	U
Sara	Curitiba	U	-0.4091	U	U	U	U
Nei	Curitiba	U	-0.1010	U	U	U	U

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho, e (-)= parentesco não definido, devido à discordâncias entre os dois estimadores. As letras “A” e “B” referem-se aos resultados obtidos antes e depois da calibração, respectivamente.

APÊNDICE C – Parentesco: Coeficiente de Parentesco para uma estrutura familiar conhecida

Tabela 08 - Valores de r (coeficiente de parentesco) calculados para o estimador Lynch & Ritland através do software Coancestry (WANG, 2011) para uma estrutura familiar conhecida de quinze ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) de zoológicos brasileiros.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland
Renan	Pepito	-0.2983	Pepito	Antônia	0.1836	Pancho	Antônia	-0.1476
Renan	Luna	-0.2050	Pepito	Sara	0.0507	Pancho	Sara	-0.0942
Renan	Pancho	-0.2734	Pepito	Nei	-0.4170	Pancho	Nei	-0.1555
Renan	Bob	0.0494	Pepito	Guaxu	-0.2964	Pancho	Guaxu	-0.3864
Renan	Marley	-0.3004	Luna	Pancho	0.0454	Bob	Marley	-0.0564
Renan	Tábata	0.3756	Luna	Bob	0.1797	Bob	Tábata	-0.2055
Renan	Paula	0.0614	Luna	Marley	0.0214	Bob	Paula	0.1857
Renan	Capitu	-0.0115	Luna	Tábata	-0.3326	Bob	Capitu	-0.1816
Renan	Zugão	-0.3295	Luna	Paula	-0.0426	Bob	Zugão	-0.2527
Renan	Joana	-0.4005	Luna	Capitu	0.1611	Bob	Joana	-0.2491
Renan	Antônia	0.1830	Luna	Zugão	-0.1712	Bob	Antônia	-0.4039
Renan	Sara	0.1462	Luna	Joana	-0.2925	Bob	Sara	-0.2252
Renan	Nei	0.7864	Luna	Antônia	0.1633	Bob	Nei	0.2502
Renan	Guaxu	-0.1513	Luna	Sara	0.3802	Bob	Guaxu	0.4558
Pepito	Luna	-0.0798	Luna	Nei	-0.1813	Marley	Tábata	-0.0052
Pepito	Pancho	0.0490	Luna	Guaxu	-0.2912	Marley	Paula	0.1117
Pepito	Bob	-0.2233	Pancho	Bob	-0.2709	Marley	Capitu	-0.1770
Pepito	Marley	-0.1396	Pancho	Marley	-0.2611	Marley	Zugão	-0.2595
Pepito	Tábata	-0.2807	Pancho	Tábata	0.0470	Marley	Joana	-0.2291
Pepito	Paula	-0.2723	Pancho	Paula	-0.1784	Marley	Antônia	-0.2453
Pepito	Capitu	-0.0176	Pancho	Capitu	0.1637	Marley	Sara	-0.1314
Pepito	Zugão	0.1221	Pancho	Zugão	0.2618	Marley	Nei	-0.2292
Pepito	Joana	-0.0474	Pancho	Joana	0.0604	Marley	Guaxu	0.6705

Tabela 08 - Valores de r (coeficiente de parentesco) calculados para o estimador Lynch & Ritland através do software Coancestry (WANG, 2011) para uma estrutura familiar conhecida de quinze ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) de zoológicos brasileiros.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Lynch & Ritland
Tábata	Paula	0.5878	Paula	Sara	-0.0056	Zugão	Nei	-0.1516
Tábata	Capitu	-0.0082	Paula	Nei	0.0022	Zugão	Guaxu	-0.3349
Tábata	Zugão	-0.4250	Paula	Guaxu	0.2259	Joana	Antônia	-0.0326
Tábata	Joana	-0.3278	Capitu	Zugão	-0.6074	Joana	Sara	-0.2811
Tábata	Antônia	-0.2115	Capitu	Joana	-0.2074	Joana	Nei	-0.1291
Tábata	Sara	0.3097	Capitu	Antônia	0.1556	Joana	Guaxu	-0.3314
Tábata	Nei	-0.0089	Capitu	Sara	0.2175	Antônia	Sara	0.4127
Tábata	Guaxu	-0.0396	Capitu	Nei	-0.1308	Antônia	Nei	-0.0558
Paula	Capitu	0.3207	Capitu	Guaxu	-0.2088	Antônia	Guaxu	-0.3048
Paula	Zugão	-0.6193	Zugão	Joana	0.7363	Sara	Nei	-0.3220
Paula	Joana	-0.3445	Zugão	Antônia	0.0623	Sara	Guaxu	-0.4335
Paula	Antônia	-0.4960	Zugão	Sara	-0.3742	Nei	Guaxu	-0.0795

