

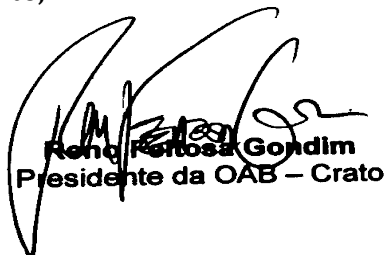
**Ao Exmo. Sr. Dr. Promotor de Justiça
Thiago Marques Vieira
Titular da 6ª Promotoria de Justiça do Crato/CE**

Assunto: Resposta ao Of. 113/2021 (Inquérito Civil nº 06.2016.00001725-3 - Zonas Especiais Ambientais). Cooperação Técnica-Científica da Universidade Regional do Cariri - URCA.

A Ordem dos Advogados do Brasil - OAB, pela Subseção da OAB/Crato, cumprimenta Vossa Excelência, ao tempo em que apresenta em anexo a este, o apoio científico e técnico do **Corpo Docente da Universidade Regional do Cariri - URCA**, no sentido de nos fornecer subsídios Técnico-Científicos que relatem o Impacto Ambiental que a Lei Municipal 3730/2021 trará para as **Zonas Especiais Ambientais** desta municipalidade do Crato, para a eventual impetração de Ação Cível em Juízo. Nesse sentido, os Professores da **URCA** colecionaram (em anexo), Artigos e Relatórios Acadêmicos, nos fartos trabalhos técnico-científicos realizados ao longo do tempo em face desse caso concreto (Lei Municipal 3730/2021) e de casos anteriores semelhantes. Ademais, ao final, ofertaram as urgentíssimas **Recomendações Técnicas-Científicas referentes ao pedido de Desafetação da Zona Especial Ambiental do Rio Batateiras - ZEA 04.**

Certos do acolhimento, aproveitamos o ensejo para reiterar a Vossa Excelência, os protestos de elevada estima e distinta consideração.

Atenciosamente,



Ronei Fátima Gondim
Presidente da OAB - Crato



MINISTÉRIO PÚBLICO DO CEARÁ
PROCURADORIA GERAL DE JUSTIÇA
6ª PROMOTORIA DE JUSTIÇA DE CRATO – CE

Ofício nº 0113/2021/6º PmJCRA

Crato-CE, 16 de fevereiro de 2021

À Sua Excelência,

Dr. **RENO FEITOSA GONDIM**

Av. Perimetral Dom Francisco, 380 - Pinto Madeira, Crato - CE, 63101-096

Assunto: *Inquérito Civil nº 06.2016.00001725-3; Zonas Especiais Ambientais em Crato-CE; estudos científicos; URCA; impactos ambientais*

Senhor (a) Presidente (a), *ou quem suas vezes fizer*,

Exercendo as atribuições do Ministério Público, nos termos dos arts. 127, 129, VII e VIII da Constituição Federal e art. 26, I, b e III da Lei 8.625/93 (LONMP) e Lei Complementar nº 72/2008, art. 114, XII (Lei Orgânica do Ministério Público do Ceará), e

CONSIDERANDO a recente aprovação do **Projeto de Lei (PL) Nº 1412001/2020**, pela Câmara Municipal de Crato-CE (CMC), que desafetou a Zona Especial Ambiental 6 (ZEA 6), tornando-a Zona Residencial de média densidade (ZR3);

CONSIDERANDO que a referida lei promove relativização preocupante da proteção do meio ambiente;

CONSIDERANDO que a aprovação da lei ocorreu de forma atípica, sem realização de estudos técnicos ambientais, ampla discussão pela sociedade e pelos órgãos ambientais; e

CONSIDERANDO a impossibilidade jurídica de ataque direto e abstrato ao conteúdo normativo da lei municipal pelas Promotorias de Justiça (controle abstrato de constitucionalidade), sendo que tal legitimidade apenas compete a apenas poucos órgãos/entidades, listados na Constituição do Estado do Ceará (art. 127, CE), entre eles o Conselho Estadual da Ordem dos Advogados do Brasil Art. 127, VII).

Isto posto, **SOLICITO** de V. Exa., no prazo de **10 (dez) dias úteis**, informações ou cópias dos **trabalhos científicos** desenvolvidos por docentes da Universidade Regional do Cariri (**URCA**), a que fez referência na audiência, a respeito do **impactos ambientais** advindos da ocupação inadequada de espaços, bem como sobre o uso da água.

Aproveito ainda o espaço para informar a V. Exa. quais medidas foram tomadas por parte desta Promotoria de Justiça em relação à Lei Municipal de promoveu a desafetação da ZEA6 (Batateira), entre elas:

1) Encaminhamento do Ofício nº 0740/2020/6ª PmJCRA à Presidência da Câmara Municipal de Crato-CE às vésperas da sessão que apreciou o projeto de lei **1412001/2020** de maneira que a Promotoria de Justiça manifestou-se contra qualquer ação legislativa ou administrativa que venha a desafetar as áreas de proteção ambiental deste município;

2) Realização de audiência administrativa no dia 13/01/2021 a pedido do Sr. Amadeu de



MINISTÉRIO PÚBLICO DO CEARÁ
PROCURADORIA GERAL DE JUSTIÇA
6ª PROMOTORIA DE JUSTIÇA DE CRATO – CE

Freitas, contanto com a participação da ONG BioDiverse;^{1 2}

3) Encaminhamento de Recomendação³ ao Prefeito Municipal e Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial - SEMA.DT para que não autorizem licenças de instalação ou a realização de quaisquer empreendimentos imobiliários nas áreas mencionadas na Lei n.º 3.370/ 2021;

4) Envio de Recomendação⁴ às prestadoras de serviços públicos (ENEL E SAAEC) para que se abstenham de efetivar ligações de serviços nas áreas descritas na lei já citada;

5) Requisição⁵ à Câmara Municipal de Crato-CE (CMC) de toda a documentação atinente ao processo legislativo que culminou com a promulgação da Lei n.º 3.370/ 2021, orientando que atualizem o sítio eletrônico da casa legislativa para permitir a transparência dos atos ali praticados e seu acompanhamento pelos órgãos de fiscalização e municípios em geral;

6) Encaminhamento⁶ à 3ª Promotoria de Justiça de Crato-CE das informações que dão conta da ausência de transparência do sítio eletrônico da Câmara Municipal de Crato para adotar as providências pertinentes;

7) Requisição⁷ à Delegacia Regional de Polícia de Crato-CE, para fins de instauração de Inquérito Policial/ TCO a fim de apurar a ocorrência de crime ambiental na referida área;

8) Requisição⁸ à Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial (SEMA.DT), para que informe se foi expedida autorização para supressão de vegetação na referida área;

9) Realização de audiência administrativa⁹ com o Vereador Gabriel Batista de Figueiredo, no dia 04/ 02/ 2021, por solicitação daquele e

10) Determinação¹⁰ aos cartórios imobiliários locais para que informem imediatamente à Promotoria de Justiça quaisquer alterações na inscrição imobiliária das áreas constantes na Lei Municipal n.º 3.730/ 2021.

Cordialmente,

THIAGO MARQUES VIEIRA

Titular da 6ª Promotoria de Justiça de Crato/CE

¹ O Senhor Amadeu de Freitas não pode participar do ato, todavia indicou outras pessoas para a audiência.

² http://bit.ly/Video_ZonasEspeciasAmbientais_13-01-2021_09h

³ Recomendação n.º 0001/2021/6º PmJCRA, de 20/01/2021.

⁴ Recomendação n.º 0002/2021/6º PmJCRA, de 20/01/2021.

⁵ Ofício n.º 0049/2021/6º PmJCRA, de 20/01/2021.

⁶ Ofício n.º 0059/2021/6º PmJCRA, de 20/01/2021.

⁷ Ofício n.º 0078/2021/6º PmJCRA, de 27/01/2021.

⁸ Ofício n.º 0077/2021/6º PmJCRA, de 27/01/2021.

⁹ <https://web.microsoftstream.com/video/abd7760e-d248-4dde-8bd9-5959b7fcbc58>

¹⁰ Ofício n.º 0047/2021/6º PmJCRA, de 19/01/2021 (5º Ofício - Téo filo) e Ofício n.º 0048/2021/6º PmJCRA, de 19/01/2021 (2º Ofício -Geraldo Lobo)

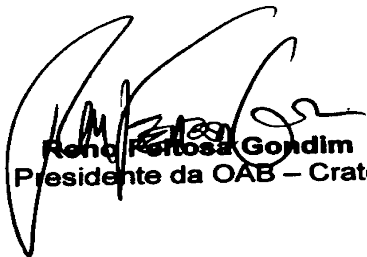
Ao Ilmo. Sr.
Prof. Francisco Edmar de Sousa Silva Pinheiro
Chefe de Gabinete da Reitoria da URCA

Assunto: **Cooperação Científica e Técnica**

A **Ordem dos Advogados do Brasil - OAB**, pela **Subseção da OAB/Crato**, cumprimenta Vossa Senhoria, ao tempo em que solicita o apoio científico e técnico desta Instituição de Ensino Superior, no sentido de nos fornecer subsídios que relatem o impacto ambiental que a lei municipal 3730/2021 (documentos em anexo) trará para as **Zonas Especiais Ambientais** desta municipalidade do Crato, para a eventual impetração de Ação Declaratória de Inconstitucionalidade da lei municipal. Nesse sentido, é do nosso conhecimento um farto trabalho científico produzido pelo **Prof. Dr. Waltecio Almeida** em face desse caso concreto.

Certos do atendimento, aproveitamos o ensejo para reiterar à Vossa Senhoria, os protestos de elevada estima e distinta consideração.

Atenciosamente,



Ronei Furtosa Gondim
Presidente da OAB - Crato

ANEXO 01

Página 2 de 2

D.O.M. – Ano 2021, Edição nº4609, Crato/CE, Sexta, 08 de Janeiro de 2021.

CÂMARA MUNICIPAL DO CRATO / CMC

LEI Nº 3.730/2021

CRATO-CE, 08 de janeiro de 2021.

EMENTA: Define zoneamento de área como de urbanização específica e adota outras providências.

Faço saber que a CÂMARA MUNICIPAL aprovou, o Prefeito Municipal, nos termos do § 3º do art. 43 da Lei Orgânica, vetou, e eu, FLORISVAL SOBREIRA CORIOLANO, Presidente Câmara Municipal, nos termos do § 7º do mesmo artigo, promulgo a seguinte Lei:

Art. 1º. Define a área que se segue, como área de urbanização para ser acrescentada a ZR3 do Município do Crato, conforme descrição abaixo:

“Inicia-se a descrição deste perímetro no P4, de coordenadas N 9.202.339,73 m e E 455.131,71m; deste segue com azimute de 185º00'36,39” por uma distância de 387,92m até o ponto P8, de coordenadas N 9.201.953,31m e E 455.097,83m; deste segue confrontando com a propriedade de U.V VILA ALTA com azimute de 306º44'02,26” por uma distância de 31,49m, até o ponto P9, de coordenadas N 9.201.972,15m e E 455.072,60m; deste segue confrontando com a propriedade de ZE6, com azimute de 282º05'16,53” por uma distância de 155,45m, até o ponto P10, de coordenadas N 9.202.004,70m e E 454.920,59m; deste segue com azimute de 355º46'43,84” por uma distância de 114,54m, até o ponto P11, de coordenadas N 9.202.118,93m e E 454.912,16m; deste segue confrontando com a propriedade de SÍTIO MONTE ALEGRE, com azimute de 349º43'13,34” por uma distância de 350,60m, até o ponto P6, de coordenadas N. 9.202.466,85m e E 454.849,06m; deste segue com azimute de 114º12'42,90” por uma distância de 309,91m, até o ponto P4, onde teve início essa descrição.”

A referida gleba está Geo-referenciada no Sistema Geodésico Brasileiro, com coordenadas Planas Retangulares Relativas Sistema U T M - Datum SIRGAS2000, referentes ao meridiano central 39º00’.

“Inicia-se a descrição deste perímetro no vértice 1, de coordenadas N 9.202.620,16m e E 454.766,19m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com ZE6, com os seguintes azimutes e distâncias: 116º42'46” e 567,39m até vértice 2, de coordenadas N 9.202.365,11m E 455.273,03m; 218º32'31” e 65,87 m até o vértice 3, de coordenadas N 9.202.313,59m e E 455.231,99m; 284º28'06” e 103,54 m até o vértice 4, de coordenadas N 9.202.339,75m e E 455.131,70m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com Sítio Passagem, com os seguintes azimutes e distâncias: 294º15'42” e 310,00 m até o vértice 5, de coordenadas N 9.202.466,85m e E 454.849,06m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com ZE6, com os seguintes azimutes e distâncias: 294º58'43” e 153,47 m até o vértice 6, de coordenadas N 9.202.531,66m e E 454.709,94m; 13º48'04” e 40,76 m até o vértice 7, de coordenadas N 9.202.571,24m e E 454.719,67m; 43º33'45” e 67,51 m até o vértice 1, ponto inicial da descrição deste perímetro.”

Todas as coordenadas aqui descritas estão georeferenciadas ao Sistema Geodésico Brasileiro e encontram-se representadas no Sistema U T M, referenciados ao Meridiano Central nº39º00’, fuso -24, tendo como datum o SIRGAS2000. Todos os azimutes e distâncias, área e perímetro foram calculados no plano de projeção U T M.

Art. 2º. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Câmara Municipal do Crato/CE, Gabinete do Presidente, em 08 de janeiro de 2021.

FLORISVAL SOBREIRA CORIOLANO
Presidente da Câmara Municipal do Crato

Este texto constava apenas em o anexo do mapa descritivo, porém não constava no corpo do PL.



PROJETO DE LEI Nº 1412001/2020

EMENTA: Define zonemaneto de área como de urbanização específica e adota outras providências.

Art. 1º. Define a área que se segue, como área de urbanização para ser acrescentada a ZR3 do Município do Crato, conforme descrição abaixo:

“Inicia-se a descrição deste perímetro no P4, de coordenadas N 9.202.339, 73 m e E 455.131,71m; deste segue com azimute de 185º00'36, 39” por uma distância de 387,92m até o ponto P8, de coordenadas N 9.201.953,31m e E 455.097,83m; deste segue confrotando com a propriedade de U.V VILA ALTA com azimute de 306º44'02,26” por uma distância de 31,49m, até o ponto P9, de coordenadas N 9.201.972,15m e E 455.072,60m; deste segue confrotando com a propriedade de ZE6, com azimute de 282º05'16,53” por uma distância de 155,45m, até o ponto P10, de coordenadas N 9.202.004,70m e E 454.920,59m; deste segue com azimute de 355º46'43,84” por uma distância de 114,54m, até o ponto P11, de coordenadas N 9.202.118,93m e E 454.912,16m; deste segue confrontando com a propriedade de SÍTIO MONTE ALEGRE, com azimute de 349º43'13,34” por uma distância de 350,60m, até o ponto P6, de coordenadas N. 9.202.466,85m e E 454.849, 06m; deste segue com azimute de 114º12'42,90” por uma distância de 309,91m, até o ponto P4, onde teve início essa descrição.”

(Segue mapa descritivo em anexo)

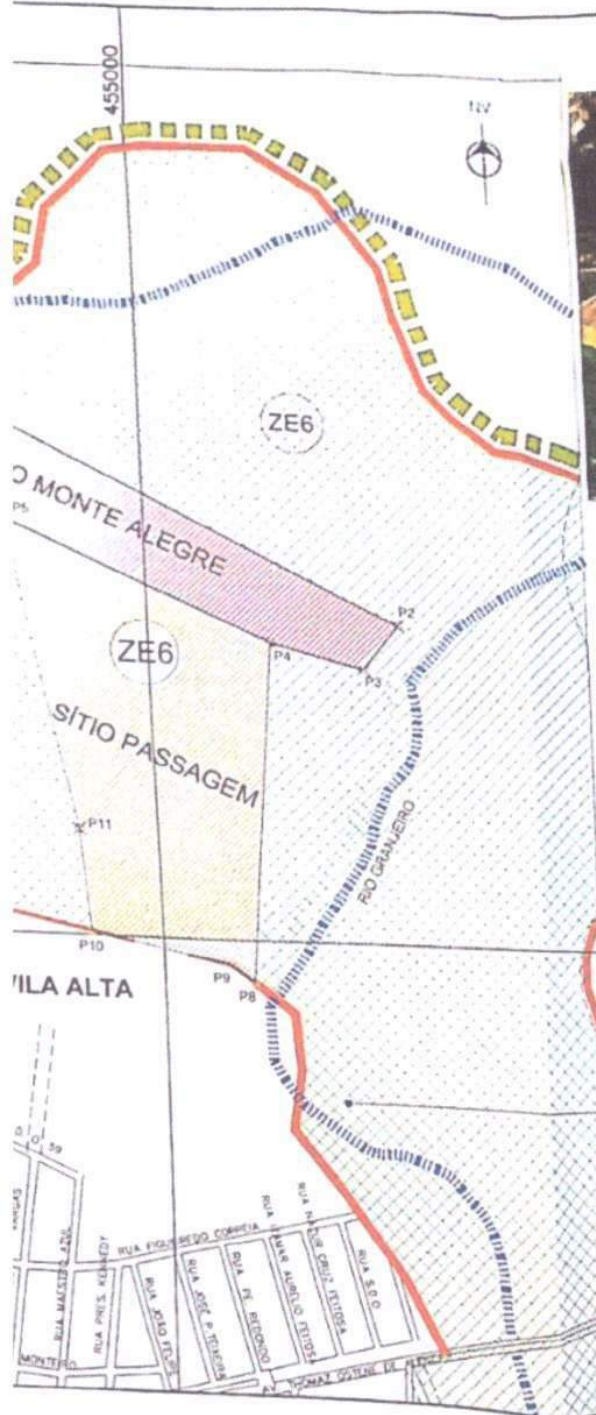
Art. 2º. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Sala das Sessões da Câmara Municipal do Crato, em 14 de dezembro de 2020.

PEDRO EUGÊNIO MAIA MOREIRA
Vereador

COPIADO

PLANTA DE SITUAÇÃO



Sítio Monte Alegre					
De	Para	Coord N(Y)	Coord E(X)	Azimuto	Distância
1	2	9 202 365,1070	455 273,0278	116°42'46"	567,39 m
2	3	9 202 313,5881	455 231,9863	218°32'31"	85,87 m
3	4	9 202 339,7537	455 131,7049	284°28'06"	103,84 m
4	5	9 202 466,8500	454 849,0600	294°15'42"	310,00 m
5	6	9 202 531,6976	454 709,0438	294°58'43"	153,47 m
6	7	9 202 571,2407	454 719,6672	13°48'04"	40,76 m
7	1	9 202 620,1668	454 768,1922	43°33'45"	67,51 m

Área: 52.685,740 m²
5,2686 ha

LEGENDA

- LIMITE ATUAL ENTRE A ZE6 E A ZR6
- LIMITE PROPOSTO ENTRE A ZE6 E A ZR6
- PERÍMETRO URBANO

OBS: A PLANTA DO PODU 2000 SERVIU COMO BASE PARA EXECUÇÃO DESTA

AD
AGRIMENSURA
TOPOGRAFIA
GEORREFERENCIAMENTO
E PROJETOS
TEL (88) 99271 6447
E-mail - adagrimensura@ig.com.br

SERVIÇO	Levantamento Planimétrico Georreferenciado	ÁREA TOTAL	5,2686 ha
LOCAL	Sítio Monte Alegre Área a ser acrescentada a ZR3 Município do Crato	DATA	Out / 2020
RESPONSÁVEL TÉCNICO		ESCALA	1 : 5.000
ACORDADO		PRONCHES	01/01
PLANTA DE SITUAÇÃO			

COPIADO

Imóvel : Sítio Monte Alegre
Proprietário : João Gomes de Borba Maranhão
Município : Crato U.F:CE - BR
Comarca : Crato
Área (ha) : 5,2686

Inicia-se a descrição deste perímetro no vértice 1, de coordenadas N 9.202.620,16m e E 454.766,19m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com ZE6, com os seguintes azimutes e distâncias: 116°42'46" e 567,39 m até o vértice 2, de coordenadas N 9.202.365,11m e E 455.273,03m; 218°32'31" e 65,87 m até o vértice 3, de coordenadas N 9.202.313,59m e E 455.231,99m; 284°28'06" e 103,54 m até o vértice 4, de coordenadas N 9.202.339,75m e E 455.131,70m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com Sítio Passagem, com os seguintes azimutes e distâncias: 294°15'42" e 310,00 m até o vértice 5, de coordenadas N 9.202.466,85m e E 454.849,06m; alinhamento cerca; deste, segue confrontando com ZE6, com os seguintes azimutes e distâncias: 294°58'43" e 153,47 m até o vértice 6, de coordenadas N 9.202.531,66m e E 454.709,94m; 13°48'04" e 40,76 m até o vértice 7, de coordenadas N 9.202.571,24m e E 454.719,67m; 43°33'45" e 67,51 m até o vértice 1, ponto inicial da descrição deste perímetro.

Todas as coordenadas aqui descritas estão georreferenciadas ao Sistema Geodésico Brasileiro e encontram-se representadas no Sistema U T M, referenciadas ao Meridiano Central nº 39°00', fuso -24, tendo como datum o SIRGAS2000. Todos os azimutes e distâncias, área e perímetro foram calculados no plano de projeção U T M.

OBS: A planta anexa faz parte deste laudo Técnico.

ART N°CE20200693107

Crato - CE, 09 de Outubro de 2020



FCO. IRAN ALVES DELFINO
TECNÓLOGO EM CONST. CIVIL
TÉCNICO EM AGRIMENSURA
CREA-CE- RNP - 060192845-8
CÓDIGO INCRA - FC6



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arraes
GABINETE DO PREFEITO



MENSAGEM Nº 2212001/2020.
CRATO-CE, 22 DE DEZEMBRO DE 2020.

Excelentíssimo Senhor Presidente da Câmara Municipal do Crato-CE.

Comunico a Vossa Excelência que, nos termos do § 1º, do Art. 43, da Lei Orgânica Municipal - LOM, decidi **VETAR, na íntegra, o Projeto de Lei nº 1412001/2020 - CMC**, que "Define zoneamento de área como de urbanização específica, e adota outras providências", aprovado pela Câmara Municipal do Crato, devido às razões a seguir delineadas.

RAZÕES DO VETO

O Projeto de Lei sob comento é de iniciativa do Poder Legislativo Municipal e, muito embora se verifique a nobre intenção dos Vereadores, em especial a do Edil autor do Projeto, faz-se necessário observar que a espécie legislativa em tela não merece prosperar.

Referido projeto "Define zoneamento de área como de urbanização específica, e adota outras providências".

Assim dispõe o referido Projeto de Lei analisado:

Art. 1º. Define a área que se segue, como área de urbanização para ser acrescentada a ZR3 do Município do Crato, conforme descrição abaixo:

"Inicia-se a descrição deste perímetro no P4, de coordenadas N 9.202.339, 73 m e E 455.131,71m; deste segue com azimute de 185º00'36, 39" por uma distância de 387,92m até o ponto P8, de coordenadas N 9.201.953,31m e E 455.097,83m; deste segue confrontando com a propriedade de U.V VILA ALTA com azimute de 306º44'02,26" por uma distância de 31,49m, até o ponto P9, de coordenadas N 9.201.972,15m e E 455.072,60m; deste segue confrontando com a propriedade de ZE6, com azimute de 282º05'16,53" por uma distância de 155,45m, até o ponto P10, de coordenadas N 9.202.004,70m e E 454.920,59m; deste segue com azimute de 355º46'43,84" por uma distância de 114,54m, até o ponto P11, de coordenadas N 9.202.118,93m e E 454.912,16m; deste segue confrontando com a propriedade de SÍTIO MONTE ALEGRE, com azimute de 349º43'13,34" por uma distância de 350,60m, até o ponto P6, de coordenadas N. 9.202.466,85m e E 454.849, 06m; deste segue com azimute de 114º12'42,90" por uma distância de 309,91m, até o ponto P4, onde teve início essa descrição". (Segue mapa descritivo em anexo).

Art. 2º. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação".



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arraes
GABINETE DO PREFEITO



Preliminarmente, cabe-nos ressaltar que o objeto do Projeto de Lei sob comento, também já fora objeto de procedimento administrativo junto a Secretaria Municipal do Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial, mediante o protocolo de nº 201712120950, que pretendia igualmente a desafetação de Zona Especial Ambiental de áreas de terras no Sítio Monte Alegre, às margens do Rio Bateiras; e que teve como desfecho, o seu indeferimento.

O caso sob comento merecer ter um melhor esclarecimento para a mais correta decisão. Com efeito, a Constituição Federal, em seu Art. 225, § 1º, III, determina que a supressão e a alteração dos espaços territoriais especialmente protegidos devem ser feitos mediante lei. Entretanto, deve-se interpretar a norma em seu sentido finalístico, ou seja, como um dispositivo que tem por objetivo estabelecer mecanismos flexíveis para a proteção do meio ambiente e instrumentos rígidos para as hipóteses que possam vir a causar diminuição da área ambiental protegida. O referido preceito constitucional tem como finalidade impedir que uma área considerada essencial para a existência de um ambiente ecologicamente equilibrado seja reduzida ou extinta sem a autorização do diploma legal. O texto constitucional foi assim vazado:

Art. 225. Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para às presentes e futuras gerações.

§ 1º. Para assegurar a efetividade desse direito, incumbe ao Poder Público:

III - definir, em todas as unidades da Federação, espaços territoriais e seus componentes a serem especialmente protegidos, sendo a alteração e a supressão permitidas somente através de lei, vedada qualquer utilização que comprometa a integridade dos atributos que justifiquem sua proteção.

Nesse sentido, ensina Luís Roberto Barroso:

“As normas devem ser aplicadas atendendo, fundamentalmente, ao seu espírito e à sua finalidade. Chama-se teleológico o método interpretativo que procura revelar o fim da norma, o valor ou bem jurídico visado pelo ordenamento com a edição de dado preceito”.
BARROSO, Luís Roberto. Interpretação e Aplicação da Constituição. São Paulo: Saraiva, 2004, p.138.

Também é importante acrescentar a visão de Carmem Lúcia Antunes Rocha a respeito da interpretação finalística:

“A interpretação finalística é que possibilita que a constituição viva com o seu tempo e para o povo. A interpretação tem, pois, especial relevo no Direito Constitucional por repousar e dinamizar-se a ideia de Justiça pensada pela sociedade exatamente no sistema fundamental constituído em Direito, a partir do qual todo o ordenamento se estrutura e se interpreta e aplica”.