APÊNDICE D – Parentesco: *Studbook* e Zoológicos

Tabela 09 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em oito zoológicos do Brasil; através do uso de dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e informações cedidas pelos zoológicos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	<i>Studbook</i>	Zoológico	Indivíduo 1	Indivíduo 2	<i>Studbook</i>	Zoológico
Renan	Pepito	SD	PRIMO II	Pepito	Princesa	SD	AVÓ/NETO
Renan	Luna	SD	PRIMO II	Pepito	Tábata	SD	PRIMO II
Renan	Susi	SD	U	Pepito	Paula	SD	PRIMO II
Renan	Pancho	SD	PRIMO II	Pepito	Capitu	SD	PO
Renan	Bob	SD	HS	Pepito	Zugão	SD	PO
Renan	Marley	SD	HS	Pepito	Joana	SD	FS
Renan	Princesa	SD	PO	Pepito	Antonia	SD	FS
Renan	Tábata	SD	HS	Pepito	Sara	SD	PRIMO II
Renan	Paula	SD	HS	Pepito	Nei	SD	PRIMO II
Renan	Capitu	SD	HS	Pepito	Curitiba	SD	PRIMO II
Renan	Zugão	SD	PRIMO I	Luna	Susi	AVÓ/NETA	AVÓ/NETA
Renan	Joana	SD	PRIMO II	Luna	Pancho	FS	FS
Renan	Antonia	SD	PRIMO II	Luna	Bob	PRIMO II	PRIMO II
Renan	Sara	SD	HS	Luna	Marley	PRIMO II	PRIMO II
Renan	Nei	SD	HS	Luna	Princesa	TIO/SOBRINHO	AVÓ/NETA
Renan	Curitiba	SD	HS	Luna	Tábata	SD	PRIMO II
Pepito	Luna	SD	HS	Luna	Paula	SD	PRIMO II
Pepito	Susi	SD	AVÓ/NETO	Luna	Capitu	PO	PO
Pepito	Pancho	SD	HS	Luna	Zugão	PO	PO
Pepito	Bob	SD	PRIMO II	Luna	Joana	SD	HS
Pepito	Marley	SD	PRIMO II	Luna	Antonia	SD	HS

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho; SD= sem definição (quando um ou ambos os indivíduos não constam do *studbook* por ainda não terem sido registrados); PRIMO I= primo de primeiro grau e PRIMO II= primo de segundo grau.

Tabela 09 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em oito zoológicos do Brasil; através do uso de dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e informações cedidas pelos zoológicos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico
Luna	Sara	SD	PRIMO II	Pancho	Capitu	PO	PO
Luna	Nei	SD	PRIMO II	Pancho	Zugão	PO	PO
Luna	Curitiba	SD	PRIMO II	Pancho	Joana	SD	HS
Susi	Pancho	AVÓ/NETO	AVÓ/NETO	Pancho	Antonia	SD	HS
Susi	Bob	U	U	Pancho	Sara	SD	PRIMO II
Susi	Marley	U	U	Pancho	Nei	SD	PRIMO II
Susi	Princesa	U	U	Pancho	Curitiba	SD	PRIMO II
Susi	Tábata	SD	U	Bob	Marley	FS	FS
Susi	Paula	SD	U	Bob	Princesa	PO	PO
Susi	Capitu	U	U	Bob	Tábata	SD	HS
Susi	Zugão	PO	PO	Bob	Paula	SD	HS
Susi	Joana	SD	AVÓ/NETA	Bob	Capitu	TIO/SOBRINHO	HS
Susi	Antonia	SD	AVÓ/NETA	Bob	Zugão	PRIMO I	PRIMO I
Susi	Sara	SD	U	Bob	Joana	SD	PRIMO II
Susi	Nei	SD	U	Bob	Antonia	SD	PRIMO II
Susi	Curitiba	SD	U	Bob	Sara	SD	HS
Pancho	Bob	PRIMO II	PRIMO II	Bob	Nei	SD	HS
Pancho	Marley	PRIMO II	PRIMO II	Bob	Curitiba	SD	HS
Pancho	Princesa	TIO/SOBRINHO	AVÓ/NETO	Marley	Princesa	PO	PO
Pancho	Tábata	SD	PRIMO II	Marley	Tábata	SD	HS
Pancho	Paula	SD	PRIMO II	Marley	Paula	SD	HS