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arraes
GABINETE DO PREFEITO



ROCHA, Carmen Lúcia Antunes. Constituição e
Constitucionalidade. Minas Gerais, 1991, p. 86.

É importante lembrar que a nova ordem constitucional determina que o meio ambiente ecologicamente equilibrado é essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo às presentes e futuras gerações. Desse modo, quando uma norma de proteção ambiental possuir diversos sentidos, deve-se optar por aquele que empreste maior eficácia à preservação ambiental. No presente caso, a máxima efetividade ocorre quando a norma é interpretada no sentido de facilitar a preservação ambiental, a fim de que atos do Poder Público ou de terceiros não acarretem maior degradação ao meio ambiente local.

Nos dias atuais, o direito de propriedade não mais possui cunho absoluto. É da essência do nosso sistema que o direito de propriedade só seja reconhecido pela ordem jurídica do Estado, se for cumprida a função social da propriedade, paralelamente com o proveito pessoal do detentor do domínio. Assim, a propriedade só existe enquanto direito, se respeitada sua função social. Portanto, o cumprimento da função social é condição *sine qua non* para o reconhecimento do direito de propriedade.

Com a crescente produção legislativa que visa a proteger o meio ambiente do desequilíbrio provocado pelas atividades humanas, há a necessidade de muitos direitos individuais serem revistos e de se conformarem às exigências atuais, a fim de que a proteção do meio ambiente seja garantida para toda a coletividade. A propriedade é um dos institutos jurídicos que mais claramente é afetado pela legislação ambiental, experimentando seu conceito clássico alterações para que o exercício deste direito seja compatível com a garantia de proteção ao meio ambiente.

Nesse sentido, é oportuno lembrar a lição de Eros Grau:

“a admissão do princípio da função social (e ambiental) da propriedade tem como consequência básica fazer com que a propriedade seja efetivamente exercida para beneficiar a coletividade e o meio ambiente (aspecto positivo), não bastando apenas que não seja exercida em prejuízo de terceiros ou da qualidade ambiental (aspecto negativo). Por outras palavras, a função social e ambiental não constitui um simples limite ao exercício do direito de propriedade, como aquela restrição tradicional, por meio da qual se permite ao proprietário, no exercício do seu direito, fazer tudo o que não prejudique a coletividade e o meio ambiente. Diversamente, a função social e ambiental vai mais longe e autoriza até que se imponha ao proprietário comportamentos positivos, no exercício do seu direito, para que a sua propriedade concretamente se adeque à preservação do meio ambiente”. GRAU, Eros. Princípios fundamentais de direito Ambiental. Revista de Direito Ambiental, São Paulo: Ed. Revista dos Tribunais, n. 02., 1997.



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arraes
GABINETE DO PREFEITO



O Art. 5º, XXIII, da Carta Magna, diz que a propriedade deverá cumprir sua função social, bem como o Art. 186, II, determina que a função social da propriedade é cumprida quando ocorre a preservação do meio ambiente de sua área.

A Lei Municipal nº 2.590, de 22 de dezembro de 2009, que dispõe sobre o Parcelamento, Uso e Ocupação do Solo da Cidade do Crato e dá outras providências, assim versa sobre o tema:

Art. 103. Não será permitido o parcelamento do solo para fins urbanos nas seguintes hipóteses:

I - em terrenos alagadiços e sujeitos a inundações, antes de tomadas as providências para assegurar o escoamento das águas ou a proteção contra enchentes ou inundações;

(...)

IV - em terrenos onde as condições geológicas e/ ou hidrológicas não aconselhem a edificação;

V - em áreas de preservação permanente estabelecidas na Lei Federal nº 4.771 de 1965 (Código Florestal), bem como nas demais áreas definidas por ato dos Poderes Executivo ou Legislativo, ou naquelas onde a poluição ou degradação ambiental impeçam condições sanitárias suportáveis, até sua correção.

Adentrando na análise minuciosa do Projeto Legislativo em destrame, não se vislumbram dos autos os requisitos essenciais para o seu acatamento, quais sejam **Estudo Prévio de Impacto Ambiental e realização de Audiências Públicas** para discursão da referida pretensão legislativa com a população do Município do Crato.

A matéria em análise se inclui, indubitavelmente, no campo do direito ambiental, de modo que é inconstitucional Lei Municipal que trata do tema, que não tenha sido prescindida de análise de impacto ambiental e das necessárias audiências públicas para discursão prévia da alteração pretendida no zoneamento urbano do município. Ademais, sequer foram efetivadas consultas prévias ao Conselho Municipal de Defesa do Meio Ambiente (COMDEMA) e aos competentes órgãos públicos federais e/ou estaduais.

Sobre o Tema colacionamos algumas Jurisprudências dos Tribunais Pátrios:

VOTO Nº 17968. ADIN. Nº 163.559-0/0-00. COMARCA: SÃO PAULO. RECTE: PROCURADOR GERAL DE JUSTIÇA. RECD. : PREFEITO DO MUNICÍPIO DE CAMPINAS E OUTRO. AÇÃO DIRETA DE INCONSTITUCIONALIDADE - Leis nºs. 11.764/2003, 11.878/2004 e 12.162/2004, do município de Campinas - Legislações, de iniciativa parlamentar, que alteram regras de zoneamento em determinadas áreas da cidade - Impossibilidade - Planejamento urbano - Uso e ocupação do solo - Inobservância de disposições constitucionais - Ausente participação da comunidade, bem como prévio estudo técnico que indicasse os benefícios e eventuais prejuízos com



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arnaes
GABINETE DO PREFEITO



a aplicação da medida - Necessidade manifesta em matéria de uso do espaço urbano, independentemente de compatibilidade com plano diretor - Respeito ao pacto federativo com a obediência a essas exigências - Ofensa ao princípio da impessoalidade - Afrenta, outrossim, ao princípio da separação dos Poderes - Matéria de cunho eminentemente administrativo - Leis dispuseram sobre situações concretas, concernentes à organização administrativa - Ação direta julgada procedente, para declarar a inconstitucionalidade das normas **AÇÃO DIRETA DE INCONSTITUCIONALIDADE** - Leis nºs. 11.764/2003, 11.878/2004 e 12.162/2004, do município de Campinas - Impossibilidade, no caso, de modulação dos efeitos da decisão - Não vislumbram razões de excepcional interesse social ou de segurança jurídica - Manutenção do efeito "ex tunc".

Número 1.0000.13.063910-7/000. Numeração 0639107. Relator: Des.(a) Antônio Sérvulo. Relator do Acórdão: Des.(a) Antônio Sérvulo. Data do Julgamento: 26/02/2014. Data da Publicação: 14/03/2014. EMENTA: CONSTITUCIONAL. ADIN. MUNICÍPIO DE VIÇOSA. LEIS MUNICIPAIS Nº 2.136/2011 E 2.139/2011. ALTERAÇÃO DAS REGRAS DE ZONEAMENTO URBANO. AUSÊNCIA DE ESTUDOS TÉCNICOS E AUDIÊNCIA PÚBLICA. INOBSERVÂNCIA DE DISPOSIÇÕES CONSTITUCIONAIS. As Leis Municipais nº 2.136/2011 e 2.139/2011 do Município de Viçosa padecem de inconstitucionalidade material, na medida em que não houve realização de estudo prévio de impacto ambiental, tal como exigido pelo art. 214, § 2º, da Constituição do Estado de Minas Gerais. O processo de elaboração das citadas leis fere também o princípio da democracia participativa por violar o Estatuto da Cidade, que estabelece a realização de audiência pública para a participação da população e de associações representativas para a implementação de normas e diretrizes relativas ao desenvolvimento urbano. **AÇÃO DIRETA INCONST Nº 1.0000.13.063910-7/000 - COMARCA DE VIÇOSA - REQUERENTE(S): PROCURADOR-GERAL DE JUSTIÇA - REQUERIDO(A)(S): PREFEITO DO MUNICÍPIO DE VIÇOSA, CÂMARA MUNICIPAL DE VIÇOSA.**

Outro ponto que merece especial atenção na análise do Projeto de Lei em questão é o fato de que há anos o Município do Crato vem sofrendo com constantes inundações em face da ocupação desordenada do leito do Rio Granjeiro, fatos que ocasionaram não apenas danos materiais a população, como também ceifaram algumas vidas; e que mesmo com a nossa boa vontade e com as dos demais governantes á níveis Estadual e Federal, ainda é um problema de solução complexa. Como ignorarmos isto e adotarmos os mesmos erros para o leito do Rio Batateiras?

Trazemos ainda à baila, algumas das considerações aduzidas no parecer técnico de nº 1060832750014 sobre a desafetação pretendida, quando por ocasião do requerimento

CNPJ: 07.587.975/0001-07 CGF: 06.920.251-6 Endereço: Largo Júlio Saraiva, s/n, Centro, Crato - CE. CEP: 63100-000
Telefone: (88) 3521-9600 - Ramal 221 E-mail: gabprefeito@crato.ce.gov.br Site Oficial: <http://www.crato.ce.gov.br>



PREFEITURA DO
CRATO

Palácio Alexandre Arraes
GABINETE DO PREFEITO



administrativo referenciado junto a Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial, cuja cópia segue anexa a presente mensagem de veto, quais sejam:

“... As ZEAs foram mapeadas levando em consideração a problemática ambiental de uma possível ocupação territorial na malha urbana. Estas áreas na grande maioria estão situadas sobre terrenos argilosos de sedimentação quaternária advindo da erosão das rochas sedimentares do período cretáceo. Sobre esta camada encontramos solos orgânicos e argilosos com a presença de grande quantidade de ostracóides que denunciam o passado geológico de bacia de inundação. Essas áreas mapeadas como ZEAs apresentam grande dinâmica geológica e instabilidade ambiental, podendo sofrer variações flúvio dinâmicas de grande amplitude. Devido a morfodinâmica do modulado do terreno, este não apresenta-se apropriado para habitação humana ...”.

Feitas as considerações acima, tem-se que a Lei Orgânica do Município do Crato prevê a possibilidade do Chefe do Poder Executivo vetar, total ou parcialmente Projetos de Lei quando verificar que se trata de ditame inconstitucional ou contrário ao interesse público, senão vejamos:

Art. 43. Aprovado o projeto de lei, na forma regimental, será ele, no prazo máximo de dez dias úteis, enviado ao Prefeito que, aquiescendo, o sancionará.


§ 1º. Se o Prefeito julgar o projeto, no todo ou em parte, inconstitucional ou contrário ao interesse público, vetá-lo-á total ou parcialmente, dentro de quinze dias úteis, contados da data do recebimento e comunicará, dentro de quarenta e oito horas, ao Presidente da Câmara os motivos do veto.

Destarte, sou levado a VETAR, na íntegra, o Projeto de Lei nº 1412001/2020 - CMC, eis que padece de vício fatal.

Submeto à elevada apreciação dos Senhores Membros da Câmara Municipal do Crato às razões acima aduzidas, nos moldes do § 4º, do Art. 43, da Lei Orgânica do Município - LOM.

No ensejo, aproveito para renovar protestos de estima e consideração, subscrevendo-nos.

Atenciosamente,


JOSÉ ALTON DE SOUSA BRASIL
Prefeito Municipal

Excelentíssimo Senhor
FLORISVAL SOBREIRA CORIOLANO
MD Presidente da Câmara Municipal do Crato

COPIADO



PREFEITURA MUNICIPAL DE CRATO
Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial - SEMADT

26

Parecerista: Maria Inamar Peixoto Xavier; Rodrigo Pinto Monte; Luiz Feitosa F. Junior

Assunto: Desafetação de Área do Monte Alegre, Zona Especial Ambiental - ZEA - 6

Interessado: João Gomes de Borba Maranhão

Processo nº: 201712120950

Parecer Técnico Nº 1060832750014



O presente parecer visa apresentar o posicionamento do corpo técnico de analistas ambientais da SEMADT sobre o processo que trata da desafetação de uma área na Zona Especial Ambiental - ZEA-6. A área em questão está inscrita na matrícula 2770 denominado Sítio Monte Alegre, de propriedade do Sr. João de Borba Maranhão inscrito no Cadastro de Pessoa Física CPF: 010.411.503-54.

As ZEAs foram mapeadas levando em consideração a problemática ambiental de uma possível ocupação territorial na malha urbana. Estas áreas na grande maioria estão situadas sobre terrenos argilo arenosos de sedimentação quaternária advindo da erosão das rochas sedimentares do período cretácio. Sobre esta camada encontramos solos orgânicos e argilosos com a presença de grande quantidade de ostracóides que denunciam o passado geológico de bacia de inundação.

Essas áreas mapeadas como ZEAs apresentam grande dinâmica geológica e instabilidade ambiental, podendo sofrer variações flúvio dinâmicas de grande amplitude.

Devido a morfodinâmica do modulado do terreno, este não apresenta-se apropriado para habitação humana.

Ressaltamos que o plano diretor de desenvolvimento urbano do município tenta resguardar parte dos aquíferos urbanos, que na sua maioria estão situados nas áreas ambientais, assumindo estas, no tocante a estratégica de águas subterrâneas duas vertentes, que são os aquíferos e as áreas de recargas.

As Zonas Especiais Ambientais (ZEAS) constituem-se em áreas públicas ou privadas sensíveis, com porções de ecossistemas naturais de significativo interesse ambiental e foram criadas pelo plano diretor de desenvolvimento urbano do município do Crato como unidade de planejamento, conformadas pelos parques urbanos, pelas áreas de preservação ecológica em suas várias modalidades, pelas faixas de preservação e tendo como objetivos:

I - Promover ações que visem à manutenção das áreas de conservação, proteção e preservação ambiental;

CNPJ: 07.557.978/0001-40

CEP: 06.920-281-6

Endereço: Rua Bárbara de Alencar, 567 - 88.3585-8022
 Bairro Centro
 CEP: 63100-328
 Crato - Ceará

E-mail e Site Oficial: semac.crato@crato.ce.gov.br

[Handwritten signatures and marks]

Anexo 02

MANIFESTO CONTRA O PL Nº 14122001/2020 DO CRATO - CE

Nós, abaixo-assinados, vimos por meio deste manifestar o nosso veemente repúdio ao **Projeto de Lei (PL) nº 1412001/2020**, aprovado no dia 21/12/2020 na Câmara Municipal do Crato – CE. Projeto este de autoria do Vereador Pedro Alagoano, que dispõe sobre a **desafetação de parte da área da Zona Especial Ambiental Rio Batateiras para transformar em Zona Residencial 3** (zona de média densidade, com 250 habitantes/ha).

De acordo com o Plano Diretor Municipal do Crato, as ZEAs constituem áreas sensíveis e de interesse ambiental conformada pelos parques urbanos, pelas áreas de preservação ecológica, em suas várias modalidades, pelas faixas de preservação e proteção de todos os recursos hídricos incidentes no território da cidade do Crato, o que inclui a Zona Especial Ambiental Rio Batateiras com sua importância para abastecimento do aquífero. Para uma alteração dessas áreas necessita-se de um estudo de impacto ambiental, uma análise do Plano Diretor e audiências públicas; e não ser posto em votação sem qualquer estudo técnico e as informações constantes ainda ser de forma equivocada. Pois ao invés da Câmara propor uma solução de cobrar de quem loteia indevidamente essas áreas, simplesmente propõe a desafetação de uma ZEA sem qualquer respeito às questões legais e técnicas.

O **PL 1412001/2020 obteve sua aprovação da Câmara Municipal do Crato com 11 votos a 5**, através de votação favorável dos vereadores Pedro Alagoano, Tico da Serrinha, Fernando Brasil, Prof. Gilson, Nando Bezerra, Antônio de Mano, Vicência, Gurí, Bebeto, Adil e Jales Veloso. Se posicionando contrário à aprovação do projeto de lei tivemos os vereadores Amadeu de Freitas, Tota Lobo, Ticiano, Thiago Esmeraldo e Renan. A estes últimos, todo nosso agradecimento e reconhecimento.

Vale ressaltar que o Projeto nem ao menos passou por uma avaliação superficial das informações constantes. Não foi observado sequer que no PL e mapa descritivo ao invés de constarem ZE5 (Parque do Rio Batateiras), que seria o objetivo da proposta, consta como ZE6 (que corresponde ao Parque do Rio Saco Lobo). No próprio mapa descritivo anexado, as coordenadas e área apresentadas são do Sítio Monte Alegre (área de 5,2686 ha), enquanto no PL são as do Sítio Passagem (área de mais de 9 ha conforme coordenadas disponibilizadas no PL e que realizamos a plotagem – Anexo I).

Uma das justificativas apresentadas pelos Vereadores Pedro Alagoano e Bebeto como apelo à defesa ao PL é que na área já possui residências e que os moradores possuem esse direito (ressaltamos que as que possuem em ZE5 são irregulares, loteada indevidamente). Porém verificamos que na área proposta não constam residências (conforme anexo II - imagens do Google Earth), e que se trata de uma nova área a ser possivelmente loteada caso o PL seja aprovado. Ou seja, as residências irregulares na ZE5 que constam em áreas vizinhas à proposta de transformação em ZR 3 permaneceriam irregulares e a desafetação de parte dessa ZEA abriria precedentes para outras desafetações.

As organizações que assinam este Manifesto demonstram sua indignação e repúdio à aprovação do PL 1412001/2020 e **solicitam que seja VETADO, por parte do Prefeito Municipal, José Ailton Brasil.**

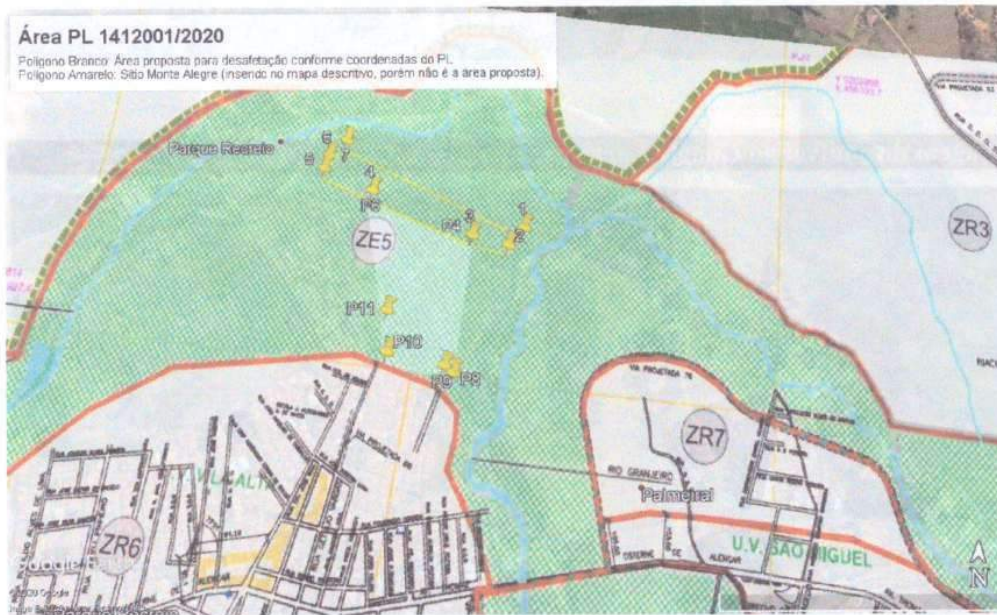
22 de dezembro de 2020.

1. BiodiverSe – Associação para Pesquisa e Conservação da Biodiversidade do Semiárido
2. Associação Cristã de Base – ACB

- 3. Associação de Moradores do Bairro Gisélia Pinheiro (Batateiras)**
- 4. Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos – AQUASIS**
- 5. Associação dos Agentes Recicladores de Crato - AARC**
- 6. Associação Libertária de Desenvolvimento e Educação Interativa Ambientalmente Sustentável - ALDEIAS**
- 7. Biocangaço**
- 8. Biólogo e Ativista Marcio Holanda**
- 9. Caritas Diocesana de Crato**
- 10. Centro Acadêmico de Biologia da URCA – CABIO**
- 11. Coletivo Camaradas**
- 12. Conselho Municipal dos Direitos da Mulher Cratense**
- 13. Curso de Bacharelado em Engenharia Ambiental do IFCE Juazeiro do Norte.**
- 14. Ecocariri**
- 15. ESCAPE - Escola Caririense de Permacultura**
- 16. Federação das Entidades Comunitárias do Cariri - FEC**
- 17. Fórum Araripense**
- 18. Fórum Popular das Águas do Cariri**
- 19. Frente de Mulheres do Cariri**
- 20. Geopark Araripe**
- 21. Greenpeace Cariri**
- 22. Grupo de Estudos de Agrária GEA/URCA**
- 23. Grupo Uruongo de Artes**
- 24. Guerrilha do Ato Dramático Caririense**
- 25. Laboratório de Estudos Interdisciplinares em Meio Ambiente, Território, Trabalho e Sustentabilidade - Laboratório Mattas (Economia-URCA)**
- 26. Mensageiros da Paz**
- 27. Movimento de Arte e Cultura do Sopé Chapada do Araripe - MOACPES**
- 28. Movimento Reinventar Cariri**
- 29. NIGEP - Nucleo de Estudos Integrados em Geomorfologia, Geodiversidade e Patrimônio (URCA/CNPQ)**
- 30. Núcleo de Gestão Integrado ICMBio Araripe – NGI ICMBio Araripe**
- 31. PCdoB do Crato**
- 32. PSOL do Crato**
- 33. PT do Crato**
- 34. Rede de Sustentabilidade Crato**
- 35. Resistência - PSOL**
- 36. Sertão em Flor**
- 37. Sindicato dos Servidores Municipais do Crato**
- 38. Sindicato dos Trabalhadores e Trabalhadoras Rurais do Crato**
- 39. Sindicato dos trabalhadores e Trabalhadoras Rurais Orgânicos e Ecológicos do Cariri – SINTTROEC**
- 40. Subverta – PSOL**
- 41. Vereador Amadeu de Freitas**

COPIADO

ANEXO I



COPIADO

ANEXO II

HISTÓRICO DE IMAGENS DE SATÉLITE COM VISUALIZAÇÃO DA ÁREA PROPOSTA PARA DESAFETAÇÃO E DA OCUPAÇÃO INDEVIDA EM ÁREAS CIRCUNVIZINHAS (QUE NÃO ESTÃO INCLUÍDAS NO POLÍGONO PROPOSTO NA PL).

Imagem disponível no Google Earth para a data de 21/08/2009



Imagem disponível no Google Earth para a data de 25/08/2013



COPIADO

Imagem disponível no Google Earth para a data de 31/07/2015



Acima já se visualiza (círculo vermelho) o início de loteamento e ocupação indevida na ZE5 em área vizinha à proposta para desafetação (círculo branco) pela PL 1412001/2020.

Imagem disponível no Google Earth para a data de 27/04/2016



COPIADO

Imagem disponível no Google Earth para a data de 14/09/2018



Imagem disponível no Google Earth para a data de 28/01/2019



COPIADO

Imagem disponível no Google Earth para a data de 11/02/2019



Imagem disponível no Google Earth para a data de 19/08/2020



Observa-se que na área proposta para desafetação não possui residências.

COMPILAÇÃO DE NOTAS EM DEFESA DA ZEA 5 – RIO BATATEIRAS

Notas compartilhadas através de WhatsApp e demais redes sociais.

Associação de Moradores do Bairro Gizélia Pinheiro

NOTA PÚBLICA EM DEFESA DO MEIO AMBIENTE

É de conhecimento público a intensão de um vereador do município do Crato, através de um projeto de lei, de alterar a Zona Especial Ambiental do Rio Batateiras para permitir a construção de casas em plena área de produção agrícola e de proteção ambiental.

Também é de domínio da sociedade que as Zonas Especiais Ambientais cumprem importante papel na regulação do clima, proporcionando bem estar e qualidade de vida para toda população.

Uma vez que uma lei do município do Crato determina que o vale do Rio Batateiras deve ser preservado como patrimônio ambiental, nós cratenses devemos ser os primeiros a defender essa conquista. Da mesma forma, os representantes do povo têm o dever de defender as leis e não modifica-las para prejudicar a maioria, em favor do interesse de poucos.

Diante dessa ameaça ao nosso meio ambiente, apelamos aos senhores e às senhoras vereadoras que rejeitem esse projeto e destinem recursos para criar nessa área um grande e belo parque. Essa sim, seria uma medida digna dos representantes do povo.

José Raimundo Cordeiro
Presidente

BiodiverSe – Assoc. para Pesquisa e Conservação da Biodiversidade do Semiárido

URGENTE!

O Projeto de Lei Nº 1412001/2020, de autoria do Vereador Pedro Alagoano, dispõe sobre a desafetação de parte da área da Zona Especial Ambiental Rio Batateiras para transformar em Zona Residencial 3 (zona de média densidade, com 250 habitantes/ha). De acordo com o Plano Diretor Municipal do Crato, as ZEAs constituem áreas sensíveis e de interesse ambiental conformada pelos parques urbanos, pelas áreas de preservação ecológica, em suas várias modalidades, pelas faixas de preservação e proteção de todos os recursos hídricos incidentes no território da cidade do Crato.



As Zonas Especiais Ambientais (ZEAs) da cidade do Crato foram definidas mediante aprovação, no ano de 2009, da lei de parcelamento, uso e ocupação do solo. As ZEAs são

caracterizadas territórios frágeis ambientalmente e que necessitam de proteção dos seus recursos naturais. Edificações, de modo geral, não são permitidas nessas áreas.

O projeto de lei representa uma restrição de conquista ambiental. Devemos denunciar a iniciativa de lei por suas falhas técnicas, pois as ZEA's são frutos de discussão com a sociedade quanto a elaboração do Plano Diretor, por isso qualquer mudança requer participação da sociedade. Ao desafetar a área e transformá-la em Zona Residencial serão gerados diversos impactos. Não podemos aceitar essa imposição da câmara de vereadores, precisa de laudo técnico!

Disponível em: <https://www.instagram.com/p/Ci6HuZPBRKb/?igshid=wjksmllepv7>

Acessado em: 03/01/2021

Coletivo Camaradas

Apoiamos a ZEA!

A preservação das Zonas Especiais Ambientais – ZEA, no Crato são essenciais para o equilíbrio do ecossistema, a defesa contra tragédias, como as recorrentes enchentes no Rio Granjeiro, a promoção e qualidade de vida da população. Garantir áreas ambientais protegidas é fundamental para se contrapor a corrida predatória da especulação imobiliária. Neste sentido, manifestamos posição contrária ao Projeto de Lei, que tramita na Câmara Municipal, que propõe reduzir a ZEA e transformar os imóveis nesta área em Zona Residencial.



Vereadores e Veareadoras do Crato votem pela ZEA!

Coletivo Camaradas

Disponível em: <https://www.instagram.com/p/Ci8xuJBr7G/?igshid=6qkp6f86gfj>

Acessado em: 03/01/2021.

Comitê da Sub Bacia Hidrográfica do Rio Salgado - CBHS

NOTA DE REPÚDIO

Os recursos hídricos constituem um patrimônio de toda a sociedade. Garantir a sua oferta com a qualidade e em quantidade suficientes é um dever do conjunto da sociedade e dos poderes públicos constituídos.

Em um Estado profundamente marcado pelas condições de semiaridez como é o caso do Ceará, constantemente assolado por estiagens e secas severas, o imperativo da proteção dos limitados recursos hídricos deve ser um compromisso indeclinável de todos.

Transformar a Zona Especial Ambiental do rio batateiras em uma área residencial, com todos os riscos e impactos dele recorrentes, significa colocar em risco, ainda mais, os ecossistemas e serviços ecossistêmicos que garantem a disponibilidade da água como um bem público.

Nesse sentido, a Diretoria do Comitê da Sub-bacia Hidrográfica do Rio Salgado, comprometida como sempre esteve com a proteção e conservação dos recursos hídricos no âmbito da Bacia Hidrográfica do Rio Salgado, manifesta posição contrária ao projeto de transformação da ZEA do Batateiras em área residencial e espera que a Câmara Municipal do Crato rejeite o projeto na sua integridade.

Conclamamos toda a sociedade que manifeste o seu desacordo com este e outros projetos que coloquem em risco a disponibilidade de recursos hídricos, em qualidade e quantidades desejadas.

Crato/CE, 21 de dezembro de 2020.

Diretoria do Comitê da Sub-bacia Hidrográfica do Rio Salgado

Conselho Municipal dos Direitos da Mulher Cratense

Frente de Mulheres do Cariri

AS MULHERES SE MANIFESTAM EM FAVOR DO MEIO AMBIENTE

O Conselho Municipal dos Direitos da Mulher Cratense e a Frente de Mulheres do Cariri, vem a público repudiar a apresentação do Projeto de Lei na Câmara Municipal de Crato e que propõe alterar da Zona Especial Ambiental – ZEA, do Rio Batateiras para Zona Residencial

Tudo começa pela água. A água é a principal fonte de desenvolvimento e vida da sociedade e dos seres vivos. Grande parte do desenvolvimento ecológico, social, possui bases firmadas na maneira de como utilizamos e respeitamos a água.

Departamento de Geociências da Universidade Regional do Cariri - URCA

Movimento de Defesa do Desenvolvimento Urbano Sustentável - MODDUS

NOTA CONTRA A TRANSFORMAÇÃO DA ZONA ESPECIAL DO RIO BATATEIRAS EM ZONA RESIDENCIAL

A Constituição Cidadã de 1988, em seu Artigo 225, garante que “todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”. Por se conformar como um direito fundamental difuso, o “meio ambiente ecologicamente equilibrado”, encontra-se fora e acima de qualquer interesse particular ou mesmo de grupos organizados.

COPIADO

Nesse esteio, é importante garantir, para esta e para as futuras gerações, a partir de um compromisso intergeracional, um desenvolvimento baseado nas premissas do desenvolvimento sustentável, da justiça socioambiental e da Agenda 2030.

É preciso acertar o passo e evitar caminhar na contramão da história e das decisões dos grandes líderes mundiais que colocaram a pauta ambiental na agenda do dia. O retrocesso social e ambiental caminha lado a lado com legislações que fragilizam a conservação e preservação dos ecossistemas, serviços ecossistêmicos, biodiversidade e recursos hídricos.

As Zonas Especiais Ambientais (ZEAs) da cidade do Crato foram definidas mediante aprovação, no ano de 2009, da lei de parcelamento, uso e ocupação do solo, em um total de 10 (dez). Nesse ínterim, A ZEA do Parque de Exposição foi transformada em Zona Mista e a parte da ZEA do Saco Lobo foi desafetada.

As ZEAs podem ser caracterizadas, de maneira geral, como territórios frágeis ambientalmente e que necessitam de proteção e conservação dos seus recursos naturais. Sopesando a fragilidade ambiental dessas áreas, a supramencionada lei definiu que poderiam ser executadas apenas atividades vinculadas à agropecuária, esportivas e de lazer que promovessem baixo impacto ambiental. Edificações, de modo geral, não são permitidas em tais áreas.

É preciso que todos (as) cidadãos (os) cratenses deixem claro que não compactuam com a destruição do patrimônio ambiental da cidade do Crato, que pertence ao conjunto da sociedade.

Por isso, nosso repúdio ao projeto de lei que tramita na Câmara Municipal de Crato e que propõe, mais uma vez, a alteração da Zona Especial do Rio Batateiras para Zona Residencial, numa clara afronta aos princípios do desenvolvimento sustentável e do bem-estar humano.

Considerando esta breve exposição de motivos, deixamos claro a nossa posição pela não intervenção na ZEA do Rio Batateiras ou em parte dela. Conclamamos a sociedade em geral a cerrar fileiras na defesa de uma cidade sustentável, inclusiva e socialmente justa e não baseada no retorno imediato de projetos imobiliários que em nada dialogam com a conservação e preservação dos ecossistemas e serviços ecossistêmicos.

Departamento de Geociências da Universidade Regional do Cariri - URCA
Movimento de Defesa do Desenvolvimento Urbano Sustentável - MODDUS

Márcio Holanda – Biólogo e Ativista

URGENTE!

Em Crato-CE, projeto de lei tenta transformar parte de um Zona ESPECIAL AMBIENTAL em Zona Residencial de media densidade para satisfazer interesses do setor IMOBILIÁRIO.

Compartilhem esse vídeo, marquem o Ministério Público do Ceará e todos os vereadores do Crato que você conhecer! VAMOS BARRAR ESSE AGRESSÃO AO MEIO AMBIENTE!



COPIADO

PL1214001/2020 É CRIME AMBIENTAL.

Disponível em: <https://www.instagram.com/p/CJBTdhykOz/>

Acessado em: 03/01/2021

PCdoB - Crato/Cariri/Ceará

NOTA DO PCdoB EM DEFESA DA ZEA DO RIO BATATEIRAS

O Partido Comunista do Brasil - PCdoB de Crato/CE - manifesta veemente repúdio ao Projeto de Lei Nº 1412001/2020, cuja aprovação dará salvo conduto para agentes da especulação imobiliária destruírem completamente a área da Zona Especial Ambiental localizada às margens do Rio Batateiras, causando sérios e irreversíveis danos ao meio ambiente e à população.

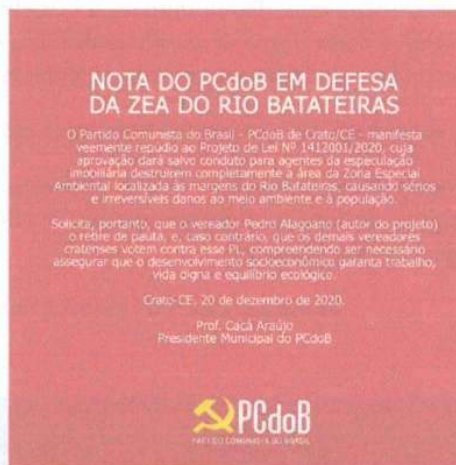
Solicita, portanto, que o vereador Pedro Alagoano (autor do projeto) o retire de pauta, e, caso contrário, que os demais vereadores cratenses votem contra esse PL, compreendendo ser necessário assegurar que o desenvolvimento socioeconômico garanta trabalho, vida digna e equilíbrio ecológico.

Crato-CE, 20 de dezembro de 2020.

Prof. Cacá Araújo
Presidente Municipal do PCdoB

Disponível em: https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=2794168707512724&id=1539279413001666&sfnsn=wiwspmo

Acessado em: 03/01/2021



PSOL Crato

O PSOL Crato se manifesta contrário ao projeto de lei que, no apagar das luzes de 2020, tenta desafetar e transformar parte de uma Zona Especial Ambiental em uma Zona Residencial e assim favorecer mais uma vez a especulação imobiliária. Não podemos repetir os erros do passado que hoje impactam no cotidiano do nosso município. Não podemos mais uma vez enjaular nossos corpos d'água. Não podemos colocar em risco mais uma vez a população com ocupações residenciais em locais inadequados e que deveriam ser reservadas para preservação da natureza.

Sindicato dos Servidores Municipais do Crato-SINDMSCRATO

NOTA PÚBLICA EM DEFESA DO MEIO AMBIENTE.

O Sindicato dos servidores municipais do Crato-SINDSMCRATO, vem a público repudiar a apresentação do Projeto de Lei na Câmara Municipal que propõe a alteração da Zona Especial Ambiental-ZEA para Zona Residencial.

COPIADO

Constituição Federal de 1988, no artigo 225 garante que “Todos têm o direito ao Meio Ambiente ecologicamente equilibrado, bem do uso comum do povo e essencial a vida sadia qualidade de vida, impondo-se do Poder Público à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”.

Preservar o meio ambiente é um ato importante e necessário não só para a humanidade, mas para todos os seres que habitam a mãe TERRA.

Sendo do conhecimento público o Projeto de Lei do Vereador Pedro Alagoano, que visa alterar a Zona Especial Ambiental-ZEA, do Rio Batateiras para Zona Residencial. Essa alteração atende tão somente os interesses de poucos.

A Zona Especial Ambiental tem um importante papel na qualidade de vida das pessoas.

Diante dessa ameaça ao Meio Ambiente, expressamos o nosso repúdio à proposta do Projeto de Lei, e apelamos que os Senhores vereadores e às Senhoras vereadoras que rejeitem esse projeto.

Sindicato dos Servidores Municipais do Crato-SINDMSCRATO.

Sindicato dos Trabalhadores e Trabalhadoras Rurais Orgânicos e Ecológicos do Cariri SINTTROEC

Nota Pública em defesa do meio ambiente

Diante do projeto de lei que tramita, sem discussão com a sociedade, na Câmara Municipal de Crato, e que transforma uma área da Zona Especial Ambiental - ZEA(do Rio Batateiras, na Vilalta, em Crato) em Zona Residencial - ZR com o único objetivo de lotear o imóvel, o SINTTROEC, vem de público, solicitar aos senhores e senhoras vereadores e vereadoras a rejeição do referido projeto de lei, visto que o papel da legislatura é criar leis que beneficiem a população e, no caso dessa lei, prejudica a população e por causar dano ao meio ambiente. Portanto esperamos que tal projeto seja rejeitado.

Expedito Guedes
Diretor Presidente do
SINTTROEC

Vereador Amadeu de Freitas - PT

Projeto de Lei pretende transformar área de Zona Especial Ambiental em Zona Residencial no Crato

Tramita na Câmara Municipal do Crato Projeto de Lei de autoria do Vereador Pedro Alagoano que propõe transformar um imóvel localizado na Zona Especial Ambiental do Rio Batateiras em Zona Residencial. Ou seja, alterar a legislação municipal que protege uma área sensível ambientalmente para atender ao interesse imobiliário.

Essa não é a primeira vez que manobra desse tipo é tentada para lotear imóveis que têm uso restrito por se localizar em zona de preservação ambiental. O vale do Rio Batateiras,

COPIADO

a exemplo dos vales dos demais rios que cruzam o perímetro urbano do Crato, foi zoneado por lei municipal como Zona Especial Ambiental com a finalidade de preservar suas características naturais.

Além de contribuir com a preservação do ecossistema, as Zonas Especiais Ambientais favorecem a recarga do aquífero e o microclima presente na cidade do Crato. Também tem a finalidade, pela proibição de edificação, de evitar os riscos de inundações e as tragédias que conhecemos no Rio Granjeiro.

O meio ambiente equilibrado é um direito constitucional. Por isso anuncio minha oposição a este projeto de lei e conclamo a sociedade cratense a se manifestar contra esse crime ambiental que se pretende cometer.

Vereador Amadeu de Freitas – PT

Academia Lavrense de Letras

EM DEFESA DA BACIA DO SALGADO

A Academia Lavrense de Letras, aqui representada pela sua presidente Cristina Couto, com o apoio de todos os seus membros e do povo de Lavras da Mangabeira, vem de público se acostar à luta de todo Clero e da Diocese do Crato, para protestar veementemente contra a aprovação pela Câmara Municipal do Crato, que no apagar das luzes do ano de 2020 e de forma açodada, aprovou um Projeto de Lei (PL) nº 1412001/2020, dispondo sobre a desafetação da Zona Especial Ambiental (ZEA) Rio Batateiras, transformando-a em Zona Residencial de Média Densidade. (ZR3). A cidade do Crato, situada no sopé da Chapada do Araripe, tem no seu sítio urbano a presença de três micro-bacias hidrográficas constituídas pelos Rios: Granjeiro, Saco e Batateiras, os quais compõem a Sub Bacia do Rio Salgado, o mais importante curso d'água do sul do estado do Ceará, responsável direto pela recarga do maior reservatório do estado, o Açude do Castanhão, manancial de maior peso no suprimento de água para a área metropolitana de Fortaleza. A antropização a que está submetida toda sub-bacia começa exatamente nas microbacias da cidade do Crato, local da nascente mais generosa do Salgado, responsável maior pelo atendimento à demanda CRAJUBAR, de 1.936 l/s, além de beneficiar uma população aproximada de 1 milhão de habitantes ao longo do seu curso, onde as cidades praticamente não dispõem de esgotamento sanitário, problema que precisa ser enfrentado pela população, já que o poder público, com honrosas exceções tem se mostrado inerte. A Academia Lavrense de Letras, entendendo que essa questão pontual abriu a caixa de Pandora cujo conteúdo precisa ser decodificado, desde se engaja na luta e propõe a realização de debates públicos em cada cidade da Bacia, com o propósito de esclarecer o povo sobre a gravidade da situação, culminando com uma grande audiência pública para deliberar os encaminhamentos pertinentes, às esferas superiores.

Lavras da Mangabeira, 04 de janeiro de 2021.

ACADEMIA LAVRENSE DE LETRAS

Cristina Couto.

Presidente

OUTRAS FORMAS DE MANIFESTO E DIVULGAÇÃO

Manifesto contra o PL nº 1412001/2020 do Crato – CE → assinado por mais de 40 organizações e coletivos (Anexo 2).

Assinam:

1. BiodiverSe – Associação para Pesquisa e Conservação da Biodiversidade do Semiárido
2. Associação Cristã de Base – ACB
3. Associação de Moradores do Bairro Gisélia Pinheiro (Batateiras)
4. Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos – AQUASIS
5. Associação dos Agentes Recicladores de Crato - AARC
6. Associação Libertária de Desenvolvimento e Educação Interativa Ambientalmente Sustentável - ALDEIAS
7. Biocangaço
8. Biólogo e Ativista Marcio Holanda
9. Caritas Diocesana de Crato
10. Centro Acadêmico de Biologia da URCA – CABIO
11. Coletivo Camaradas
12. Conselho Municipal dos Direitos da Mulher Cratense
13. Curso de Bacharelado em Engenharia Ambiental do IFCE Juazeiro do Norte.
14. Ecoariri
15. ESCAPE - Escola Caririense de Permacultura
16. Federação das Entidades Comunitárias do Cariri - FEC
17. Fórum Araripense
18. Fórum Popular das Águas do Cariri
19. Frente de Mulheres do Cariri
20. Geopark Araripe
21. Greenpeace Cariri
22. Grupo de Estudos de Agrária GEA/URCA
23. Grupo Urucongo de Artes
24. Guerrilha do Ato Dramático Caririense
25. Laboratório de Estudos Interdisciplinares em Meio Ambiente, Território, Trabalho e Sustentabilidade - Laboratório Mattas (Economia-URCA)
26. Mensageiros da Paz
27. Movimento de Arte e Cultura do Sopé Chapada do Araripe - MOACPES
28. Movimento Reinventar Cariri
29. NIGEP - Núcleo de Estudos Integrados em Geomorfologia, Geodiversidade e Patrimônio (URCA/CNPQ)
30. Núcleo de Gestão Integrado ICMBio Araripe – NGI ICMBio Araripe
31. PCdoB do Crato
32. PSOL do Crato
33. PT do Crato
34. Rede de Sustentabilidade Crato
35. Resistência - PSOL
36. Sertão em Flor
37. Sindicato dos Servidores Municipais do Crato
38. Sindicato dos Trabalhadores e Trabalhadoras Rurais do Crato
39. Sindicato dos trabalhadores e Trabalhadoras Rurais Orgânicos e Ecológicos do Cariri – SINTTROEC
40. Subverta – PSOL
41. Vereador Amadeu de Freitas

Disponível em: <http://alternativasocialista.com/crato-ce-vereadores-aprovam-destruicao-de-parte-da-zona-especial-ambiental-rio-batateiras/>

Acessado em: 03/01/2021.

Demais organizações que endossam o Manifesto:

- > Associação dos Índios Cariris de Poço Dantas Umari
- > Cia. Brasileira de Teatro Brincante
- > Retomada Kariri Ceará

Petição Pública dos povos indígenas da Nação Kariri do Ceará → com mais de 1.350 assinaturas.

Disponível em:

https://secure.avaaz.org/community_petitions/po/retomada_kariri_ceara_a_nacao_kariri_do_ceara_solicita_seu_apoi_o_contra_a_destruicao_do_rio_bataiteirascratoce_1/

Acessado em: 03/01/2021

Carta às lideranças e autoridades constituídas da Cidade do Crato → Padres de Crato fazem carta em defesa de zona ambiental (Anexo 4)

Noticiado em: <https://jornaldocariri.com.br/padres-de-crato-fazem-carta-em-defesa-de-zona-ambiental/>

Acessado em: 03/01/2021

Jornal da Cidade - Um projeto urbano, aprovado pela Câmara Municipal, tem causado polêmica, no Crato

Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=qitF5Y-oEpA&feature=youtu.be>

Acessado em: 11/01/2021.

Eco Nordeste: “Lei aprovada ameaça equilíbrio ambiental e urbano do Crato, no sul do CE”

Disponível em: <https://agenciaeconordeste.com.br/lei-aprovada-ameaca-equilibrio-ambiental-e-urbano-do-crato-no-sul-do-ce/>

Acessado em: 03/01/2021

Jornal do Cariri: “Lei que permite residências em área ambiental gera polêmica no Crato”

CRATO

Lei que permite residências em área ambiental gera polêmica

Leitura

A Câmara Municipal do Crato aprovou, na semana passada, por 11 votos a cinco, o Projeto de Lei Nº 1412001/2020, que libera a construção de residências em uma Zona Especial Ambiental (ZEA) localizada próximo ao Rio Bataiteiras. A decisão gerou polêmica entre municípios, entidades, ONGs, entre outros setores da sociedade. As ZEAs foram instituídas em 2009, pelo Plano Diretor da cidade, que dispõe de desenvolvimento urbano e define zonas ambientais no Município. Essa criação é orientada pelo Estatuto das Cidades, que prevê a obrigatoriedade de municípios com mais de 20 mil habitantes elaborarem e implementarem seus planos.

O autor do projeto é o vereador Pedro Alagano (PSD), que defende que qualquer construção passará, antes, pelo Município. “Não tem projeto que demonstre que será loteado, que vai causar prejuízo, até porque tem várias cidades que cresceram no meio de um grande rio. Isso não vai impedir o crescimento de nenhum Município”, justifica. Já na análise do vereador Arnadeu Freitas (PT), o projeto vai contra o que prevê a Lei Municipal do Crato, por várias razões. O parlamentar votou contra a proposta por acreditar que “é um projeto que não tem justificativa ou algum parecer técnico, apenas atende ao interesse de alguém”, disse. Ele também ressaltou que as ZEAs foram uma “conquista” para a cidade.

A decisão chegou ao Ministério Público do Ceará (MPCE), por meio do Promotor Thiago Marques, que escreveu para a Casa uma mensagem em que sugeria aos parlamentares a não aprovação. O presidente da Comissão de Direito Ambiental do Cariri, João Alfredo Telles Maia, publicou uma nota intitulada “contra o retrocesso ambiental no município do Crato”, em que considera a ação uma violação frontal às regras constitucionais e princípios protetivos do meio ambiente natural. A nota cita, ainda, a Constituição Federal de 1988, que garante no artigo 225 que “todos têm direitos ao Meio Ambiente ecologicamente equilibrado” e que é dever coletivo defendê-lo para as presentes e futuras gerações. O projeto ainda deve ser realizado pelo prefeito do Crato, Zé Alton Brasil (PT).

No entendimento do professor Dr. Laécio de Moraes, a criação ou extinção de uma ZAE deve obedecer critérios técnicos com base em estudos realizados por equipes multidisciplinares. “A ocupação indevida dessas áreas pode ocasionar a extinção da fauna e flora, de relevância para o ambiente urbano, e trazer consequências que perpassam um mandato”, explica o professor do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri (Urcari). Além disso, para o professor, as ZEAs são de áreas onde há fragilidade ambiental, por isso a importância de frear as ocupações nessas áreas. Geralmente estão próximas aos mananciais, próximos a encostas ou em áreas onde há processos erosivos ou que detêm atributos ambientais que devem ser mantidos. *

CÂMARA aprova PL por 11 votos a 5 e prefeito vetou



Palácio José Valdevino de Brito

Disponível parcialmente em: <https://cn7.com.br/lei-que-permite-residencias-em-area-ambiental-gera-polemica-no-crato/>

Acessado em: 03/01/2021

COPIADO

Diário do Nordeste: “Possível ocupação de Zona Especial Ambiental de Crato preocupa”

Disponível em: https://diariodonordeste.verdesmares.com.br/regiao/possivel-ocupacao-de-zona-especial-ambiental-de-crato-preocupa-1_3025087

Acessado em: 03/01/2021

Reportagem no CETV 1ª Edição - Vereadores do Crato aprovam lei que causa polêmica no município.

Exibição em 24 dez 2020.

Disponível em: <https://globoplay.globo.com/v/9127863/>

Acessado em: 03/01/2021

Cartão de Natal do Observatório Ambiental → enviado aos vereadores e vereadoras do Crato através do WhatsApp e Redes sociais.

**SENHORES VEREADORES E
SENHORAS VEREADORAS DO CRATO**

Que neste NATAL a SOLIDARIEDADE brote no coração de vocês para entenderem que o meio ambiente equilibrado é para as presentes e futuras gerações.



**SALVEM A
ZONA ESPECIAL
AMBIENTAL DO
RIO BATATEIRAS.**

**MANTENHAM O VETO AO PL QUE
QUER SUBTRAIR ESSE DIREITO.**

**OBSERVATÓRIO
AMBIENTAL**

SESSÕES DA CÂMARA QUE TRATARAM DO PL 1412001/2020

Transmissões realizadas através da Página do Facebook da TV e Blog do Gesso

Link: <https://www.facebook.com/gessoblogetv>

**Sessão do dia 21/12/2020 – 58ª Sessão Plenária Ordinária Virtual
Votação do PL (que aprovou o PL)**

A BiodiverSe participou da Sessão manifestando-se contrária ao PL destacando a necessidade de estudo técnico e audiências públicas para a alteração da área (conforme Lei Municipal 2.590/2009), a dubiedade do PL e inveracidade de argumentos da defesa.

Disponível em: <https://fb.watch/2NLkmt7UnG/>

Acessado em: 03/01/2021

**Sessão do dia 28/12/2020 – 60ª Sessão Plenária Ordinária Virtual
Votação do Veto (que rejeitou o veto do Prefeito)**

Disponível em: <https://fb.watch/2NL3tZuzce/>

Acessado em: 03/01/2021

Carta às lideranças e autoridades constituídas da Cidade do Crato

Nós, Padres da Cidade do Crato, manifestamos nossa preocupação com a derrubada do veto e aprovação do projeto de lei, na noite desta segunda-feira (28), na última sessão da Câmara Municipal do Crato, por dez votos a seis. Tal Projeto de Lei (PL) Nº 1412001/2020, conforme sabemos, dispõe sobre a desafetação da Zona Especial Ambiental (ZEA) Rio Batateiras, para transformá-la em Zona Residencial de média densidade (ZR3).

Manifestamos nosso total apoio aos ambientalistas e diversas instituições engajadas na causa de proteção do nosso meio ambiente, que acreditam e confirmam, com base em diversos estudos, que essa rápida e irrefletida decisão pode gerar riscos à população. A ZEA do Rio Batateiras e sua nascente têm alta importância para o abastecimento do aquífero da cidade de Crato e da região do Cariri. A desafetação irá gerar um grande impacto ambiental para a cidade e região, pois o Rio Batateiras dá origem ao Rio Salgado. Ao desafetar a área e transformá-la em Zona Residencial, serão gerados alguns impactos, devido a área se encontrar entre o curso de dois rios, além de ser uma área de pântano, que sofre alagamento no período chuvoso. A desafetação e, conseqüentemente, a construção de residências nessa área afetaria a dinâmica das águas pluviais (originadas das chuvas) e fluviais (originadas dos rios), impedindo também parte da recarga do aquífero da região, além da supressão vegetacional que causará alterações na fauna local e no solo. Esses problemas surgirão de médio a longo prazo, como já acontece em várias áreas do município de Crato.

Vale também lembrar a importância religiosa, histórica, cultural, antropológica e arqueológica do Rio Batateiras. Para os índios Kariri o Rio Ytayera, como era chamado (pedra que a água leva/pedra da correnteza), é sagrado e de grande importância ancestral. O Rio Batateiras e suas margens deveriam ser alvo de iniciativas de proteção e demarcação, como território ancestral e patrimônio histórico, arqueológico e cultural, ao invés de ser violentado por alguns representantes políticos e pelo capital imobiliário.

Clamamos ao Ministério Público e autoridades constituídas que se empenhem energicamente contra a derrubada deste veto, já que são conhecedores de uma série de inconsistências legais no seu processo de tramitação, como a ausência de estudos técnicos e debate público aprofundado; sem contar toda a gama de implicações de ordem ambiental para o ecossistema do Rio Batateiras, e, por conseguinte, de toda a Bacia Hidrográfica do Rio Salgado. Comprometemo-nos, como pastores que somos, em realizar, juntamente com toda sociedade, uma aprofundada reflexão. Sabemos que a situação evidencia a necessidade de campanhas e mobilizações permanentes em defesa do meio ambiente da região, contra a especulação imobiliária e o avanço irracional que visa tão somente o lucro.