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho; SD= sem definição (quando um ou ambos os indivíduos não constam do *studbook* por ainda não terem sido registrados); PRIMO I= primo de primeiro grau e PRIMO II= primo de segundo grau.

Tabela 09 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em oito zoológicos do Brasil; através do uso de dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e informações cedidas pelos zoológicos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico	Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico
Marley	Capitu	TIO/SOBRINHO	HS	Tábata	Sara	SD	HS
Marley	Zugão	PRIMO I	PRIMO I	Tábata	Nei	SD	HS
Marley	Joana	SD	PRIMO II	Tábata	Curitiba	SD	HS
Marley	Antonia	SD	PRIMO II	Paula	Capitu	SD	HS
Marley	Sara	SD	HS	Paula	Zugão	SD	PRIMO I
Marley	Nei	SD	HS	Paula	Joana	SD	PRIMO II
Marley	Curitiba	SD	HS	Paula	Antonia	SD	PRIMO II
Princesa	Tábata	SD	PO	Paula	Sara	SD	HS
Princesa	Paula	SD	PO	Paula	Nei	SD	HS
Princesa	Capitu	HS	PO	Paula	Curitiba	SD	HS
Princesa	Zugão	U	U	Capitu	Zugão	U	PRIMO I
Princesa	Joana	SD	AVÓ/NETA	Capitu	Joana	SD	PO
Princesa	Antonia	SD	AVÓ/NETA	Capitu	Antonia	SD	PO
Princesa	Sara	SD	PO	Capitu	Sara	SD	HS
Princesa	Nei	SD	PO	Capitu	Nei	SD	HS
Princesa	Curitiba	SD	PO	Capitu	Curitiba	SD	HS
Tábata	Paula	SD	FS	Zugão	Joana	SD	PO
Tábata	Capitu	SD	HS	Zugão	Antonia	SD	PO
Tábata	Zugão	SD	PRIMO I	Zugão	Sara	SD	PRIMO I
Tábata	Joana	SD	PRIMO II	Zugão	Nei	SD	PRIMO I
Tábata	Antonia	SD	PRIMO II	Zugão	Curitiba	SD	PRIMO I

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho; SD= sem definição (quando um ou ambos os indivíduos não constam do *studbook* por ainda não terem sido registrados); PRIMO I= primo de primeiro grau e PRIMO II= primo de segundo grau.

Tabela 09 - Relações de parentesco entre pares de indivíduos referentes a dezessete ursos de óculos (*Tremarctos ornatus*) amostrados em oito zoológicos do Brasil; através do uso de dois *studbooks* da espécie (ROSENTHAL, 2003; BRACHO, 2009) e informações cedidas pelos zoológicos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico		Indivíduo 1	Indivíduo 2	Studbook	Zoológico
Joana	Antonia	SD	FS		Antonia	Nei	SD	PRIMO II
Joana	Sara	SD	PRIMO II		Antonia	Curitiba	SD	PRIMO II
Joana	Nei	SD	PRIMO II		Sara	Nei	SD	FS
Joana	Curitiba	SD	PRIMO II		Sara	Curitiba	SD	HS
Antonia	Sara	SD	PRIMO II		Nei	Curitiba	SD	HS

U= não-relacionados; HS= meio-irmãos; FS= irmãos-completos; PO= pai e filho; SD= sem definição (quando um ou ambos os indivíduos não constam do *studbook* por ainda não terem sido registrados); PRIMO I= primo de primeiro grau e PRIMO II= primo de segundo grau.