No dia 24 de maio de 2020, teve início o Ano Especial dedicado à Encíclica Laudato si. Na Encíclica Francisco de Roma coloca-se na esteira de Francisco de Assis, para explicar a importância de uma ecologia integral, que se torna um novo paradigma de justiça, em que a preocupação com a natureza, a equidade para com os pobres e o compromisso com a sociedade, são inseparáveis. Certamente, sublinha a Encíclica, é preciso investir na formação para uma ecologia integral, para compreender que o ambiente é um dom de Deus, uma herança comum a ser administrada, não para ser destruído. O Ano Especial se concluirá em

2021, mas tem como objetivo propor um compromisso público comum com a “sustentabilidade total”. O Papa Francisco pede que sejam envolvidas as famílias, dioceses, ordens religiosas, universidades, escolas, unidades de saúde e o mundo dos negócios, com especial atenção às empresas agrícolas.

Concluimos essa carta na firme esperança de que toda essa situação seja revertida e o nosso Cratim de Açúcar seja terra, plena e satisfatoriamente habitável, para as nossas futuras gerações. Desejamos a todos e a todas um Feliz Ano Novo!

Crato-CE, 01 de Janeiro de 2021
Solenidade da Mãe de Deus e Dia Mundial da Paz

Pe. José Ricardo Barros de Sales (Vigário Forâneo, Pároco da Paróquia São José Operário e Administrador da Área Pastoral São Sebastião em Dom Quintino)
Pe. José Vicente Pinto de Alencar da Silva (Vigário Geral e Cura da Catedral)
Pe. Rocildo Alves Lima Filho (Reitor do Santuário Eucarístico Diocesano)
Mons. João Bosco Cartaxo Esmeraldo (Santuário Eucarístico Diocesano)
Mons. José Honor de Brito (Membro da Equipe de Formação do Seminário São José)
Pe. Cícero Luciano Lima (Reitor do Seminário Propedêutico Dom Fernando)
Pe. Aureliano de Sousa Gondim (Pároco da Paróquia Nossa Senhora de Fátima)
Pe. Raimundo Elias Filho (Vigário Paroquial da Paróquia Nossa Senhora de Fátima)
Pe. Sebastião Monteiro da Silva (Fundador da Comunidade Filhos Amados do Céu)
Pe. Arileudo da Silva Machado (Pároco da Paróquia São Francisco)
Pe. Francisco José Bezerra de Sousa (Vigário Paroquial da Paróquia Nossa Senhora da Penha)
Pe. Luiz Carlos da Silva (Vigário Paroquial da Paróquia São José Operário)
Pe. Joaquim Ivo Alves dos Santos (Ecônomo e Pároco da Paróquia N.Sra. Aparecida)
Pe. José Eliomar Tavares Serafim (Administrador da Área Pastoral Imaculada Conceição de Maria)
Pe. Acurcio de Oliveira Barros (Reitor do Seminário São José)
Pe. Francisco Roserlândio de Souza (Diretor do Departamento Histórico da Diocese)
Pe. Francisco Georgerlanio de Brito Felipe (Pároco da Paróquia Sagrado Coração de Jesus)
Pe. José Ranilson Belém de Souza (Pároco da Paróquia Sagrada Família)
Pe. José Josias Gomes Araújo (Pároco da Paróquia São Miguel)

COPIADO

Plotamos as coordenadas da Lei +13 ha



Lei nº 3.730/2021 - Crato/CE

Parque Recreio



Ofício N° 087/2021- GR

Crato-CE, 15 de fevereiro de 2021

Ao Senhor
Reno Feitosa Gondim
Presidente Ordem dos Advogados do Brasil (OAB) – Subsecção Crato
Avenida Perimetral Dom Francisco de Assis, 380
São Miguel, Crato-CE

Assunto: resposta ao Ofício

Cumprimentamos Vossa Senhoria ao tempo em que destacamos a participação efetiva da Universidade Regional do Cariri (URCA) nos debates técnicos e políticos que foram realizados em torno da temática da desafetação das Zonas Especiais Ambientais (ZEAs) desde o ano de 2018, notadamente através dos posicionamentos emanados pelos Departamentos de Geociências, Ciências Biológicas, Construção Civil e Geopark Araripe, especialmente no âmbito do Processo Civil n° 35/2016 – PJJCEC/Crato/CE, que questionava a Construção do Loteamento Brisa do Seminário na Zona Especial Ambiental do Rio Batateiras – ZEA 04.

No caso em tela (lei municipal 3730/2021), a URCA, através do Departamento de Geociências (DEGEO), foi convidada a se manifestar sobre esse novo processo de desafetação. Este Chefe de Gabinete, na condição de professor do DEGEO, participou ativamente dos debates e marcou posição enfática no sentido de não se autorizar a transformação da ZEA em área residencial.

Considerando o exposto, esta Chefia de Gabinete se acosta ao trabalho desenvolvido pelo professor e pesquisador desta IES, professor Dr. Waltécio de Oliveira Almeida, que arrolou farta documentação que coaduna com os posicionamentos anteriormente destacados e torna patente os gravíssimos prejuízos causados pelo processo de desafetação das ZEAs tanto para a biodiversidade como para a sociedade em geral.

Em tempo, aproveitamos o ensejo para informar que o Observatório Ambiental tem aglutinado uma série de pesquisadores, líderes políticos e ativistas ambientais no sentido

Campus do Pimenta

Rua Cel. Antonio Luiz - 1161, Pimenta, 63.105-000 - Crato - CE
Fone (88) 3102.1218



de promover uma maior integração da luta pelo desenvolvimento urbano sustentável. O referido Observatório tem realizado uma série de levantamentos que podem subsidiar, também, essa douta subsecção da OAB Crato no sentido de pleitear juridicamente a Ação Declaratória de Inconstitucionalidade.

Atenciosamente,

Prof. Dr. FRANCISCO EDMAR DE SOUSA SILVA PINHEIRO
Chefe de Gabinete

Campus do Pimenta

Rua Cel. Antonio Luiz - 1161, Pimenta, 63.105-000 - Crato - CE
Fone (88) 3102.1218

Prof. Dr. Waltécio de Oliveira Almeida (Pós-Doutorado)

CV-Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9344468891467823>

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Química Biológica/ CCBS, R. Cel. Antônio Luiz, 1161, 63100-000, Crato, CE, Brasil. E-mail: waltecio@gmail.com
Tel.(88) 98839-0037

**RELATÓRIO DESCRITIVO DOS DANOS
AMBIENTAIS DECORRENTES DA
URBANIZAÇÃO PREVISTA NA Lei N^o
3.730/2021**

Prof. Dr. Waltécio de Oliveira Almeida (**ALMEIDA, W.O.**)

Líder do Grupo de Pesquisa em Biologia Comparada CNPq/ URCA

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Recursos
Naturais PPGDR/ URCA

Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da
Natureza PPGEtno/ UFRPE-URCA-UEPB

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia)/ UFPB

Universidade Regional do Cariri – URCA/ Ceará

Crato - CE

2021

Introdução

A porção de encosta da Capada do Araripe compõe a Área de Proteção Ambiental (APA), em conjunto com a Floresta Nacional do Araripe forma um sistema integrado entre flora, fauna e hidrografia. É a encosta, coração da APA, uma área de amortecimento hídrico, onde se encontram 130 nascentes de água na região (Aquasis, 2006).

Devido a disponibilidade de água é nessa área que a maioria das espécies de animais até então estudadas, 25 espécies de morcegos, duas espécies de anfisbenas, 82 espécies de répteis e 33 espécies de anfíbios. Estes totalmente dependentes das fontes de água para sobreviver (Ávila et al., 2016). Todas essas espécies ou foram apenas registradas, ou poucos trabalhos sobre biologia e parasitologia foram realizadas. Morcegos de conhecimento geral são portadores de uma variedade de coronavírus, e nada ainda foi estudado sobre os morcegos da APA.

A Lei N° 3.730/2021 propõe a modificação de parte da APA com um novo zoneamento para urbanização. Além do exposto sobre a diversidade de fontes hídricas da APA, flora e fauna associadas a elas destaco aqui dois pontos gravíssimos contra a aplicação dessa lei: (1) a presença das palmeiras babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), carnaúba (*Copernicia prunifera*), catolé (*Syagrus oleracea*) e macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*), as quais são habitats naturais de espécies de insetos triatomídeos conhecidos como barbeiros (*Rhodnius nasutus*) portadores dos protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*, causadores de epidemias da doença de Chagas (ver estudos da Fundação Oswaldo Cruz anexos); (2) as nascentes, cuja espécie extremamente ameaçadas de extinção só vivem em associação a elas, o soldadinho do Araripe (*Antilophiabokermanni*) (ver anexo documentos da “The International Union for Conservation of Nature - IUCN Red List of Threatened Species”.

(1) Desmatamento florestal e aumento de casos de Doenças de Chagas

As Palmeiras (exemplo Figura 1) são o habitat naturais de espécies de triatomídeos, muitos destes infectados com *T. cruzi* e *T. rangeli* (Tabela 1, Figura 2 e 3). Estes alimentam-se do sangue de morcegos, gambás, pássaros, cobras, anfíbios e até de insetos. Segundo os dados levantados pela FioCruz: "Nossos resultados sugerem a existência de uma enorme área de transmissão enzoótica de *T. cruzi* e *T. rangeli* mantida pelo *R. nasutus* com capacidade de infestação em ambientes artificiais, o que pode acarretar risco para a população local" (Dias, 2007; Dias et al., 2007). Além da necessidade das autoridades lidarem com esse problema, evitar desmatamento e a eliminação das presas naturais dos triatomídeos é uma das melhores formas para combater uma epidemia de doença de Chagas.



Figura 1 - Catolé (*Syagrusolearacea*), palmeira com distribuição em regiões da APA. Município de Crato – CE (Fonte: Dias, 2007).

Tabela – Número de palmeiras infestadas, triatomídeos capturados, examinados, infectados, e percentual de infecção por espécie de palmeira.

Palmeira	Número palmeiras infestadas (%)	Triatomíneos capturados (%)	Triatomíneos examinados (%)	Triatomíneos infectados (%)
Babaçu	10 (23,3)	224 (43,0)	144 (64,4)	31 (21,5)
Buriti	9 (20,9)	19 (3,6)	15 (79,0)	1 (6,8)
Carnaúba	8 (18,6)	24 (4,6)	16 (66,7)	zero
Catolé	9 (20,9)	191 (36,7)	148 (77,5)	29 (19,6)
Macaúba	7 (16,3)	63 (12,1)	59 (93,7)	3 (5,0)
Total	43 (100)	521 (100)	382 (73,3)	64 (16,8)

Fonte: Dias (2007).

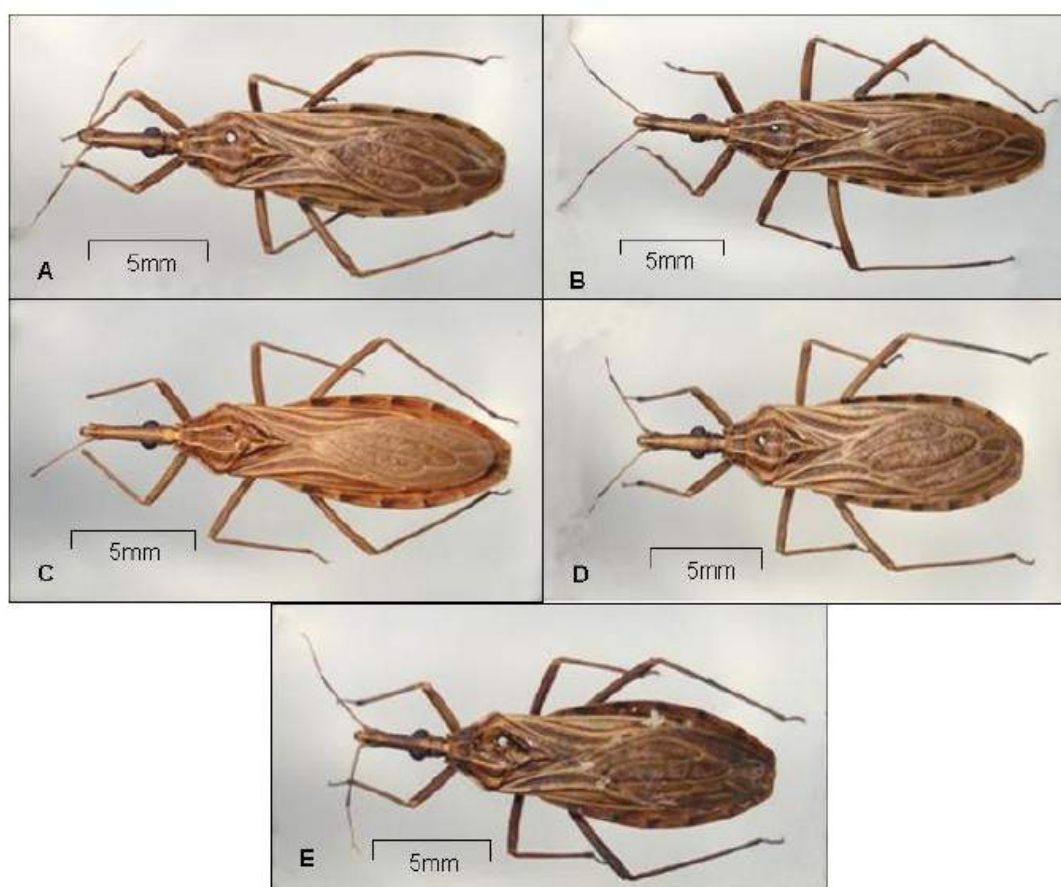


Figura 2 - Fêmeas de *R.nasutus* proveniente da geração parental coletados nas cinco espécies de palmeiras da APA: a) babaçu, b) buriti, c) carnaúba, d) catolé e e) macaúba-barriguda. (Fonte: Dias, 2007).

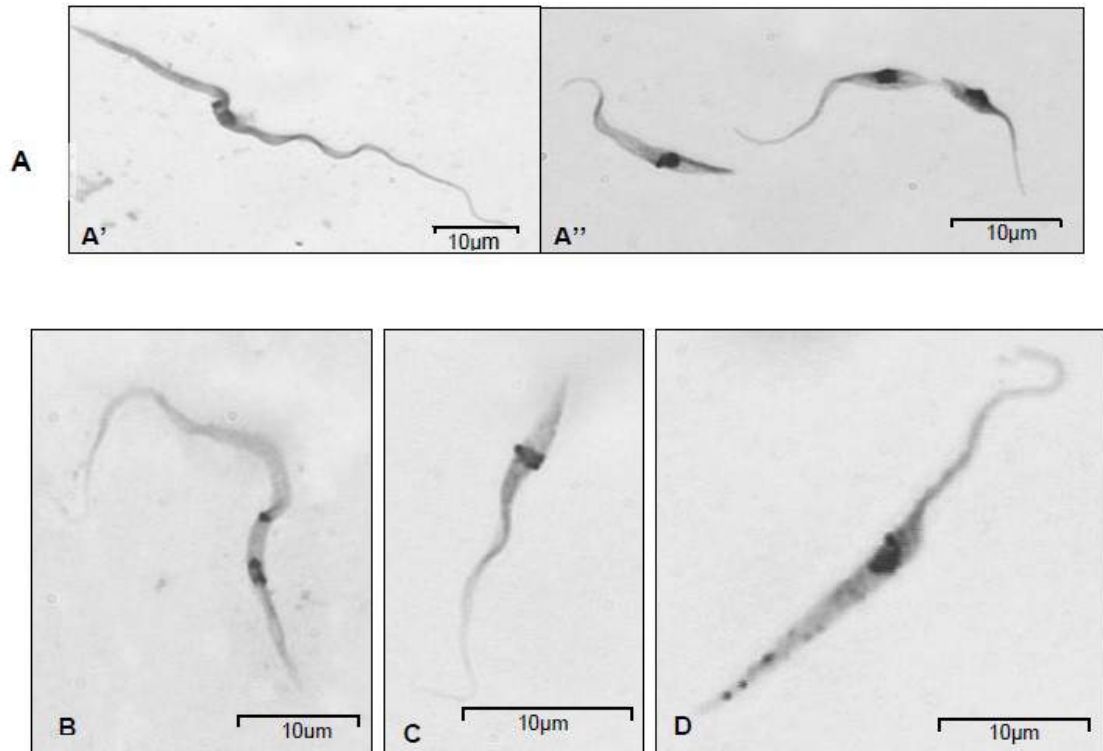


Figura 3 – Tripanosomas encontrados: A') *T. rangeli*; A'') *T. cruzi*; B) isolado da cepa San Agustin (controle positivo de *T. rangeli*; C) cepa Y (controle positivo de *T. cruzi* grupo II); D) cepa YuYu (controle positivo de *T. cruzi* grupo I) (Fonte: Dias, 2007).

Ressalto com ênfase: as árvores e animais presentes na APA nos protegem dos triatomídeos que preferem seus habitats e presas naturais. A urbanização prevista na Lei N° 3.730/2021 pode causar um aumento de pessoas infectadas, por si só, Lei torna-se origem de uma calamidade sanitária.

(2) Desmatamento florestal, destruição de fontes naturais e extinção de espécies

Extinção é para sempre e representa um crime contra a humanidade. Segundo Gaiotti (2016): “O soldadinho do Araripe (*Antilophiabokermanni*) (Fig. 4) é uma espécie Passeriforme da família Pipridae e uma das recentes descobertas da ornitologia brasileira, descrita há apenas 18 anos. Encontra-se criticamente ameaçada, com população estimada em 800 indivíduos”. Esses pássaros só vivem em associação às nascentes presentes na APA (Rego et al., 2010). Se a aplicação da urbanização prevista na Lei Nº 3.730/2021 pode gerar uma emergência sanitária com epidemia de doença de Chagas, ela também é por si só um crime ao contribuir com a redução de áreas onde a *Antilophiabokermanni* vive, acelerando sua extinção.



Figura 4 - Macho *Antilophiabokermanni* banhando-se em uma das nascentes presentes na APA, Crato – CE. de Foto: Weber A. G. Silva

Ao ressaltar esses dois pontos, sou em absoluto contra a Lei Nº 3.730/2021 e seu plano de “urbanização”. Só existe uma forma de descrever isso: DESTRUÇÃO DE VIDAS POR ESPECULAÇÃO IMOBILIÁRIA. Somos maiores do que isso seres humanos não devem se tornar agentes de devastação, peste e dor.

Referências bibliográficas

- Aquasis. 2006. **Plano de conservação do soldadinho-do-araripe (*Antilophiabokermanni*)**. Pp1–36.
- Ávila et al., 2016. **Herpetologia do sul do Ceará e sertão de Pernambuco**. Fortaleza, 93p.
- Dias, F. B. S., 2007a. **Ecologia de *Rhodniusnasutus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) em palmeiras da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil**. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 121p.
- Dias et al., 2007. First report on the occurrence of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the state of Ceará, Brazil, in naturally infected triatomine *Rhodniusnasutus* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(5): 643-645.
- Gaiotti, M. G., 2016. ***Antilophiabokermanni* (Aves: Pipridae): Parâmetros reprodutivos, sistema de acasalamento social e genético e o papel da seleção sexual**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Brasília, 206p.
- Rego, et al., 2010. Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophiabokermanni*). **The Auk**, 127(2):335-342.

Papéis Avulsos de Zoologia

Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

Volume 54(22):315-328, 2014

www.mz.usp.br/publicacoes

www.revistas.usp.br/paz

www.scielo.br/paz

ISSN impresso: 0031-1049

ISSN on-line: 1807-0205

MORCEGOS DA CHAPADA DO ARARIPE, NORDESTE DO BRASIL

ROBERTO LEONAN MORIM NOVAES¹

RAFAEL DE SOUZA LAURINDO²

ABSTRACT

*Chapada do Araripe is a plateau located within the Caatinga biome in northeastern Brazil between the states of Ceará, Pernambuco and Piauí. Altitude has great variation, giving a variety of vegetation and environmental dynamics distinct from other Caatinga areas. With the aim of increasing the meager information on biodiversity of the Caatinga, between 2010 and 2012 we conducted a survey of bats in five locations in the Chapada do Araripe, in counties of Barbalha and Jardim, Ceará, and Serrita in Pernambuco. Our survey recorded 25 species in six families resulting in the capture of 201 individuals. Sampling recorded three new records for Ceará State, *Sturnira tildae*, *Pteronotus gymnotus*, *Cynomops planirostris* and *Pro-mops nasutus*. A compilation of the literature revealed that in the Chapada do Araripe occur 49 bat species distributed in eight families, representing 64% of bat species in the Caatinga.*

KEY-WORDS: Chiroptera; Caatinga; Assemblage; Species survey.

INTRODUÇÃO

Na região neotropical a fauna de morcegos pode representar até 50% da comunidade de mamíferos de uma região (Timm, 1994), tendo um importante papel na manutenção de áreas naturais devido a uma série de serviços ecológicos prestados, como a dispersão de sementes e o controle de populações de invertebrados (Kalka *et al.*, 2008; Mello *et al.*, 2011). Ainda assim, o conhecimento sobre a distribuição geográfica e biologia de muitas espécies de morcegos de algumas sub-regiões da América do Sul, como a Caatinga, ainda é incipiente (Bernard *et al.*, 2011).

A Caatinga brasileira é um dos biomas menos conhecidos da América do Sul quanto a sua biodiversidade. Possui uma área de 740.000 km², ocupando cerca de 10% do território do Brasil (Aguiar *et al.*,

2002). A maior parte da Caatinga é composta por ambientes semiáridos, embora também possa apresentar habitats méxicos em menor proporção, como na Chapada do Araripe (Costa *et al.*, 2004).

A Chapada do Araripe é um planalto localizado dentro do domínio da Caatinga no nordeste brasileiro, mais precisamente entre os estados do Ceará, Pernambuco e Piauí. Possui variação altimétrica entre 700 e 1.000 m (DNPM, 1996), o que confere uma grande variedade de fitofisionomias e uma dinâmica ambiental distinta das demais áreas de Caatinga de baixada (Castro, 1996). A Chapada do Araripe é protegida por uma Área de Proteção Ambiental (APA da Chapada do Araripe) e parte de seu território também é protegido pela Floresta Nacional do Araripe e pelo Parque Geológico do Araripe (Silva *et al.*, 2004a). Todavia, assim como boa parte da Caatinga, a Chapada

¹ Fundação Oswaldo Cruz, Campus Fiocruz da Mata Atlântica. Estrada Rodrigues Caldas, 3.400, CEP 22713-375, Rio de Janeiro, RJ. Brasil. E-mail: robertoleonan@gmail.com

² Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia. Campus Universitário, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. <http://dx.doi.org/10.1590/0031-1049.2014.54.22>

do Araripe sofre uma intensa pressão antrópica devido à expansão de áreas agrícolas, ocupação de moradia desordenada e caça (Novaes *et al.*, 2013).

Por possuir uma rica biodiversidade, incluindo endemismos e descrição de novas espécies, apresentar diversos tipos de habitats, sítios fossilíferos e áreas cársticas, a Chapada do Araripe é considerada Área Prioritária para Conservação da Biodiversidade da Caatinga, sendo classificada como região de extrema importância biológica (Silva *et al.*, 2004a). Além disso, esses mesmos autores indicam que em decorrência do crescente processo de ocupação humana e expansão agrícola, a Chapada do Araripe possui necessidades urgentes para a pesquisa científica de diversos grupos taxonômicos, incluindo mamíferos, contribuindo para o acúmulo de conhecimento e aumento da proteção para a conservação da biodiversidade da região.

Pesquisas com mamíferos na Chapada do Araripe foram iniciadas na década de 1970 com pesquisadores do Carnegie Museum of Natural History (EUA), resultando em uma série de trabalhos sobre zoogeografia e história natural de mamíferos, incluindo morcegos (*e.g.*, Mares *et al.*, 1981, 1985; Willig, 1983, 1985a, b;

Willig *et al.*, 1993). Esses estudos foram os pioneiros e ainda hoje são de extrema relevância para a compreensão da fauna de mamíferos da Caatinga brasileira, e indivíduos coletados durante esses trabalhos ainda servem como material para descrições de novas espécies (*e.g.*, Moratelli *et al.*, 2011). Contudo, com exceção dos trabalhos com revisão de espécimes de coleção, nenhum estudo de campo sobre mamíferos na Chapada do Araripe foi realizado desde então.

Apresentamos aqui os resultados de um levantamento da quiropterofauna realizado em uma parte da Chapada do Araripe. Adicionalmente, ao final do trabalho, apresentamos a lista total de espécies de morcegos registradas na Chapada do Araripe através de compilação feita na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A Chapada do Araripe possui cerca 180 km de extensão abrangendo parte dos estados de Pernam-

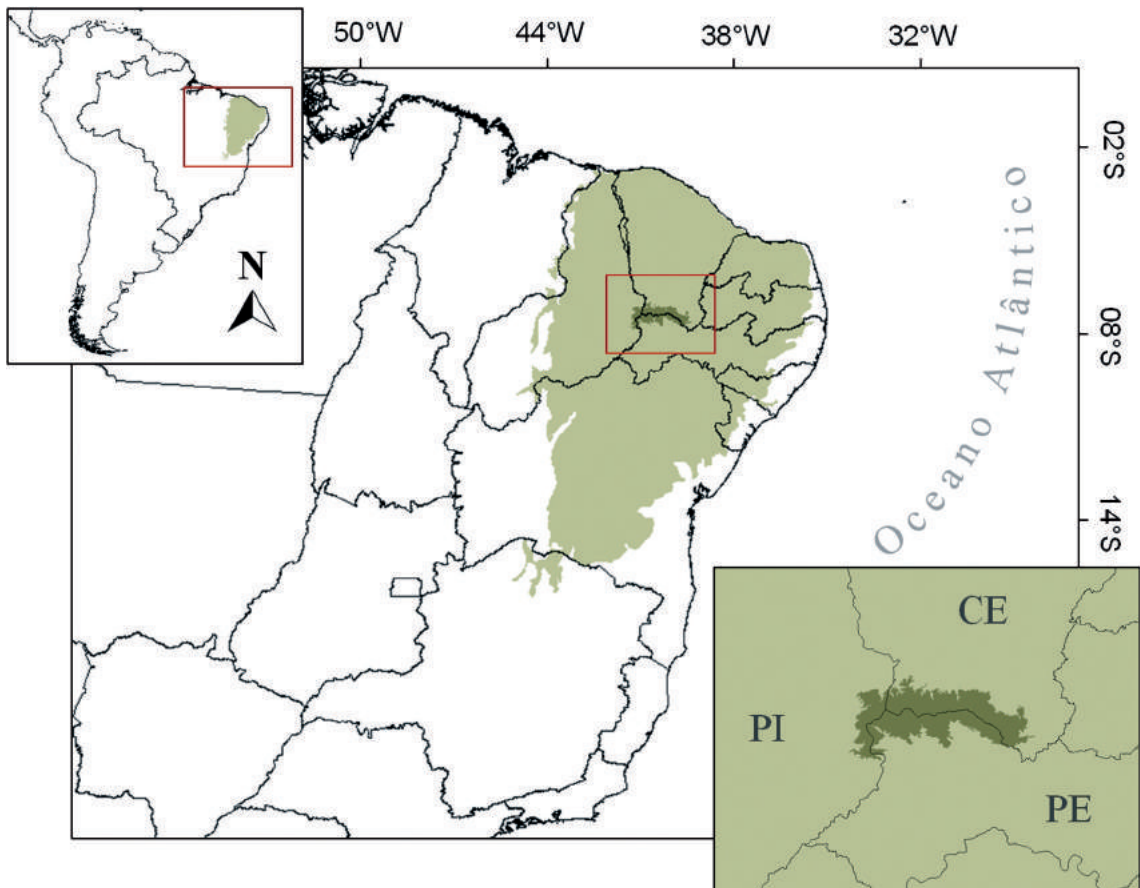


FIGURA 1: Localização da Chapada do Araripe, na Caatinga brasileira (em verde), nordeste do Brasil.

bucu, Piauí e Ceará (Fig. 1), estando a maior parte neste último (Nascimento, 1996). Essa Chapada está inserida dentro do domínio da Caatinga, e nela ocorrem distintos padrões de vegetação, descritos a seguir conforme Figueira (1989):

- (1) Floresta subperenifolia tropical pluvio-nebular (mata úmida), caracterizando uma fitofisionomia úmida, com dossel superior a 12 m de altura semelhante a Floresta Atlântica Ombrófila, com presença destacada de palmeiras e bromélias epífitas. Esta fisionomia é encontrada nas vertentes mais altas da chapada (entre 900 e 1.000 m) e nas encostas que possuem acúmulo de água.
- (2) Floresta subcauducifolia tropical pluvial (mata seca), fisionomia que recobre a retaguarda da mata úmida, nos níveis inferiores das altas vertentes da chapada (entre 800 e 950 m), sendo caracterizada por apresentar um dossel de média altura (até 12 m) e uma vegetação que combina elementos das matas úmidas, cerrado arbóreo e do carrasco, com ausência de bromeliáceas ou outras plantas epífitas.
- (3) Floresta subcaducifolia tropical xeromorfa (cerrado arbóreo), está presente entre as altitudes de 800 e 900 m, principalmente em solos arenosos

e distróficos, sendo caracterizado por apresentar uma densa vegetação de nível arbóreo e que, em média, não ultrapassa 8 m de altura. Simmons (1996) também denomina essa fisionomia de cerrado edáfico.

- (4) Carrasco, vegetação xerófila com características bem particulares, que consiste de uma comunidade arbustiva densa, baixa e quase totalmente domina por elementos da Caatinga, como plantas de caules finos e cespitosos, e cactáceas em abundância, embora também possam ser encontradas espécies arbóreas. Na Chapada do Araripe ocorre desde as áreas mais baixas, tendo seu limite altitudinal em torno dos 850 m. Essa fitofisionomia pode abrigar um microhabitat denominado localmente de “Serrote”, uma pequena elevação arenítica na paisagem de planície que pode formar cavidades naturais frequentemente utilizados como abrigos por morcegos (Willig, 1983).

Amostragem

A amostragem foi realizada em duas campanhas anuais, uma em período chuvoso (fevereiro e março) e

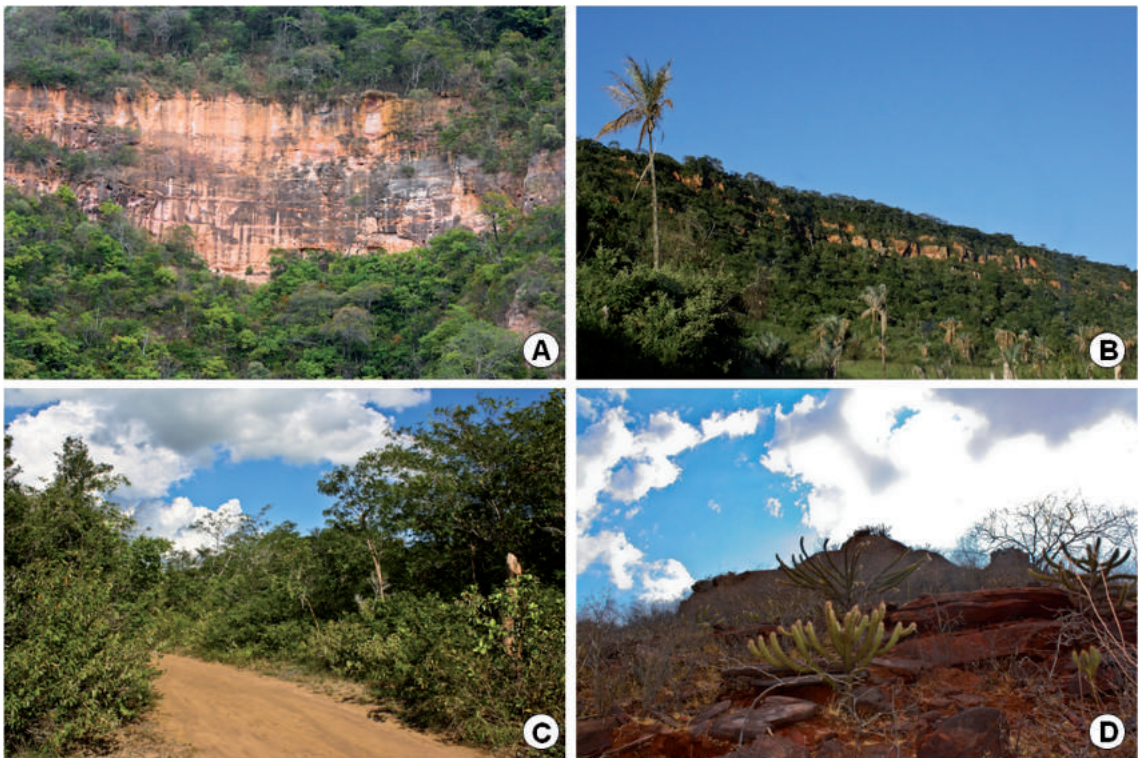


FIGURA 2: Fitofisionomias da Chapada do Araripe, sendo: Mata Úmida (A), Mata Seca (B), Cerrado Arbóreo (C), Carrasco (D). Fotos por Roberto Leonan Morim Novaes.

TABELA 1: Localidades de amostragem de morcegos na Chapada do Araripe, incluindo coordenada geográfica; altitude; hábitat, sendo: Mata Úmida (MU), Mata Seca (MS), Cerrado Arbóreo (CE) e Carrasco (CA); e esforço amostral.

Localidade	Coordenada	Altitude	Hábitat	Esforço*
Caldas, Barbalha, CE	07°22'45"S/39°20'38"O	923 m	MU	8.100 m ² .h
Vale da Lua, Jardim, CE	07°32'58"S/39°18'45"O	808 m	MS	8.100 m ² .h
Mata das Torres, Serrita, PE	07°38'45"S/39°19'34"O	940 m	MS	8.100 m ² .h
Sítio São Raimundo, Jardim, CE	07°29'28"S/39°20'28"O	898 m	CE	8.100 m ² .h
Sítio Seriemá, Jardim, CE	07°32'18"S/39°19'16"O	820 m	CE	8.100 m ² .h
Sítio Pitomba, Serrita, PE	07°39'23"S/39°20'03"O	837 m	CA	8.100 m ² .h

* Esforço amostral total de 48.600 m².h

outra em período seco (outubro), nos anos de 2010 e 2011, e uma campanha apenas entre os períodos chuvoso e seco, em abril de 2012. Em cada campanha foram realizadas seis noites consecutivas, totalizando 30 noites de amostragem. As capturas foram realizadas nas quatro fitofisionomias mencionadas por Figueira (1989) (Fig. 2), contudo, não houve padronização do esforço amostral para as diferentes fisionomias. A amostragem foi realizada em cinco localidades nos municípios de Barbalha, Jardim e Serrita (Tabela 1) e fez parte do monitoramento da quiropterofauna da Linha de Transmissão Iracema 500 kV São João do Piauí-Milagres.

A amostragem de morcegos foi feita através de capturas usando 10 redes de neblina (Zootech® 9 × 3 m, 20 mm), armadas em trilhas, clareiras na vegetação, em frente a abrigos, pontos de alimentação ou sobre açudes artificiais cercados por vegetação natural, conforme métodos de Kunz & Kurta (1988). As redes foram abertas imediatamente após o por do sol e fechadas seis horas após, totalizando 6h de amostragem por noite, concentrando as capturas no maior horário de atividade dos morcegos (Brown, 1968; Laval, 1970). O esforço amostral foi calculado conforme Straube & Bianconi (2002), e a eficiência de captura (EC) foi calculada através da divisão do número total de capturas pelo esforço amostral empregado. As espécies foram classificadas em guildas tróficas seguindo Kalko *et al.* (1996).

Os morcegos capturados foram identificados previamente em campo usando os caracteres propostos por Vizotto & Taddei (1973), Simmons & Voss (1998) e Reis *et al.* (2007), marcados com anilhas metálicas no antebraço e soltos no mesmo local de captura. Alguns exemplares foram eutanasiados para confirmação taxonômica, seguindo as normas propostas por Sikes *et al.* (2011), e depositados na Coleção de Mamíferos do Museu Nacional do Rio de Janeiro e Coleção de Morcegos da Universidade Federal de Lavras (Apêndice). O presente estudo possui licença do IBAMA, processo no. 02001.001113/2008-11, autorização no. 192/2010.

Lista compilada

Nós realizamos uma compilação das espécies de morcegos com ocorrência na Chapada do Araripe através de revisão na literatura, sendo considerados apenas artigos científicos publicados em periódicos e capítulos de livro de circulação livre. A busca foi realizada através de bases de dados disponíveis na web, como Scientific Electronic Library Online – SciELO (www.scielo.org/php/index.php), Web of Science – WoS (<http://portal.isiknowledge.com>) e Google Scholar (<http://scholar.google.com.br>). A busca foi realizada com a combinação de palavras-chave como “Chiroptera”, “morcego”, “Brasil”, “Caatinga” e “Araripe”, nos idiomas inglês e português.

Adotamos a ordem de citação de famílias e subfamílias proposta por Simmons (2005) e a nomenclatura adotada seguiu Peracchi *et al.* (2011). Gêneros e espécies são apresentados em ordem alfabética.

RESULTADOS

Foi realizado um esforço amostral total de 48.600 m².h, sendo 8.100 m².h para cada uma das seis localidades amostradas. O esforço amostral foi diferente para as fisionomias, sendo de 8.100 m².h para a mata úmida, 16.200 m².h para mata seca, 16.200 m².h para o cerrado arbóreo e 8.100 m².h para o carrasco. A eficiência de captura na Chapada do Araripe foi de 0,0041 morcego/m².h. A amostragem permitiu a captura de 200 morcegos de 24 espécies distribuídas em seis famílias. Contudo, embora não tenha sido capturado em rede de neblina, um exemplar de *Eumops auripendulus* (Shaw, 1800) foi encontrado atropelado em outubro de 2011 na rodovia CE-060, que corta um trecho da Chapada de Araripe entre Barbalha e Jardim. Os resultados estão sumarizados na Tabela 2 e uma prancha com as fotografias dos morcegos na Fig. 3.

A família Phyllostomidae foi a mais abundante, tanto em número de espécies quanto em capturas,

TABELA 2: Morcegos amostrados na Chapada do Araripe, incluindo guilda trófica (IAE = Insetívoro aéreo, HEM = Hematófago, NEC = Nectarívoro, ICA = Insetívoro catador, ONI = Onívoro, FRU = Frugívoro, PIS = Piscívoro), habitats (CA = Carrasco, CE = Cerrado arbóreo, UM = Mata Úmida, MS = Mata Seca), número de capturas (N), frequência (%).

Espécies	Guilda Trófica	Habitat	N	%
Emballonuridae				
<i>Peropteryx macrotis</i>	IAE	CA	4	1,99
Phyllostomidae				
<i>Desmodus rotundus</i>	HEM	CE	2	0,99
<i>Anoura geoffroyi</i>	NEC	MU, CE	5	2,48
<i>Lonchophylla mordax</i>	NEC	CE	1	0,49
<i>Glossophaga soricina</i>	NEC	MU, MS, CE, CA	26	12,9
<i>Micronycteris sanborni</i>	ICA	CE	1	0,49
<i>Phyllostomus discolor</i>	ONI	MU, CE	3	1,49
<i>Phyllostomus hastatus</i>	ONI	MU, MS, CE	5	2,48
<i>Carollia perspicillata</i>	FRU	MU, MS, CE, CA	50	24,8
<i>Artibeus lituratus</i>	FRU	MU, MS, CE, CA	11	5,57
<i>Artibeus planirostris</i>	FRU	MU, MS, CE, CA	19	9,45
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	FRU	MU, MS, CE	33	16,4
<i>Sturnira lilium</i>	FRU	MU, MS, CE	11	5,57
<i>Sturnira tildae</i>	FRU	MU	2	0,99
Mormoopidae				
<i>Pteronotus gymnotus</i>	IAE	CA	4	1,99
<i>Pteronotus parnelli</i>	IAE	CA	1	0,49
Noctilionidae				
<i>Noctilio leporinus</i>	PIS	CA	1	0,49
Molossidae				
<i>Cynomops planirostris</i>	IAE	MS	1	0,49
<i>Eumops auripendulus*</i>	IAE	CE	1	0,49
<i>Molossus molossus</i>	IAE	MS, CA	11	5,57
<i>Neoplatymops mattogrossensis</i>	IAE	CA	1	0,49
<i>Promops nasutus</i>	IAE	CE	1	0,49
Vespertilionidae				
<i>Lasiurus blossevilli</i>	IAE	MU, MS, CE	3	1,49
<i>Lasiurus ega</i>	IAE	CE	1	0,49
<i>Myotis lavalii</i>	IAE	CE	3	1,49
Total			201	100

* Espécie registrada por atropelamento.

sendo *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758) a espécie mais frequente com 24,8% de todas as capturas, seguido por *Platyrrhinus lineatus* (É. Geoffroy, 1810) e *Glossophaga soricina* (Pallas, 1766) com 16,4% e 12,9%, respectivamente. Embora todos os indivíduos capturados e soltos tivessem sido marcados, não houve recaptura de nenhum morcego. Quatro espécies são consideradas novos registros para o Estado do Ceará, são elas *Sturnira tildae* de la Torre, 1959, *Pteronotus gymnotus* Natterer, 1843, *Cynomops planirostris* (Peters, 1865) e *Promops nasutus* (Spix, 1823).

A guilda dos insetívoros aéreos foi a que apresentou a maior riqueza de espécies (11 spp.), contudo, os morcegos frugívoros foram os mais abundantes, re-

TABELA 3: Número de captura de morcegos por guilda trófica em diferentes habitats amostrados, sendo Carrasco (CA), Cerrado Arbóreo (CE), Mata Seca (MS), Mata Úmida (MU), além de número total de captura (N) e abundância relativa (%) na Chapada do Araripe.

Guilda trófica	Habitats amostrados				N Total	% Total
	CA	CE	MS	MU		
Insetívoros aéreos	19	7	4	1	31	15,4
Insetívoros catadores	0	1	0	0	1	0,49
Hematófagos	0	2	0	0	2	0,99
Nectarívoros	1	7	18	6	32	15,8
Onívoros	0	3	3	2	8	3,97
Frugívoros	6	39	48	33	126	62,7
Piscívoros	1	0	0	0	1	0,49
Total	27	59	73	42	201	100

presentando 62,7% de todas as capturas (Tabela 3). É importante ressaltar que grande parte dos morcegos insetívoros aéreos (83,8%) foi capturada em ambientes xerófitos (Carrasco e Cerrado), enquanto a maior parte dos morcegos fitófagos (frugívoros e nectarívoros = 66,4%) foi capturada nos habitats mais úmidos (Mata Seca e Mata Úmida).

A colocação de redes de neblina no entorno de coleções d'água se mostrou essencial para a amostragem, sobretudo para o registro das espécies insetívoras e piscívora. A amostragem realizada no entorno de açudes e riachos permitiu a captura de oito espécies e significou 70,9% de todas as capturas de morcegos insetívoros.

Lista compilada e atualizações taxonômicas

A busca nas bases de dados disponíveis na web encontrou 77 trabalhos, destes, apenas nove estavam relacionados com o tema buscado (Mares *et al.*, 1981, 1985; Willig, 1983, 1985a, b; Willig *et al.*, 1993; Simmons, 1996; Oliveira *et al.*, 2003; Moratelli *et al.*, 2011). Todavia, devido à sobreposição de resultados obtidos por diferentes trabalhos publicados oriundos do mesmo projeto, apenas cinco artigos foram utilizados como fontes de dados para compilação das espécies com ocorrência na Chapada do Araripe (sendo: Mares *et al.*, 1981; Willig, 1983; Simmons, 1996; Oliveira *et al.*, 2003; Moratelli *et al.*, 2011).

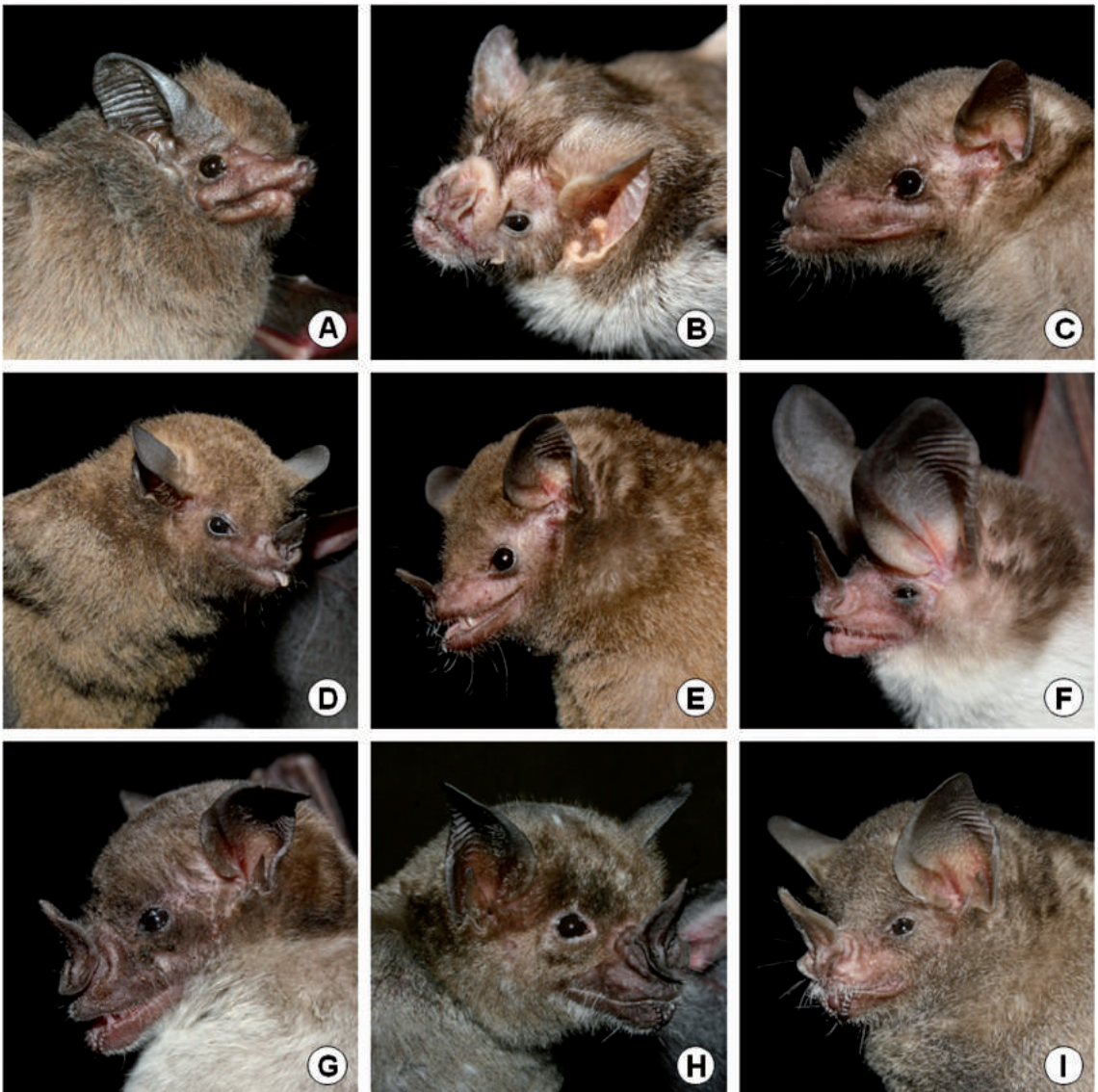


FIGURA 3A: Espécies de morcegos capturadas na Chapada do Araripe, sendo: *Peropteryx macrotis* (A), *Desmodus rotundus* (B), *Anoura geoffroyi* (C), *Lonchophylla mordax* (D), *Glossophaga soricina* (E), *Micronycteris sanborni* (F), *Phyllostomus discolor* (G), *Phyllostomus hastatus* (H), *Carollia perspicillata* (I). Fotos por Roberto Leonan Morim Novaes.

A compilação feita a partir da literatura permitiu registrar a ocorrência de 44 espécies, e a ocorrência de outras cinco espécies foram adicionadas pelo presente estudo. Portanto, a Chapada do Araripe possui 49 espécies de morcegos registradas, distribuídas em oito famílias (Tabela 4). Os registros foram provenientes de seis municípios nos Estados do Ceará e Pernambuco. É importante ressaltar que nenhum estudo com morcegos foi realizado na Chapada do Araripe na vertente do Piauí. Atualizações taxonômicas e nomenclaturais seguem abaixo.

Conforme indicado por revisões recentes (ver Lim, 1997; Marques-Aguiar, 2007; Hooper *et al.*, 2008), o nome *Artibeus planirostris* Spix, 1823 é usa-

do em substituição a *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821 mencionado por Willig (1983) com ocorrência na Chapada do Araripe.

Seguindo a proposta de Garbino & Tejedor (2013), a combinação *Natalus macrourus* (Gervais, 1856) é usada em substituição à *Natalus stramineus* Gray, 1838, citado para a Chapada do Araripe por Willig (1983).

Consideramos *Molossus rufus* É. Geoffroy, 1805 como sinônimo sênior para *Molossus ater* (mencionado por Willig, 1983), conforme proposto por Dolan (1989).

A revisão feita por Eger (2007) menciona a ocorrência de *Promops nasutus* no município de Exu ba-

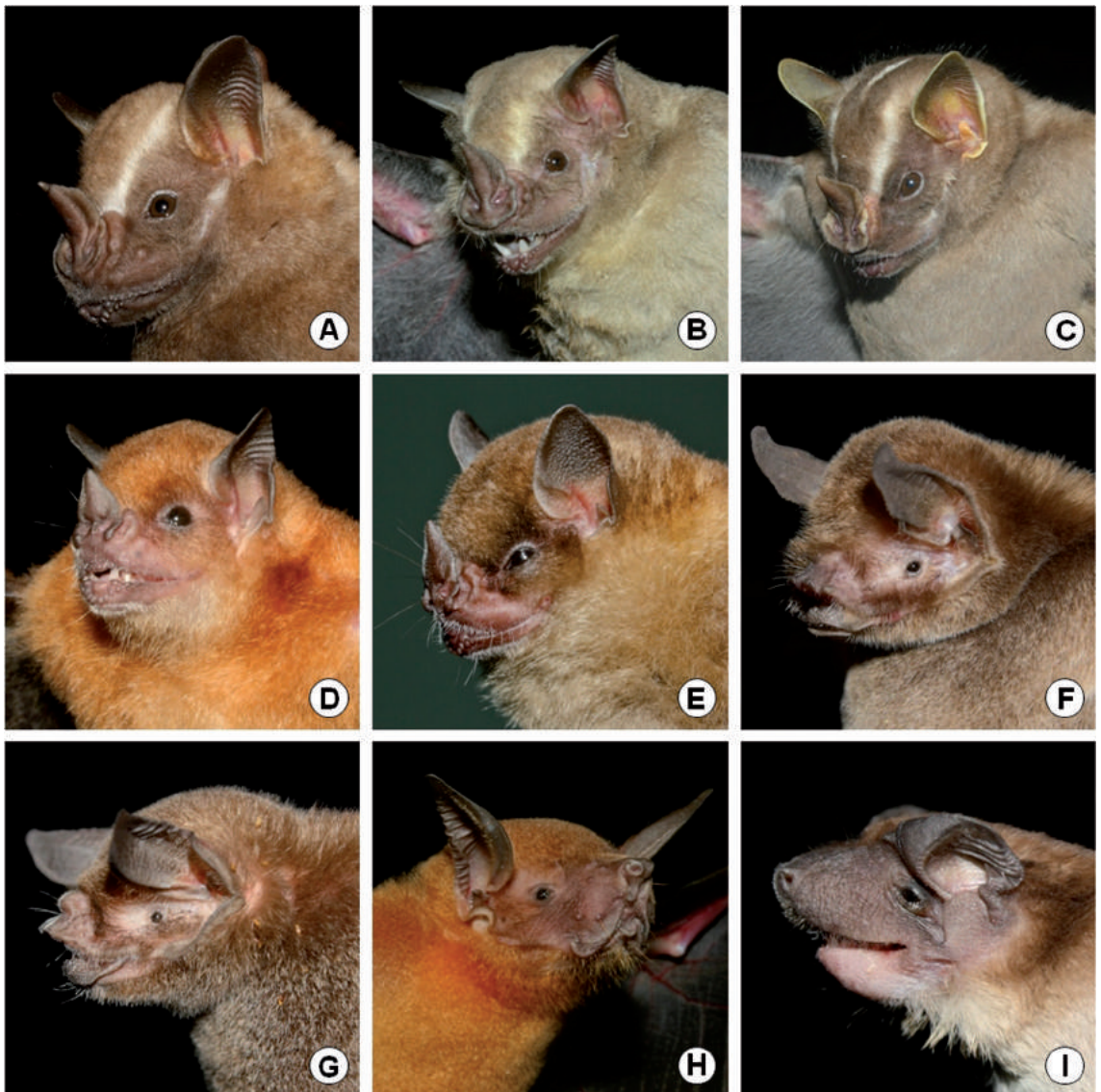


FIGURA 3B: Espécies de morcegos capturadas na Chapada do Araripe, sendo: *Artibeus lituratus* (A), *Artibeus planirostris* (B), *Platyrrhinus lineatus* (C), *Sturnira lilium* (D), *Sturnira tildae* (E), *Pteronotus gymnonotus* (F), *Pteronotus parnelli* (G), *Noctilio leporinus* (H), *Cynomops planirostris* (I). Fotos por Roberto Leonan Morim Novaes.

seado no trabalho de Mares *et al.* (1981), que relata a captura de um indivíduo de *Promops* sp. para essa localidade. Contudo, um estudo posterior utilizando o mesmo material coletado por Mares *et al.* (*op cit.*) não menciona a ocorrência de qualquer espécie de *Promops* nessa região (Willig, 1983). Sendo assim, devido a poucas evidências fornecidas por Eger (2007) que confirmem a ocorrência de *P. nasutus* na Chapada do Araripe, nós não consideramos esse registro em nosso trabalho.

A combinação *Lasiurus blossevilli* (Lesson, 1826) é usada em substituição a *Lasiurus borealis* (Müller, 1776), mencionado por Willig (1983).

DISCUSSÃO

A amostragem realizada por nós registrou apenas 51% das espécies de morcegos com ocorrência na Chapada do Araripe, contudo, foi capaz de registrar cinco espécies que não haviam sido reportadas no levantamento realizado anteriormente por Willig (1983), sendo *Sturnira tildae*, *Pteronotus gymnonotus*, *Pteronotus parnelli* (Gray, 1843), *Eumops auripendulus* e *Promops nasutus*. Isso pode ser um indicativo da possibilidade de novas ocorrências de espécies de morcegos que ainda não foram registradas por ambos os levantamentos nessa região, especialmente nas lo-



FIGURA 3C: Espécies de morcegos capturadas na Chapada do Araripe, sendo: *Eumops auripendulus* (A), *Molossus molossus* (B), *Neoplattymops mattogrossensis* (C), *Promops nasutus* (D), *Lasiurus blossevilli* (E), *Lasiurus ega* (F), *Myotis lavalii* (G). Fotos por Roberto Leonan Morim Novaes.

TABELA 4: Morcegos com ocorrência nos diferentes municípios inseridos na Chapada do Araripe, nordeste do Brasil. Registros obtidos em [1] Mares *et al.* (1981), [2] Willig (1983), [3] Simmons (1996), [4] Oliveira *et al.* (2003), [5] Moratelli *et al.* (2011) e [6] presente estudo.

Espécies	Barbalha	Crato	Jardim	Nova Olinda	Exu	Serrita
Emballonuridae						
<i>Peropteryx macrotis</i>	—	—	—	—	[1]	[6]
<i>Saccopteryx bilineata</i>	—	[1]	—	—	—	—
<i>Saccopteryx leptura</i>	—	[1]	—	—	—	—
Phyllostomidae						
Desmodontinae						
<i>Desmodus rotundus</i>	—	[1]	[6]	[1]	[1]	—
<i>Diphylla ecaudata</i>	—	—	—	—	[1]	—
Glossophaginae						
<i>Anoura geoffroyi</i>	[6]	[1]	[6]	[1]	[1]	—
<i>Glossophaga soricina</i>	[6]	[1]	[6]	—	[1]	[6]
<i>Lonchophylla mordax</i>	—	—	[6]	[1]	[1]	—
Phyllostominae						
<i>Lophostoma brasiliense</i>	—	—	—	—	[1]	—
<i>Lophostoma silvicolium</i>	—	—	—	—	[2]	—
<i>Micronycteris minuta</i>	—	[1]	—	—	[1]	—
<i>Micronycteris megalotis</i>	—	[2]	—	—	[2]	—
<i>Micronycteris sanborni</i>	—	[3]	[6]	[4]	[4]	—
<i>Micronycteris schmidtorum</i>	—	—	—	—	[4]	—
<i>Mimon crenulatum</i>	—	—	—	—	[1]	—
<i>Phyllostomus discolor</i>	[6]	[1]	[6]	—	[1]	—
<i>Phyllostomus hastatus</i>	[6]	[1]	[6]	—	[1]	[6]
<i>Tonatia bidens</i>	—	—	—	—	[1]	—
<i>Trachops cirrhosus</i>	—	—	—	—	[1]	—
Carolliinae						
<i>Carollia brevicauda</i>	—	[4]	—	—	—	—
<i>Carollia perspicillata</i>	[6]	[1]	[6]	[1]	[1]	[6]
Stenodermatinae						
<i>Artibeus concolor</i>	—	[1]	—	—	—	—
<i>Artibeus lituratus</i>	[6]	[1]	[6]	[1]	[1]	[6]
<i>Artibeus planirostris</i>	[6]	[1]	[6]	[1]	[1]	[6]
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	[6]	[1]	[6]	[1]	[1]	[6]
<i>Sturnira lilium</i>	[6]	[1]	[6]	—	[1]	—
<i>Sturnira tildae</i>	[6]	—	—	—	—	—
<i>Uroderma magnirostrum</i>	—	[2]	—	—	[2]	—
Mormoopidae						
<i>Pteronotus davyi</i>	—	[1]	—	—	[1]	—
<i>Pteronotus gymnonotus</i>	—	[6]	—	—	—	[6]
<i>Pteronotus parnelli</i>	—	—	—	—	—	[6]
Noctilionidae						
<i>Noctilio leporinus</i>	—	[1]	—	—	[1]	[6]
Furipteridae						
<i>Furipterus borrens</i>	—	—	—	—	[1]	—
Natalidae						
<i>Natalus macrourus</i>	—	[1]	—	—	—	—
Molossidae						
<i>Cynomops planirostris</i>	—	—	[6]	—	[1]	—
<i>Eumops auripendulus</i>	—	—	[6]	—	—	—
<i>Eumops</i> sp.	—	[2]	—	—	—	—
<i>Molossops temminckii</i>	—	[1]	—	—	[1]	—
<i>Molossus molossus</i>	—	[1]	[6]	—	[1]	[6]

Espécies	Barbalha	Crato	Jardim	Nova Olinda	Exu	Serrita
<i>Molossus rufus</i>	—	—	—	[1]	[1]	—
<i>Neoplatymops mattogrossensis</i>	—	—	—	—	[1]	[6]
<i>Nyctinomops laticaudatus</i> ³	—	[2]	—	—	[1]	—
<i>Promops nasutus</i>	—	—	[6]	—	—	—
Vespertilionidae						
<i>Eptesicus furinalis</i>	—	[1]	—	—	—	—
<i>Lasiurus blossevilli</i>	[6]	[1]	[6]	—	—	—
<i>Lasiurus ega</i>	—	[1]	[6]	—	[1]	—
Myotinae						
<i>Myotis nigricans</i>	—	[1]	—	—	[1]	—
<i>Myotis lavalii</i>	—	[5]	[6]	—	[5]	—
<i>Myotis riparius</i>	—	[4]	—	—	[4]	—

calidades ainda não amostradas. Sendo assim, encorajamos a continuidade da amostragem de morcegos nessa chapada, especialmente na vertente mais próxima ao Piauí, para o qual nunca houve nenhum levantamento de quirópteros.

As capturas de *S. tildae* foram realizadas exclusivamente na mata úmida, figurando o primeiro registro dessa espécie para o Estado do Ceará e para o bioma Caatinga. Embora esteja inserida dentro do domínio da Caatinga, a localidade de captura de *S. tildae* é caracterizada como Floresta subperenifolia tropical plúvio-nebular, uma fitofisionomia semelhante à Mata Atlântica, tanto nos elementos da paisagem quanto em fatores abióticos, como a maior umidade e menor incidência de radiação solar no interior da floresta (Figueira, 1989). Considerando a distribuição dessa espécie, é provável que sua ocorrência esteja associada à habitats florestais mais úmidos. A mata úmida foi uma fisionomia pouco explorada no levantamento realizado por Willig (1983), o que deve ter dificultado o registro dessa espécie.

As outras quatro novas ocorrência para a Chapada do Araripe são de morcegos insetívoros aéreos, que são mais difíceis de serem registrados através de capturas com redes de neblina, já que possuem uma colocação mais eficiente na detecção das redes de neblina e costumam forragear em grandes alturas, acima da vegetação (Freeman, 1981; Adams, 1989; Best *et al.*, 2002).

Quatro indivíduos de *P. gymnotus* foram capturados em rede de neblina em Serrita e uma colônia com cerca de 800 indivíduos dessa espécie foi encontrada se abrigando em uma cavidade natural em rocha arenítica (Gruta do Farias) no Arajara Park, uma Reserva Particular do Patrimônio Natural localizada em Crato (veja Novaes, 2012), sendo o primeiro registro dessa espécie para o Ceará. Já *P. parnelli* foi registrado por apenas um indivíduo capturado em rede de neblina. Por ser tratar de uma fêmea grávida, o indivíduo

foi fotografado, marcado e solto no mesmo local de captura.

Eumops auripendulus foi registrado somente através de um indivíduo atropelado coletado na rodovia CE-060. A área onde o indivíduo foi encontrado apresentava dois grandes açudes nas margens da rodovia, além de uma extensa vegetação de cerrado arbóreo. Considerando o comportamento de voo em grandes alturas de *E. auripendulus* e o local do atropelamento, é provável que a colisão com algum veículo tenha ocorrido enquanto o animal usava um dos açudes do entorno da rodovia para beber água, ou capturar insetos sobre o espelho d'água.

Um indivíduo de *P. nasutus* foi capturado em rede de neblina armada em torno de um açude artificial circundado por vegetação de Cerrado arbóreo. É digno de nota que este é o segundo registro documentado de *P. nasutus* para a Caatinga e o primeiro para o Ceará.

O levantamento feito por nós registrou um número de espécies dentro do esperado para áreas de Caatinga e Cerrado, que normalmente reportam entre 15 e 25 espécies (Willig, 1983; Pedro & Taddei, 1997; Silva *et al.*, 2004b; Tomáz & Zoréa, 2008; Gregorin *et al.*, 2011). Contudo, estudos de longo prazo que empreguem um esforço amostral superior tendem a apresentar uma riqueza de espécies consideravelmente maior (*e.g.*, Esbérard, 2003; Sampaio *et al.*, 2003; Faria *et al.*, 2006; Sá-Neto & Marinho-Filho, 2013). Bergallo *et al.* (2003), sugerem que para amostrar a maior parte das espécies de Phyllostomidae seja necessário o mínimo de 1.000 capturas de morcegos, que só é possível de ser alcançado com estudos de longo prazo ou com elevado esforço amostral, podendo assim gerar uma lista de espécies mais próxima da realidade.

A eficiência de captura na Chapada do Araripe apresenta valores semelhantes aos encontrados para outras áreas de Caatinga no Brasil. Silva (2007) obteve uma eficiência de 0,0038 morcegos/m².h em

Brejo de Madre de Deus, no Pernambuco, e Sá-Neto & Marinho-Filho (2013) de 0,0025 para a região do médio São Francisco na Bahia. Em uma área de Caatinga na Floresta Nacional Contendas do Sincorá, na Bahia, Rios *et al.* (2008) capturaram apenas 41 morcegos com um esforço amostral de 45.360 m².h (EC = 0,0009). Quando comparado com inventários na Floresta Atlântica e no Cerrado (*e.g.*, Ferreira *et al.*, 2010, EC = 0,0132; Cunha *et al.*, 2011, EC = 0,0119; Luz *et al.*, 2013, EC = 0,0201), a Caatinga apresenta uma capturabilidade consideravelmente menor. Sá-Neto & Marinho-Filho (2013) indicam que a baixa densidade de morcegos é um padrão comum na Caatinga devido à baixa produtividade primária e ao regime de chuvas irregular (Prado, 2003; Brown *et al.*, 2004), incluindo longos períodos de seca (Novaes *et al.*, 2013).

Os morcegos fitófagos foram os mais abundantes nesse levantamento, sobretudo nas áreas mais úmidas. A maior amostragem de morcegos fitófagos é esperada, considerando que Phyllostomidae é a família mais diversa da região Neotropical (Simmons, 2005), uma das mais abundantes e com maior sucesso de captura utilizando redes de neblina, possivelmente devido a sua colocação menos sensível e sua altura de forrageio mais baixa que o de morcegos insetívoros, (Portfors *et al.*, 2000; Sampaio *et al.*, 2003).

Somando nossos resultados aos dados obtidos por Willig (1983), foram registradas 49 espécies de morcegos na Chapada do Araripe, que compreende aproximadamente 63,6% das espécies com ocorrência para a Caatinga (Paglia *et al.*, 2012), indicando um importante papel dessa região para a conservação da quiropterofauna desse bioma.

RESUMO

A Chapada do Araripe é um planalto localizado dentro do domínio da Caatinga no nordeste brasileiro entre os Estados do Ceará, Pernambuco e Piauí. Possui uma grande variação altimétrica, o que confere uma variedade de fitofisionomias e uma dinâmica ambiental distinta das demais áreas de Caatinga. Com o objetivo de incrementar as parcas informações sobre a biodiversidade da Caatinga apresentamos aqui o resultado de um levantamento de espécies de morcegos, realizado entre 2010 e 2012, em cinco localidades da Chapada do Araripe, nos municípios de Barbalha e Jardim, no Ceará, e Serrita, em Pernambuco. Nosso levantamento registrou 25 espécies distribuídas em seis famílias, resultante da captura de 201 indivíduos. A amostragem registrou quatro novas ocorrências para o Estado do Ceará, Sturnira tildae,

Pteronotus gymnonotus, Cynomops planirostris e Promops nasutus. Uma compilação da literatura revelou que na Chapada do Araripe ocorrem 49 espécies de morcegos distribuídas em oito famílias, o que representa 64% das espécies de morcegos da Caatinga.

PALAVRAS-CHAVE: Chiroptera; Caatinga; Comunidade; Levantamento de espécies.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos à Ana Cláudia Delciellos, Carlos Cândido, Igor Catharino de Souza, Eduardo Felberg, William de Paula, Thiago Marques e Mara Silva pela ajuda no trabalho de campo; à Renato Gregorin pela ajuda na identificação de alguns espécimes; à Dossel Ambiental Consultoria e Projetos Ltda. pela oportunidade de trabalhar nessa região; aos revisores anônimos pelas valiosas sugestões. R.L.M. Novaes agradece a bolsa PIBIC CNPq/Fiocruz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, J.K. 1989. *Pteronotus davyi*. *Mammalian Species*, 346: 1-5.
- AGUIAR, J.; LACHER JR., T.E. & SILVA, J.M.C. 2002. The Caatinga. In: Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Robles-Gil, P.; Pilgrim, J.; Fonseca, G.A.B.; Brooks, T. & Konstant, W.R. (Eds.). *Wildmess: earth's last wild places*. Santa Madre, Cemex Agrupación Santa Madre. p. 174-181.
- BERGALLO, H.G.; ESBÉRARD, C.E.L.; MELLO, M.A.R.; LINS, V.; MANGOLIN, R.; MELO, G.G.S. & BAPTISTA, M. 2003. Bat species richness in Atlantic Forest: what is the minimum sampling effort? *Biotropica*, 35(2): 278-288.
- BERNARD, E.; AGUIAR, L.M.S. & MACHADO, R.B. 2011. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? *Mammal Review*, 41(1): 23-39.
- BEST, T.L.; HUNT, J.L.; MCWILLIAMS, L.A. & SMITH, K.G. 2002. *Eumops euripendulus*. *Mammalian Species*, 708: 1-5.
- BROWN, J.H. 1968. Activity patterns of some neotropical bats. *Journal of Mammalogy*, 49(4): 754-757.
- BROWN, J.H.; GILLOOLY, J.F.; ALLEN, A.P.; SAVAGE, V.M. & WEST, G.B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85: 1771-1789.
- CASTRO, A.A.J.F. 1996. Cerrados do Brasil e do Nordeste: considerações sobre os fatores ecológicos atuantes, ocupação, conservação e fitodiversidade. *Revista Econômica do Nordeste*, 27(2): 183-205.
- COSTA, I.R.; ARAÚJO, F.S. & LIMA-VERDE, L.W. 2004. Flora e aspectos auto-ecológicos de um enclave de cerrado na Chapada do Araripe, nordeste do Brasil. *Acta Botânica Brasilica*, 18(4): 759-770.
- CUNHA, N.L.; FISCHER, E. & SANTOS, C.F. 2011. Bat assemblage in savanna remnants of Sonora, central-western Brazil. *Biota Neotropica*, 11(3): 197-201.
- DNPM – DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. 1996. *Projeto de avaliação hidrogeológica da Bacia Sedimentar do Araripe*. Recife, Ministério de Minas e Energia, Delegacia de Pernambuco. 101p.

- DOLAN, P.G. 1989. Systematics of Middle American mastiff bats of the genus *Molossus*. *Special Publications, Texas Tech Museum University*, 29: 1-71.
- EGER, J.L. 2007. Family Molossidae. In: Gardner, A.L. (Ed.). *Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats*. Chicago, The University of Chicago Press. p. 399-439.
- ESBÉRDARD, C.E.L. 2003. Diversidade de morcegos em área de Mata Atlântica regenerada no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zociências*, 5(2): 189-204.
- FARIA, D.; SOARES-SANTOS, B. & SAMPAIO, E. 2006. Bats from the Atlantic rainforest of southern Bahia, Brazil. *Biota Neotropica*, 6: 2-13.
- FERREIRA, C.M.M.; FISCEHR, E. & PULCHÉRIO-LEITE, A. 2010. Fauna de morcegos em remanescentes urbanos de Cerrado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Biota Neotropica*, 10(3): 155-160.
- FIGUEIRA, M.A. 1989. *Atlas do Ceará, vegetação*. Fortaleza, Fundação Instituto de Planejamento do Ceará. 25p.
- FREEMAN, P.W. 1981. A multivariate study of the family Molossidae (Mammalia: Molossidae): morphology, ecology, evolution. *Fieldiana Zoology*, 7: 1-173.
- GARBINO, G.S.T. & TEJEDOR, A. 2013. *Natalus macrourus* (Gervais, 1856) (Chiroptera: Natalidae) is a senior synonym of *Natalus espiritosantensis* (Ruschi, 1951). *Mammalia*, 77(2): 237-240.
- GREGORIN, R.; GONÇALVES, E.; AIRES, C.C. & CARMIGNOTTO, A.P. 2011. Morcegos (Mammalia: Chiroptera) da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins: composição específica e considerações taxonômicas. *Biota Neotropica*, 11(1): 299-311.
- HOOFER, S.R.; SOLARI, S.; LARSEN, P.A.; BRADLEY, R.D. & BAKER, R.J. 2008. Phylogenetics of the fruit-eating bats (Phyllostomidae: Artibeina) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University*, 277: 1-15.
- KALKA, M.B.; SMITH, A.R. & KALKO, E.K.V. 2008. Bats limit arthropods and herbivory in a tropical forest. *Science*, 320: 71.
- KALKO, E.K.V.; HANDLEY, G.O. & HANDLEY, D. 1996. Organization, diversity, and long-term dynamics of a neotropical bat community. In: Cody, M.L. & Smallwood, J.A. (Eds.). *Long term studies in vertebrate communities*. San Diego, Academic Press. p. 503-553.
- KUNZ, T.H. & KURTA, A. 1988. Capture methods and holding devices. In: Kunz, T.H. (Ed.). *Ecology and behavioral methods for the study of bats*. Washington, Smithsonian Institution Press. p. 1-30.
- LAVAL, R.K. 1970. Banding returns and activity periods of some Costa Rican bats. *Southwestern Naturalist*, 15: 1-10.
- LIM, B.K. 1997. Morphometric differentiation and species status of the allopatric fruit-eating bats *Artibeus jamaicensis* and *A. planirostris* in Venezuela. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 32: 65-71.
- LUZ, J.L.; COSTA, L.M.; JORDÃO-NOGUEIRA, T.; ESBÉRDARD, C.E.L. & BERGALLO, H.G. 2013. Morcegos em área de Floresta Montana, Visconde de Mauá, Resente, Rio de Janeiro. *Biota Neotropica*, 13(2): 1-6.
- MARES, M.A.; WILLIG, M.R. & LACHER, T.E. 1985. The Brazilian Caatinga in South America zoogeography: tropical mammals in a dry region. *Journal of Biogeography*, 12: 57-69.
- MARES, M.A.; WILLIG, M.R.; STREILEN, K.E. & LACHER, T.E. 1981. The mammals of northeastern Brazil: a preliminary assessment. *Annals of Carnegie Museum*, 50(4): 81-137.
- MARQUES-AGUIAR, S.A. 2007. Genus *Artibeus*. In: Gardner, A.L. (Ed.). *Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats*. Chicago, The University of Chicago Press. p. 301-321.
- MELLO, M.A.R.; MARQUETTI, F.M.D.; GUIMARÃES JR., P.R.; KALKO, E.K.V.; JORDANO, P. & AGUIAR, M.A.M. 2011. The missing part of seed dispersal networks: structure and robustness of bat-fruit interactions. *PLoSOne*, 6(2): e17395.
- MORATELLI, R.; PERACCHI, A.L.; DIAS D. & OLIVEIRA, J.A. 2011. Geographic variation in South American populations of *Myotis nigricans* (Chiroptera, Vespertilionidae), with the description of two new species. *Mammalian Biology*, 76: 592-607.
- NASCIMENTO, J.L.X. 1996. *Aves da Floresta Nacional do Araripe, Ceará*. Brasília, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente Recursos Renováveis.
- NOVAES, R.L.M. 2012. Morcegos e cavernas: uma história escondida de evolução, conservação e preconceito. *Ciência Hoje*, 294(49): 40-44.
- NOVAES, R.L.M.; FELIX, S. & SOUZA, R.F. 2013. Save Caatinga from drought disaster. *Nature*, 498: 170.
- OLIVEIRA, J.A.; GONÇALVES, P.R. & BONVICINO, C.R. 2003. Mamíferos da Caatinga. In: Leal, I.R.; Tabarelli, M. & Silva, J.M.C. (Orgs.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife, Editora da Universidade Federal de Pernambuco. p. 275-334.
- PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; LEITE, Y.L.R.; COSTA, L.P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M.C.M.; MENDES, S.L.; TAVARES, V.C.; MITTMEIER, R.A. & PATTON, J.L. 2012. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. 2. ed. Occasional Papers in Conservation Biology, 6:1-76.
- PEDRO, W.A. & TADDEI, V.A. 1997. Taxonomic assemblage of bats from Panga Reserve, Southeastern Brazil: abundance patterns and trophic relations in the Phyllostomidae (Chiroptera). *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*, 6: 3-21.
- PERACCHI, A.L.; LIMA, I.P.; NOGUEIRA, M.R. & ORTÊNCIO-FILHO, H. 2011. Ordem Chiroptera. In: Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Pedro, W.A. & Lima, I.P. (Orgs.). *Mamíferos do Brasil*. 2. ed. Londrina, Editora da Universidade Estadual de Londrina. p. 155-234.
- PORTFORS, C.V.; FENTON, M.B.; AGUIAR, L.M.S.; BAUMGARTEM, J.E.; VONHOF, M.J.; BOUCHARD, S.; FARIA, D.M.; PEDRO, W.A.; RAUNTENBACHN, I.L. & ZORTÉA, M. 2000. Bats from Fazenda dos Intervalos, Southeastern Brazil – species account and comparison between different sampling methods. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17(2): 533-558.
- PRADO, D.E. 2003. As caatingas da América do Sul. In: Leal, I.; Tabarelli, M. & Silva, J. (Eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife, Editora da Universidade Federal de Pernambuco. p. 3-73.
- REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; LIMA, I.P. & PEDRO, W.A. 2007. *Morcegos do Brasil*. Londrina, Editora da Universidade Estadual de Londrina. 253p.
- RIOS, G.F.P.; SÁ-NETO, R.J. & GRACIOLLI, G. 2008. Fauna de dípteros parasitas de morcegos em uma área de Caatinga do nordeste do Brasil. *Chiroptera Neotropical*, 14(1): 339-345.
- SAMPAIO, E.M.; KALKO, E.K.V.; BERNARD, E.; RODRÍGUEZ-HERRERA, B. & HANDLEY JR., C.O. 2003. A biodiversity assessment of bats (Chiroptera) in a tropical lowland rainforest of central Amazonia, including methodological and conservation considerations. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 38(1): 17-31.
- SÁ-NETO, R.J. & MARINHO-FILHO, J. 2013. Bats in fragments of xeric woodland caatinga in Brazilian semiarid. *Journal of Arid Environments*, 90: 88-94.
- SIKES, R.S.; GANNON, W.L. & ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY OF MAMMALOGISTS. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 92: 235-253.
- SILVA, L.A.M. 2007. *Comunidades de morcegos na Caatinga e brejos de altitude no agreste de Pernambuco*. (Tese de Doutorado). Universidade de Brasília, Distrito Federal. 161p.

- SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M. & FONSECA, M.T. 2004a. Áreas e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. In: Silva, J.M.C.; Tabarelli, M.; Fonseca M.T. & Lins, L.V. (Orgs.). *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Recife, Universidade Federal de Pernambuco & Ministério do Meio Ambiente. p. 350-374.
- SILVA, S.S.; GUEDES, P.G.; CAMARDELLA, A.R. & PERACCHI, A.L. 2004b. Survey of bats (Mammalia, Chiroptera), with comments on reproduction status, in Serra das Almas Private Heritage Reserve, in the state of Ceará, Northwestern of Brazil. *Chiroptera Neotropical*, 10: 191-195.
- SIMMONS, N.B. 1996. A new species of *Micronycteris* (Chiroptera: Phyllostomidae) from northeastern Brazil, with comments on phylogenetic relationships. *American Museum Novitates*, 3158: 1-34.
- SIMMONS, N.B. 2005. Order chiroptera. In: Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (Eds.). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Washington, Smithsonian Institution Press. p. 312-529.
- SIMMONS, N.B. & VOSS, R.S. 1998. *The mammals of Paracou, French Guiana: a Neotropical lowland rainforest fauna, Part 1. Bats*. Bulletin of the American Museum of Natural History, 237: 1-219.
- STRAUBE, F.C. & BIANCONI, G.V. 2002. Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar o esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiroptera Neotropical*, 8: 150-152.
- TIMM, R.M. 1994. The mammals fauna. In: Mcdade, L.A.; Bawa, K.S.; Hespeneide, H.A.; Hartshorn, G.S. (Eds.). *La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*. Chicago, University of Chicago Press. p. 229-237.
- TOMÁZ, L.A.G. & ZORTÉA, M. 2008. Composição faunística e estrutura de uma comunidade de morcegos do Cerrado de Niquelândia, Goiás. In: Reis, N.R.; Peracchi, A.L. & Santos, G.A.S.D. (Eds.). *Ecologia de morcegos*. Rio de Janeiro, Technical Books. p. 200-216.
- VIZOTTO, L.D. & TADDEI, V.A. 1973. Chave para a determinação de quirópteros brasileiros. *Revista da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de São José do Rio Preto, Boletim de Ciências*, 1: 1-72.
- WILLIG, M.R. 1983. Composition, microgeographic variation, and sexual dimorphism in Caatingas and Cerrado bat communities from Northeast Brazil. *Bulletin of Carnegie Museum of Natural History*, 23: 1-131.
- WILLIG, M.R. 1985a. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes in Northeast Brazil. *Journal of Mammalogy*, 66(4): 668-681.
- WILLIG, M.R. 1985b. Ecology, reproductive biology, and systematics of *Neoplatus mattogrossensis* (Chiroptera: Molossidae). *Journal of Mammalogy*, 66(4): 618-628.
- WILLIG, M.R.; CAMILO, G.R. & NOBILE, S.J. 1993. Dietary overlap in frugivorous and insectivorous bats from edaphic Cerrado habitats of Brazil. *Journal of Mammalogy*, 74(1): 117-128.

Aceito em: 06/07/2014
Publicado em: 30/09/2014

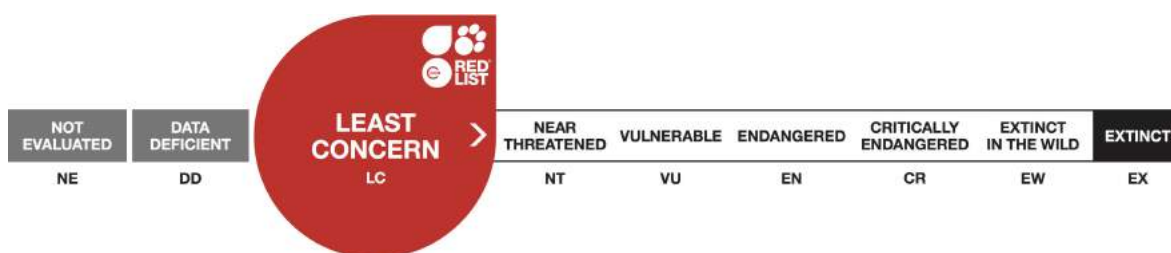
APÊNDICE

Morcegos da Chapada do Araripe depositados na Coleção de Mamíferos do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MN) e Coleção de Morcegos da Universidade Federal de Lavras (CMUFLA).

Anoura geoffroyi (MN79952), *Artibeus lituratus* (MN75220), *Artibeus planirostris* (MN79951), *Carollia perspicillata* (MN79924, MN79940, MN79948), *Eumops auripendulus* (MN75224), *Glossophaga soricina* (MN75221, MN75223, MN79931, MN79937, MN79928), *Lonchophylla mordax* (MN79927), *Lasiurus blossevili* (MN78413, MN79941), *Micronycteris sanborni* (MN79945), *Myotis lavalii* (MN79946, MN79925), *Molossus molossus* (MN75201), *Neoplatymops mattogrossensis* (MN79944), *Peropteryx macrotis* (MN79947), *Phyllostomus discolor* (MN75222), *Platyrrhinus lineatus* (MN75203, MN79923), *Promops nasutus* (CMUFLA1070), *Pteronotus gymnonotus* (MN75202, MN79949), *Sturnira lilium* (MN79942), *Sturnira tildae* (MN79939).

Mazama gouazoubira, Gray Brocket

Assessment by: Black-Decima, P.A. & Vogliotti, A.



View on www.iucnredlist.org

Citation: Black-Decima, P.A. & Vogliotti, A. 2016. *Mazama gouazoubira*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T29620A22154584. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T29620A22154584.en>

Copyright: © 2016 International Union for Conservation of Nature and Natural Resources

Reproduction of this publication for educational or other non-commercial purposes is authorized without prior written permission from the copyright holder provided the source is fully acknowledged.

Reproduction of this publication for resale, reposting or other commercial purposes is prohibited without prior written permission from the copyright holder. For further details see [Terms of Use](#).

The IUCN Red List of Threatened Species™ is produced and managed by the [IUCN Global Species Programme](#), the [IUCN Species Survival Commission \(SSC\)](#) and [The IUCN Red List Partnership](#). The IUCN Red List Partners are: [Arizona State University](#); [BirdLife International](#); [Botanic Gardens Conservation International](#); [Conservation International](#); [NatureServe](#); [Royal Botanic Gardens, Kew](#); [Sapienza University of Rome](#); [Texas A&M University](#); and [Zoological Society of London](#).

If you see any errors or have any questions or suggestions on what is shown in this document, please provide us with [feedback](#) so that we can correct or extend the information provided.

Taxonomy

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family
Animalia	Chordata	Mammalia	Cetartiodactyla	Cervidae

Taxon Name: *Mazama gouazoubira* (G. Fischer [von Waldheim], 1814)

Synonym(s):

- *Mazama gouazipira* (G. Fischer, 1814) [orth. error]

Common Name(s):

- English: Gray Brocket, Brown Brocket
- Spanish: Cabra Silvestre, Corzuela Común, Corzuela Parda, Guazu, Guazu Virá

Taxonomic Notes:

Six morphological forms pertaining to the concept of Brown Brocket adopted here have been described as subspecies of *Mazama simplicicornis* (= *M. gouazoubira*) or *M. gouazoubira* (Pinder and Leeuwenberg 1997). They are *argentina* Lönnberg, *auritus* Gray, *kozeritzi* Miranda-Ribeiro, *mexicanae* Hagmann, *namby* Fitzinger, and *superciliaris* Gray. In his review of Brazilian species of *Mazama*, Rossi (2000) interpreted the morphological differences that led authors to describe *auritus* Gray, *kozeritzi* Miranda-Ribeiro, *mexicanae* Hagmann, *namby* Fitzinger, and *superciliaris* Gray as individual variation among specimens of *Mazama gouazoubira*. We follow this author in not recognizing any subspecies from Brazil. The form *argentina* Lönnberg, not analyzed by Rossi (2000), remains the only one that could merit subspecific status. Nevertheless, a thorough analysis of the original description of *Mazama simplicicornis argentina* shows there are no characters in the type that cannot be explained by individual or geographical variation. Therefore, at the present time we see no reason to recognize either *argentina* Lönnberg or any other form cited above as subspecies of *Mazama gouazoubira*.

Assessment Information

Red List Category & Criteria: Least Concern [ver 3.1](#)

Year Published: 2016

Date Assessed: June 15, 2015

Justification:

This species is confirmed to be Least Concern in view of its relatively large distribution, occurrence in a number of protected areas, presumed large populations which do not appear to be declining at a rate sufficient for a threat category at this time. Recent studies indicate that the distribution and abundance of the species do not warrant a threatened status at this time although populations are declining where they come in contact with human populations.

Previously Published Red List Assessments

2008 – Least Concern (LC) – <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T29620A9506233.en>

2000 – Data Deficient (DD)

1996 – Lower Risk/least concern (LR/lc)

Geographic Range

Range Description:

The Brown Brocket deer is found east of the dry, pre-Andean regions in Argentina and Bolivia, extending to the Atlantic coast on the west, its northern limit is south of the Amazon region and its southern limit includes all of Uruguay and up to the province of Entre Rios in Argentina. Although some authors report its distribution throughout all of Brazil, more recent evidence indicates its substitution by *M. nemorivaga* in the region of the Amazon (Duarte 1996, Duarte and Jorge 1998, Rossi 2000, Weber and Gonzalez 2003).

Country Occurrence:

Native: Argentina; Bolivia, Plurinational States of; Brazil; Paraguay; Uruguay

Distribution Map

Mazama gouazoubira



Mazama gouazoubira

Range

Extant (resident)

Compiled by:
IUCN (International Union for Conservation of Nature)



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply any official endorsement, acceptance or opinion by IUCN.



Population

Populations seem to be decreasing due to the advance of human populations. There is no evidence of fragmented populations and the species continues to be abundant in most of its range, decreasing or disappearing when close to human populations. Densities vary greatly. In Brazil densities of 0.35 – 1 individual/km² have been found (Pinder 1997), in Bolivia densities of 5-12 individuals/km² have been found (Rivero *et al.* 2004).

Current Population Trend: Decreasing

Habitat and Ecology (see Appendix for additional information)

This species occurs in moderately humid to dry regions where there are areas of woody or brush cover. It is not found in the Amazon region and it avoids dense forests in other regions as well, although it occupies the edges of forests. It does not live in open areas but will feed in these areas, including many types of agricultural plantations, if cover is available nearby. It is found in both dry and moist Chaco regions (Cartes 1998, Chiarello 1999, Gonzalez 2004, Pinder 1997, Pinder and Leeuwenberg 1997, Rivero *et al.* 2005).

It eats a wide variety of plant species and is a selective feeder. It has pulses of frugivory depending on the area, season and availability of fruits, but is not essentially frugivorous in many areas, its habitat is not consistent with a frugivorous diet since it avoids forests where most of the fruit is found (Caballero 2001, Cartes 1998, Julia 2002, Pinder 1997, Stallings 1984).

Breeding occurs almost all year around with births in all months except May, June and July in Argentina and Bolivia and correlated with the rainy season in Brazil (Chavez 1999, Julia 2002). There is a post partum estrus and a gestation period of 7 months.

Mazama gouazoubira is a small to medium sized deer, with head and body length 882-1060 mm, tail length 83-190 mm, and ear length 95-121 mm (Rossi 2000), shoulder height 500-650 mm and weight 11-25 kg (Duarte and Jorge 1998). In Brazil, regional, ecological and individual variations in coloration of *M. gouazoubira* have frequently been reported (Duarte 1996, Pinder and Leeuwenberg 1997, Rossi 2000). Light and brownish colors prevail in individuals living in grasslands, while forest populations tend to be darker and grayer, significant individual variation exists within a single population. *M. gouazoubira* can be readily distinguished from the most similar species, the Amazonian Brown Brocket *Mazama nemorivaga*, by its orange rump and dorsal side of the tail, larger rounded ears, smaller eyes and orbital cavities, and wider auditory bulla rather than chocolate brown rump and dorsal side of the tail, small pointed ears, large eyes, large orbital cavities, and narrow auditory bulla of the latter species (Duarte 1996, Rossi 2000).

Systems: Terrestrial

Use and Trade

Trade of this species is probably increasing (Julia 2002 pers. comm.).

Threats (see Appendix for additional information)

In Argentina populations are generally declining due to hunting pressure and habitat loss. International hunting expeditions are organized in Argentina (Julia 2002). In Bolivia the populations seem to be staying constant in spite of great hunting pressure. In Brazil this is the most abundant deer species in the country, but populations are declining in certain areas (Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro). In Paraguay, the populations in general are remaining constant, but the species has disappeared from recently urbanized areas and areas of high human density. In general there is heaving hunting pressure and loss of animals due to kills by dogs as well as habitat loss.

Conservation Actions (see Appendix for additional information)

The species occurs in a number of protected areas throughout its distribution: 5 national parks and 9 provincial reserves in Argentina; in almost all national parks and private reserves in Paraguay; in 7 national protected areas in Bolivia and in numerous protected areas in Brazil. Hunting is illegal in many places (several Argentine provinces, for example) but the bans are not enforced. Recommended actions would be to implement and enforce controls on hunting, control stray dogs and to educate rural and village populations to conserve the deer rather than immediately trying to kill any individual that they see in the area.

Credits

Assessor(s): Black-Decima, P.A. & Vogliotti, A.

Reviewer(s): Zanetti, E.S.Z. & González, S.

Bibliography

- Caballero, M. 2001. Comparación de la dieta de la urina (*Mazama gouazoubira*) durante las épocas lluviosa y seca en la zona del Izozoz, Santa Cruz – Bolivia. Bachelor Thesis, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno.
- Cartes, J. L. 1998. Distribución y uso de hábitat de la corzuela parda en los Llanos de La Rioja, Argentina. Masters Thesis, National University of Cordoba.
- Chávez, V. 1999. Determinación de la estacionalidad de partos en urina (*Mazama guazoubira*). Trabajo de Pasantía.: 18 pp.
- Chiarello, A. G. 1999. Effects of fragmentation of the Atlantic forest on mammal communities in south-eastern Brazil. *Biological Conservation* 89: 71-82.
- Duarte, J.M.B. 1996. Guia de identificação de cervídeos brasileiros. FUNEP.
- Duarte, J. M. B. and Jorge, W. 1998. Análise citotaxonômica dos *Mazama* cinzas do Brasil (*Mazama gouazoubira* e *Mazama rondoni*). Not paginated, in: Duarte, J.M.B. Análise citogenética e taxonômica do gênero *Mazama* (Cervidae; Artiodactyla) no Brasil. Ph.D. Thesis, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- González, S. 2004. Biología y conservación de Cérvidos Neotropicales del Uruguay.: 57 pp.
- IUCN. 2016. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-2. Available at: www.iucnredlist.org. (Accessed: 04 September 2016).
- Julia, J. P. 2002. Autoecología de la corzuela parda (*Mazama gouazoubira*, Fisher 1814) en el noroeste Argentina. Ph.D. Thesis, Universidad de Salamanca.
- Pinder, L. 1997. Niche overlap among brown brocket deer, pampas deer and cattle in the Pantanal of Brazil. Ph.D. Thesis, University of Florida,.
- Pinder, L. and Leeuwenberg, F. 1997. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*, Fisher 1814). In: J. M. B. Duarte (ed.), *Biología e conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*, pp. 60-68. FUNEP, Jaboticabal, São Paulo, Brazil.
- Rivero, K., Rumiz, D. and Taber, A. 2004. Estimating brocket deer (*Mazama gouazoubira* and *M. americana*) abundance by dung pellet counts and other indices in seasonal Chiquitano forest habitats of Santa Cruz, Bolivia. *European Journal of Wildlife Research* 50: 161-167.
- Rivero, K., Rumiz, D. and Taber, A. 2005. Differential habitat use by two sympatric brocket deer species (*Mazama gouazoubira* and *M. americana*) in a seasonal Chiquitano forest of Bolivia. *Mammalia* 69: 169-183.
- Rossi, R.V. 2000. Taxonomia de *Mazama* Rafinesque, 1817 do Brasil (Artiodactyla, Cervidae). M.Sc. Thesis, Universidade de São Paulo.
- Stallings, J. R. 1984. Notes on feeding habits of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. *Biotropica* 16: 155-157.
- Weber, M. and González, S. 2003. Latin American deer diversity and conservation: a review of status and distribution. *Ecoscience* 10(4): 443-454.

Citation

Black-Decima, P.A. & Vogliotti, A. 2016. *Mazama gouazoubira*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T29620A22154584. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T29620A22154584.en>

Disclaimer

To make use of this information, please check the [Terms of Use](#).

External Resources

For [Images and External Links to Additional Information](#), please see the [Red List website](#).

Appendix

Habitats

(<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/classification-schemes>)

Habitat	Season	Suitability	Major Importance?
1. Forest -> 1.5. Forest - Subtropical/Tropical Dry	-	Marginal	-
1. Forest -> 1.6. Forest - Subtropical/Tropical Moist Lowland	-	Marginal	-
2. Savanna -> 2.1. Savanna - Dry	-	Marginal	-
2. Savanna -> 2.2. Savanna - Moist	-	Marginal	-
3. Shrubland -> 3.5. Shrubland - Subtropical/Tropical Dry	-	Suitable	Yes
3. Shrubland -> 3.6. Shrubland - Subtropical/Tropical Moist	-	Suitable	Yes
5. Wetlands (inland) -> 5.5. Wetlands (inland) - Permanent Freshwater Lakes (over 8ha)	-	Marginal	-
14. Artificial/Terrestrial -> 14.2. Artificial/Terrestrial - Pastureland	-	Marginal	-
14. Artificial/Terrestrial -> 14.3. Artificial/Terrestrial - Plantations	-	Marginal	-
14. Artificial/Terrestrial -> 14.6. Artificial/Terrestrial - Subtropical/Tropical Heavily Degraded Former Forest	-	Marginal	-

Threats

(<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/classification-schemes>)

Threat	Timing	Scope	Severity	Impact Score
11. Climate change & severe weather -> 11.2. Droughts	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
2. Agriculture & aquaculture -> 2.3. Livestock farming & ranching -> 2.3.2. Small-holder grazing, ranching or farming	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.1. Ecosystem conversion 1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
2. Agriculture & aquaculture -> 2.3. Livestock farming & ranching -> 2.3.3. Agro-industry grazing, ranching or farming	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.1. Ecosystem conversion 1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
4. Transportation & service corridors -> 4.1. Roads & railroads	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	2. Species Stresses -> 2.1. Species mortality		

5. Biological resource use -> 5.1. Hunting & trapping terrestrial animals -> 5.1.1. Intentional use (species is the target)	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	2. Species Stresses -> 2.1. Species mortality		
5. Biological resource use -> 5.1. Hunting & trapping terrestrial animals -> 5.1.3. Persecution/control	Future	-	-	-
	Stresses:	2. Species Stresses -> 2.1. Species mortality		
7. Natural system modifications -> 7.1. Fire & fire suppression -> 7.1.3. Trend Unknown/Unrecorded	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
8. Invasive and other problematic species, genes & diseases -> 8.1. Invasive non-native/alien species/diseases -> 8.1.1. Unspecified species	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
8. Invasive and other problematic species, genes & diseases -> 8.1. Invasive non-native/alien species/diseases -> 8.1.2. Named species (Canis familiaris)	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	2. Species Stresses -> 2.1. Species mortality		
8. Invasive and other problematic species, genes & diseases -> 8.2. Problematic native species/diseases -> 8.2.1. Unspecified species	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
9. Pollution -> 9.1. Domestic & urban waste water -> 9.1.3. Type Unknown/Unrecorded	Future	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
9. Pollution -> 9.2. Industrial & military effluents -> 9.2.3. Type Unknown/Unrecorded	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		
9. Pollution -> 9.3. Agricultural & forestry effluents -> 9.3.4. Type Unknown/Unrecorded	Ongoing	-	-	-
	Stresses:	1. Ecosystem stresses -> 1.2. Ecosystem degradation		

Conservation Actions in Place

(<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/classification-schemes>)

Conservation Actions in Place
In-Place Land/Water Protection and Management
Conservation sites identified: Yes, over entire range
In-Place Species Management
Subject to ex-situ conservation: Yes

Conservation Actions Needed

(<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/classification-schemes>)

Conservation Actions Needed
2. Land/water management -> 2.1. Site/area management
2. Land/water management -> 2.2. Invasive/problematic species control
4. Education & awareness -> 4.1. Formal education
4. Education & awareness -> 4.3. Awareness & communications
5. Law & policy -> 5.4. Compliance and enforcement -> 5.4.3. Sub-national level

Research Needed

(<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/classification-schemes>)

Research Needed
1. Research -> 1.1. Taxonomy
1. Research -> 1.2. Population size, distribution & trends
1. Research -> 1.3. Life history & ecology
1. Research -> 1.5. Threats
3. Monitoring -> 3.1. Population trends

Additional Data Fields

Distribution
Lower elevation limit (m): 0
Upper elevation limit (m): 1500
Population
Extreme fluctuations: No
Population severely fragmented: No
Habitats and Ecology
Continuing decline in area, extent and/or quality of habitat: No

The IUCN Red List Partnership



The IUCN Red List of Threatened Species™ is produced and managed by the [IUCN Global Species Programme](#), the [IUCN Species Survival Commission \(SSC\)](#) and [The IUCN Red List Partnership](#).

The IUCN Red List Partners are: [Arizona State University](#); [BirdLife International](#); [Botanic Gardens Conservation International](#); [Conservation International](#); [NatureServe](#); [Royal Botanic Gardens, Kew](#); [Sapienza University of Rome](#); [Texas A&M University](#); and [Zoological Society of London](#).

Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*)

Author(s): Péricles S. Rêgo, Juliana Araripe, Weber A. G. Silva, Ciro Albano, Thieres Pinto, Alberto Campos, Marcelo Vallinoto, Iracilda Sampaio, and Horacio Schneider

Source: *The Auk*, 127(2):335-342.

Published By: The American Ornithologists' Union

URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1525/auk.2009.09052>

BioOne (www.bioone.org) is a nonprofit, online aggregation of core research in the biological, ecological, and environmental sciences. BioOne provides a sustainable online platform for over 170 journals and books published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Web site, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/page/terms_of_use.

Usage of BioOne content is strictly limited to personal, educational, and non-commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.



POPULATION GENETIC STUDIES OF MITOCHONDRIAL PSEUDO-CONTROL REGION IN THE ENDANGERED ARARIPE MANAKIN (*ANTILOPHIA BOKERMANNI*)

PÉRICLES S. RÊGO,^{1,2,5} JULIANA ARARIPE,¹ WEBER A. G. SILVA,³
CIRO ALBANO,³ THIERES PINTO,³ ALBERTO CAMPOS,³ MARCELO VALLINOTO,^{1,4}
IRACILDA SAMPAIO,¹ AND HORACIO SCHNEIDER¹

¹Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Bragança, Pará, Brazil;

²Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Brazil;

³Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos, Fortaleza, Brazil; and

⁴Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, Campus Agrário de Vairão,
Universidade do Porto, Vairão, Portugal

ABSTRACT.—The Araripe Manakin (Passeriformes: Pipridae: *Antilophia bokermanni*) is the most threatened passeriform species and is classified as critically endangered. With an estimated population of only 800 individuals, this species is endemic to a small area (~30 km²) of forest on the slopes of the Araripe Plateau in northeastern Brazil. The urgent need to implement an effective conservation program for the Araripe Manakin has stimulated intensive research into various aspects of its biology. We sequenced a segment of the mtDNA between the genes ND6 and 12S rDNA, which includes a pseudo-control region. This region was analyzed in 30 specimens of *A. bokermanni* with the aim of measuring intraspecific genetic diversity and population structure. Although the segment's position is the same as described in other bird species, *A. bokermanni* differs in some aspects, such as its length of 200 base pairs and the absence of indels or tandem repeats. Our analysis provides no evidence of population substructuring or a history of population expansion. The species' genetic variability is slightly reduced in comparison with its sister species *A. galeata*, but their similarity indicates a relatively recent process of separation. Received 17 December 2008, accepted 27 August 2009.

Key words: *Antilophia bokermanni*, Araripe Manakin, conservation, population genetics, pseudo-control region.

Estudios de Genética Poblacional sobre la Falsa Región de Control en la Especie Amenazada *Antilophia bokermanni*

RESUMEN.—*Antilophia bokermanni* (Passeriformes: Pipridae) es la especie de passeriforme más amenazada y está clasificada como en peligro crítico. Con una población estimada de sólo 800 individuos, esta especie es endémica de un área pequeña (~30 km²) de bosque en las faldas de la meseta de Araripe en el noreste de Brasil. La necesidad de implementar de forma urgente un programa de conservación efectivo para *A. bokermanni* ha estimulado intensas investigaciones sobre varios aspectos de su biología. Secuenciamos un segmento del ADNmt ubicado entre los genes ND6 y 12S ADNr, el cual incluye una falsa región de control. Esta región fue analizada en 30 especímenes de *A. bokermanni* con el objeto de medir la diversidad genética intraespecífica y la estructura poblacional. Aunque la posición del segmento es la misma que ha sido descrita en otras especies de aves, *A. bokermanni* difiere en algunos aspectos, como su longitud de 200 pares de bases y la ausencia de inserciones o deleciones y de repeticiones en tándem. Nuestros análisis no brindan evidencia de subestructura poblacional ni de una historia de expansión poblacional. La variabilidad genética de la especie es ligeramente reducida en comparación con su especie hermana *A. galeata*, pero su similitud indica un proceso de separación relativamente reciente.

THE ARARIPE MANAKIN (Passeriformes: Pipridae: *Antilophia bokermanni*) was described in 1998 by Galileu Coelho and Weber Silva in what has been considered one of the most important ornithological finds of the past few decades. Although very similar to its sister species the Helmeted Manakin (*Antilophia galeata*

Lichtenstein, 1823), which is found in the gallery forests of the central Brazilian Cerrado biome, the Araripe Manakin differs principally in its vocalizations and the predominantly whitish coloration of the adult males (Coelho and Silva 1998). Although most other piprids have lek mating systems, these two species differ in

⁵Present address: Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Campus Universitário de Bragança, Universidade Federal do Pará, Bragança-PA, 68600-000, Brazil.

E-mail: periclessena@yahoo.com.br

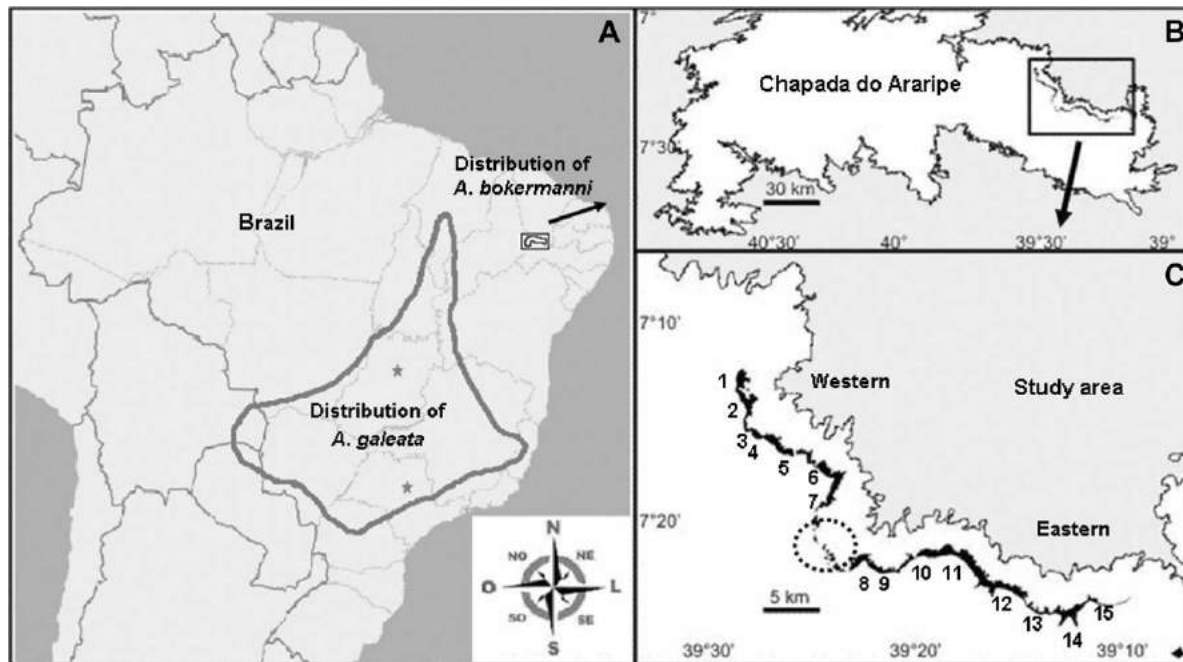


FIG. 1. (A) Collecting localities for *Antilophia bokermanni* (rectangle) and *A. galeata* (stars). (B) Distribution of *A. bokermanni* on the Araripe Plateau (Chapada do Araripe), Brazil. (C) Location of the collecting sites for *A. bokermanni* (numbers) and the lacuna (dotted circle) within its geographic range.

having a socially monogamous mating system that lacks elaborate courtship rituals (Prum 1990, 1992).

The Araripe Manakin, which is endemic to the Brazilian state of Ceará, has been classified as being in critical danger of extinction by both Brazilian and international organizations (Ministério do Meio Ambiente 2003, Hirschfeld 2008) because of its restricted distribution, the reduced size of its population, and habitat loss. The most recent study of the species indicated that its current geographic distribution covers no more than 30 km² of the forests on the slopes of the Araripe Plateau (Hirschfeld 2008). This area, which contains the best-conserved tracts of habitat, consists of a narrow strip of forest <500 m wide that stretches <60 km between the extremes of the species' range on the plateau's northeastern slope (Fig. 1A). The Araripe Manakin is found only in the plateau's humid forests, including the less well-preserved areas, which indicates a degree of tolerance of anthropogenic habitat disturbance. The presence of running water from mountain springs and the microclimate of the slope have been identified as the primary factors that influence habitat selection.

Field data from 2001 through 2004 indicate that the species is absent from the center of its distribution (dotted circle in Fig. 1C), which means that the population is divided into a western subpopulation and an eastern subpopulation. Preliminary surveys indicated a population of 50 to 250 individuals (BirdLife International 2000). More recently, population size was assessed more systematically by determining the number of adult males per spring and extrapolating this value according to the number and quality of springs within the known distribution. This resulted in a probably more realistic estimation of total population size (including adults and juveniles) of ~800 individuals, which is still low enough to be of considerable concern for conservation (Hirschfeld 2008).

Studies of the viability of endangered species have increasingly included the application of genetic tools to aid in identifying and understanding the factors that influence their survival (Frankham et al. 2002). Phenomena such as loss of genetic variability, inbreeding, and subpopulation structuring are problematic for species with highly reduced ranges or population size (Saccheri et al. 1998, Westemeier et al. 1998, Primack and Rodrigues 2001). Mitochondrial DNA (mtDNA) has been widely used as a molecular marker because of its usefulness in analyzing genetic diversity, population structure, and demographic history (Avise 2000). In the present study, we sequenced the segment of mtDNA between the genes ND6 and 12S rRNA in 30 specimens of *A. bokermanni*. In many species of birds, this segment is known as the pseudo-control region (ψ CR; Mindell et al. 1998, Haring et al. 1999, Bensch and Härlid 2000). For comparison, we also analyzed samples from the sister species, *A. galeata*, which is distributed in the Cerrado and Pantanal of Brazil, northeastern Paraguay, and northeastern Bolivia (del Hoyo et al. 2004). Although both species occur in the Cerrado biome, there is no evidence of sympatry or contact between the species. As part of a baseline effort to develop effective conservation strategies, we used our genetic data to evaluate the demographic history of *A. bokermanni* and to evaluate the hypothesis that the eastern and western subpopulations differ genetically.

METHODS

Sampling.—Samples were collected between May 2003 and February 2004 in the northeastern portion of the Araripe Plateau (Chapada do Araripe) in the Brazilian state of Ceará (39°18'08"S, 7°18'18"W). The locations of collecting sites were determined by confirming the presence of the species through observations or

records of vocalizations (Fig. 1C). Our analysis did not include sexing of samples, but the sex ratio for *A. bokermanni* appears to be 1:1 (P. S. Rêgo unpubl. data). The specimens were captured in mist nets set up adjacent to the springs, and samples of blood or feather bulbs were collected and stored in 70% ethanol. Once each bird was processed, a wing feather was clipped in a unique manner to prevent resampling. Tissue samples of *A. galeata* from São Carlos in the Brazilian state of São Paulo (22°00'51"S, 47°53'28"W) and from Brasília (15°46'36"S, 47°55'41"W) (see stars in Fig. 1A) were provided by researchers from the Federal University of São Carlos and the University of Brasília, respectively.

Extraction, amplification, and sequencing of DNA.—The samples were registered according to the regulations of the Genetics and Molecular Biology Laboratory of the Federal University of Pará and were stored in freezers until analysis. DNA was extracted by ribonuclease digestion for 1 h at 37°C, and then proteinase K was added for 2–4 h (or overnight) at 55°C. The product was washed liberally in phenol-chloroform and precipitated with isopropanol (Sambrook et al. 1989).

Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify the control region (D-loop) of the mitochondrial genome, including the flanking segments of the genes ND6 and 12S rRNA. The primers used in the present study were those described by Sorenson et al. (1999): ND6 L-16525 (5'-ACA AAC ACC ACT AAC ATT CCA CC-3') and 12S rRNA H-1858 (5'-TCG ATT ACA GAA CAG GCT CCT CTA G-3'). Each reaction was conducted in a final volume of 50 µL containing 8 µL of the mixture of deoxynucleotides (1.25 mM), 5 µL of the 10× *Taq* buffer, 2 µL of MgCl₂ (25 mM), 1 µL of each primer (200 ng µL⁻¹), ~150 ng of the total DNA, 0.5 µL of the *Taq* polymerase enzyme (5 U µL⁻¹; Invitrogen, Carlsbad, California), and sterile distilled water to complete the final reaction volume. Amplification conditions consisted of an initial 5-min step for denaturation at 94°C, followed by 30 cycles of 1 min at 94°C, 1 min at 50°C, and 2 min at 72°C. Final extension took 5 min at 72°C.

The products of the amplification were purified using the ExoSAP-IT kit (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, United Kingdom), for which 2 µL of the enzymatic solution was added to each 5 µL aliquot of the PCR reaction, and then incubated at 37°C for 15 min and then a further 15 min at 80°C. The products of this purification were submitted to a new PCR reaction, this time by the dideoxyterminal method (Sanger et al. 1977), with reagents of the Big Dye kit (ABI Prism Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction, Applied Biosystems, Foster City, California). Sequencing reactions were conducted in a final volume of 10 µL, containing 1 µL of the purified samples, 0.5 µL of one of the primers (concentration of 200 ng µL⁻¹), 3 µL of buffer (Tris 0.4 M pH 9.0/MgCl₂ 25 mM), 1 µL of Big Dye mix, and 4.5 µL of sterile distilled water to complete the final volume. This volume was submitted to a program of different temperatures: 25 cycles of 50 s at 96°C, 5 s at 50°C, and 4 min at 60°C. Reagents not incorporated during the reaction were eliminated by washing with isopropanol. The nucleotide sequences of the gene fragments produced by this reaction were determined in an ABI 377 (PerkinElmer, Waltham, Massachusetts) automated sequencer.

Sequence alignment and population analyses.—The sequences obtained were subjected to automatic multiple alignment with the CLUSTAL-W application (Thompson et al. 1994), using the penalty parameters suggested by Schneider (2003). The file thus generated

was converted into the FASTA format and transferred to the BIO-EDIT sequence editor (Hall 1999) for visual inspection of the alignment and possible correction of the coding of any observed insertions or deletions. Nucleotide composition, the number of haplotypes and polymorphic sites, and the rates of divergence between the sequences of the two species were computed using MEGA, version 3.1 (Kumar et al. 2004). Phylogenetic arrangements of the haplotypes of the two species were obtained through the PAUP* program, version 4.10 (Swofford 2002), using the neighbor-joining (NJ), maximum-parsimony (MP), and maximum-likelihood (ML) methods. The significance and robustness of the arrangements obtained were estimated on the basis of bootstrap values with 1,000 pseudoreplications. The possible presence of the hypothesized barrier to gene flow across the center of the distribution was tested using Monmonier's Maximum Differentiation Algorithm, run in ALLELES IN SPACE, version 1.0 (Miller 2005).

The programs DNASP, version 3.51 (Rozas et al. 2003), and ARLEQUIN, version 3.01 (Excoffier et al. 2005), were used to calculate the following parameters of genetic diversity and population structuring in *A. bokermanni*: haplotype (*h*; Nei 1987) and nucleotide (π ; Nei 1987) diversity; the fixation index, F_{ST} (Weir and Hill 2002); hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier et al. 1992) and the number of migrants per generation ($M = Nm$). NETWORK, version 4.5 (Bandelt et al. 1999), was used to produce a haplotype network through the method of median vectors. This allows a comparison between the observed distribution of haplotypes and that generated by the analysis of population structuring.

Population growth, stability, or decline was evaluated by analyzing the distribution of the number of observed pairwise haplotype differences, known as the mismatch distribution (Rogers and Harpending 1992), for the population as a whole and for the two hypothesized subpopulations, using DNASP. Values expected according to the sudden-population-expansion model were computed and plotted together with the observed values, and the significance of the sum of the squared deviations (SSD) was used to test the hypothesis of expansion. Three parameters of the sudden-expansion model were also tested using ARLEQUIN: Harpending's raggedness (*r*), the values of θ before and after the expansion process (θ_0 and θ_1), and the estimate of the time of expansion measured in mutational units (τ – τ). The last is a statistical parameter applied to the mismatch plot to assess robustness and significance, as well as the time course of population expansion (*t*).

Deviations from the model of neutral evolution of infinite sites were tested using Tajima's *D* (Tajima 1989) and Fu's *F_s* (Fu 1997), run in ARLEQUIN. These neutrality tests are designed to assess whether the population is evolving under the influence of some selective pressure or experiencing demographic events (expansion or reduction), if the null hypothesis of neutrality is rejected ($P < 0.05$).

RESULTS

A total of 30 samples of *A. bokermanni* were collected from 15 sites and analyzed together with 20 samples of *A. galeata* from Brasília ($n = 5$) and São Carlos ($n = 15$) (Table 1). In contrast to results in most other birds, the segments obtained by amplification and sequencing were much smaller than expected for the control region (D-loop). By comparing sequences deposited in GenBank,

TABLE 1. Sample information and collecting sites in Ceará (*Antilophia bokermanni*) and in São Paulo and Brasília (*A. galeata*), Brazil.

Species	Collecting site ^a	Number of samples	Sample codes
<i>A. bokermanni</i>	(1) Sítio Vale Verde	2	CLU_01, CLU_02
	(2) Fazenda Bebida Nova	2	CVV_01, CVV_02
	(3) Nascente da AABEC	2	CAA_01, CAA_02
	(4) Nascente do Grangeiro	2	CPI_01, CPI_02
	(5) Sítio Melo	2	BME_01, BME_02
	(6) Nascente do Céu	2	BCE_01, BCE_02
	(7) Nascente do Farias	2	BFA_01, BFA_02
	(8) Nascente dos Guaribas	1	BGA_01
	(9) Nascente Riacho do Meio	2	BRM_01, BRM_02
	(10) Nascente Santa Rita	2	BSR_01, BSR_02
	(11) Nascente do Silvério	2	BSL_01, BSL_02
	(12) Fazenda Serra do Mato	2	MHE_01, MHE_02
	(13) Nascente do Furtado	3	MFU_01, MFU_02, MFU_03
	(14) Nascente do Cafundó	1	MCA_01
	(15) Sítio Valentim	3	MVA_01, MVA_02, MVA_03
<i>A. galeata</i>	São Carlos–SP	5	AGA_39, AGA_40, AGA_41, AGA_42, AGA_43
	Brasília–DF	15	AGA_75, AGA_78, AGA_131, AGA_134, AGA_410 AGA_454, AGA_519, AGA_545, AGA_612, AGA_639 AGA_761, AGA_795, AGA_822, AGA_906, AGA_1010

^aNumbers refer to the sites marked in Figure 1C.

we were able to confirm that the fragment obtained here did not correspond to the control region but rather to a pseudo-control region (ΨCR; Haring et al. 1999). The genus *Antilophia* is therefore consistent with the arrangement of the mitochondrial genome already described in the Passeriformes and other bird orders (Mindell et al. 1998, Bensch and Härlid 2000, Haring et al. 2001), in which a ΨCR, rather than the D-loop, is found between the genes ND6 and 12S rRNA.

Once the sequences were edited, the segment comprised 788 base pairs (bp), of which 200 correspond to the pseudo-control region. The rest of the amplified segment corresponded to parts of the 12S rDNA (~290 bp) and ND6 genes (~150 bp), in addition to tRNA^{GLU} and tRNA^{PHÉ}. No indels (insertions or deletions) were observed, with the exception of a sequence found in *A. galeata* (specimen Aga_75), in which three bases had been deleted. No evidence was found (e.g., no stop codons in the 12S rDNA and ND6 genes, no double bands in the PCR, and no double peaks in the chromatogram) to suggest that the segment is a nuclear copy of a segment of the avian mitochondrial genome (NUMT; Quinn 1997). The sequences that we obtained were deposited in GenBank (accession numbers GQ849229–GQ849258 for *A. bokermanni* and GQ849259–GQ849278 for *A. galeata*).

Seven variable sites (~1% of the total) were identified in the *A. bokermanni* sequences, resulting in 6 distinct haplotypes distributed among the collecting sites (Table 2). Of these 7 polymorphic sites, one was located in the ND6 segment, 3 in the region of the ΨCR, and the remaining 3 in the 12S rDNA, with no variation found in the tRNAs. Seven haplotypes were identified in the 20 specimens of the sister species (*A. galeata*), resulting from 12 variable sites and the deletion in Aga_75. The nucleotide composition of the sequences of both species was highly similar, with a predominance of adenine and cytosine (37.4% and 29.2% of bases, respectively) and a deficiency of guanine (11.7%), which corresponds to the known pattern of mitochondrial sequences in birds (Baker

and Marshall 1997, Haring et al. 2001, Ruokonen and Kvist 2002). In all samples from both species, all changes at the variable sites were transitions.

The observed rates of nucleotide divergence in the haplotypes of the two species were very similar (<1.5%, mean = 0.5 ± 0.2 [SD]). The consensus phylogenetic arrangement produced by the three methods (NJ, MP, and ML) revealed a star-like tree with no node resolution (data not shown). This similarity between the two sister species is even more evident in the haplotype network (Fig. 2), which reveals two principal and divergent mitochondrial lineages (H_1 and H_3), which represent 50% of the specimens analyzed. The remaining specimens have haplotypes that diverge by only a few mutations, probably derived from the more abundant lineages. The presence of most of the different haplotypes in each of the two hypothesized subpopulations (east and west) is a further indication of the overall homogeneity within the species and the absence of any differentiation. The most common haplotype in the population of *A. bokermanni* (H_3) was also recorded in *A. galeata* (Fig. 2 and Table 2), albeit at a lower frequency. The second-most-common haplotype in *A. bokermanni* (H_1) was absent in *A. galeata*.

The indices of intraspecific genetic diversity were slightly lower in *A. bokermanni* (Table 3) than in *A. galeata*, even though the latter was represented by a smaller sample. Both haplotype (*h*) and nucleotide (π) diversity in *A. bokermanni* were moderate in comparison with results of other avian studies, although the values were higher than those recorded for some endangered species (Questiau et al. 1998, Asai et al. 2006, Lopes et al. 2007). No differences in diversity indices were found between the eastern and western subpopulations.

A negative, nonsignificant value was obtained for the fixation index ($F_{ST} = -0.00471$) between “east” and “west” samples of *A. bokermanni*, corroborating the lack of differentiation between the eastern and western subpopulations. The AMOVA analysis indicated that all the molecular variability occurred at the level of

TABLE 3. Indices of genetic diversity for *Antilophia bokermanni* and *A. galeata* obtained from 788 base pairs of mtDNA between the ND6 and 12S rRNA genes (n = number of individuals, Nh = number of haplotypes, h = haplotype diversity, and π = nucleotide diversity).

Species	Population	n	Nh	$h \pm SD$	$\pi \pm SD$
<i>A. bokermanni</i>	Western subpopulation	14	4	0.659 \pm 0.090	0.0046 \pm 0.0006
	Eastern subpopulation	16	5	0.758 \pm 0.080	0.0037 \pm 0.0006
	Whole population	30	6	0.722 \pm 0.062	0.0041 \pm 0.0004
<i>A. galeata</i>	Whole population	20	7	0.884 \pm 0.031	0.0049 \pm 0.0005

the whole population (100%) rather than among subpopulations, which further contradicts the hypothesis of differentiation between the eastern and western subpopulations. Monmonier's algorithm was consistent with the hypothesis that the east–west gap serves as a potential barrier to gene flow (data not shown).

The mismatch plots were multimodally distributed (Fig. 3), confirming the results of the haplotype network, which indicated two common but divergent haplotypes. Graphs with a multimodal distribution contradict the hypothesis of a process of expansion in panmictic populations and instead suggest other processes, such as hitchhiking effects or retention of ancestral polymorphisms (Rogers and Harpending 1992). The P value for the comparison of observed and expected values (SSD) did not differ for any analyzed group (Table 4).

The values of θ_0 and θ_1 for both the total population and the two subpopulations overlapped (Table 4), which indicates no expansion. This conclusion is further corroborated by the lack of differences in the raggedness index (Table 4). Similarly, although the values of both Tajima's D and Fu's F_s were positive for all groupings (Table 4), none was significant ($P > 0.01$).

DISCUSSION

Because little more than a decade has passed since the discovery of *A. bokermanni*, data on population structure and dynamics are still scarce. The principal, integrated study of the characteristics of this bird was conducted by the nongovernmental organization Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos (Association for Research and Preservation of Aquatic Ecosystems). The project was supported by prominent Brazilian and international institutions and resulted in the Araripe Manakin Conservation Plan (Associação de Pesquisa e Preservação de Ecossistemas Aquáticos 2006), which presents information on home range, population size, reproduction, and dispersal.

In the present study, we sequenced the ψ CR, a small segment of ~200 bp with no repetitions or indels in either *A. bokermanni* or *A. galeata*. The utility of the ψ CR for both inter- and intraspecific studies of birds remains to be determined because of (1) the limited number of species in which it has been described, (2) the lack of reliable estimates of its rate of evolution, and (3) the difficulties of sequence alignment between distinct species (Riesing et al. 2003, Kruckenhauser et al. 2004, Nittinger et al. 2005).

The indices of genetic diversity in *A. bokermanni* ($\pi = 0.0041$ and $h = 0.722$) were moderate and differed little from those in *A. galeata* (Table 3). Given the differences between the two species in sample size and geographic distribution, the relative lack of differentiation found between them is intriguing. Considering the

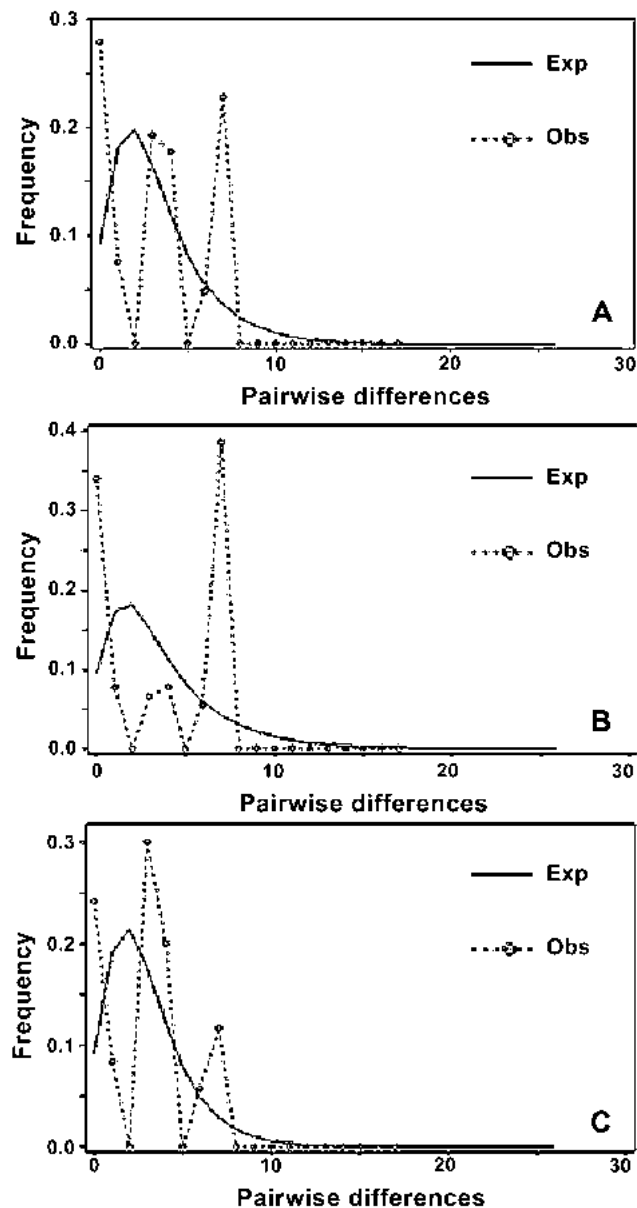


FIG. 3. Mismatch distribution of the sequences of the pseudo-control region of *Antilophia bokermanni*, based on the sudden-population-expansion model. Frequency is expressed as a fraction of all comparisons. Expected and observed values are marked "Exp" and "Obs," respectively.

TABLE 4. Statistics for mismatch distribution and neutrality tests in *Antilophia bokermanni* and *A. galeata* (n = number of haplotypes; τ = estimate of the time of expansion in mutational units; θ_0 and θ_1 = estimate of population size before and after the expansion, respectively; r = raggedness index).

Species	Statistical parameter of the mismatch distribution					Neutrality tests		
	n	τ	θ_0	θ_1	r	SSD	Tajima's D	Fu's F_s
<i>A. bokermanni</i>								
Western subpopulation	14	7.975	0.000–4.986	1.495–56.841	0.3455 ^a	0.159 ^a	2.35233 ^a	2.95544 ^a
Eastern subpopulation	16	4.702	0.000–4.399	0.991–28.922	0.1924 ^a	0.077 ^a	1.40378 ^a	1.37835 ^a
Whole population	30	7.080	0.000–6.281	1.047–109.775	0.2018 ^a	0.080 ^a	2.4732 ^a	2.05445 ^a
<i>A. galeata</i>								
Whole population	20	2.013	0.000–13.893	5.042–705.962	0.1020 ^a	0.035 ^a	1.2370 ^a	0.98955 ^a

^aNot significant ($P < 0.05$).

combination of factors that have led *A. bokermanni* to the brink of extinction, these levels of diversity might be considered relatively high in comparison with other endangered bird species (Moum and Árnason 2001, Van Den Bussche et al. 2003, Martínez-Cruz et al. 2004, Asai et al. 2006). The results of the mismatch distribution (multimodal) and the haplotype network (small number of unique haplotypes) argue against a hypothesis of demographic expansion and for a hypothesis of retention of ancestral polymorphisms that predate the separation of the two species. Similarly, the results of the tests for deviations from neutrality (D and F_s) were positive, although not significant, providing further evidence against population expansion. This could also indicate a recent bottleneck. It will be necessary to use other, more sensitive markers (e.g., microsatellites) to test this hypothesis.

We also found basically the same haplotypes in both species of *Antilophia* (Fig. 2), which suggests incomplete lineage sorting. Our results therefore indicate a surprising degree of similarity between the species, given their disjunct ranges and pronounced morphological (plumage color) divergence.

We found no evidence of population differentiation within *A. bokermanni*, despite the fairly large gap in its distribution. The AMOVA and F_{ST} tests indicated that the gap has not yet resulted in any significant substructuring of the population, at least in the mitochondrial sequence analyzed here. Given that the present study is the first to use the pseudo-control region as a population marker in Passeriformes, our results should be interpreted with caution, and we advise against making comparisons between this marker and other mitochondrial markers commonly used in the literature. Additional mitochondrial or nuclear markers may help reveal additional patterns of variation within *A. bokermanni* and *A. galeata*.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)/Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG)/Universidade Federal do Pará (UFPA) through a Ph.D. scholarship. We are very grateful to M. R. Francisco (Universidade Federal de São Carlos, São Carlos), A. Aleixo (Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém), and A. A. Ferreira (Universidade de Brasília, Brasília), for providing tissue samples. We also thank S. Ferrari for revision of the manuscript and D. McDonald for his editing. Samples were collected with the approval of the Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (license no. 027/2005).

LITERATURE CITED

- ASAI, S., Y. YAMAMOTO, AND S. YAMAGISHI. 2006. Genetic diversity and extent of gene flow in the endangered Japanese population of Hodgson's Hawk-eagle, *Spizaetus nipalensis*. *Bird Conservation International* 16:113–129.
- ASSOCIAÇÃO DE PESQUISA E PRESERVAÇÃO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS. 2006. Plano de Conservação do Soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*). [Online.] Available at www.aquasis.org/.
- AVISE, J. C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- BAKER, A. J., AND H. D. MARSHALL. 1997. Mitochondrial control region sequences as tools for understanding evolution. Pages 51–82 in *Avian Molecular Evolution and Systematics* (D. P. Mindell, Ed.). Academic Press, San Diego, California.
- BANDELT, H.-J., P. FORSTER, AND A. RÖHL. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16:37–48.
- BENSCH, S., AND A. HÄRLID. 2000. Mitochondrial genomic rearrangements in songbirds. *Molecular Biology and Evolution* 17:107–113.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2000. *Threatened Birds of the World*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain, and BirdLife International, Cambridge, United Kingdom.
- COELHO, A. G. M., AND W. A. G. SILVA. 1998. A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. *Ararajuba* 6:81–84.
- DEL HOYO, J., A. ELLIOTT, AND J. SARGATAL, Eds. 2004. *Handbook of the Birds of the World, vol. 9: Cotingas to Pipits and Wagtails*. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL, AND S. SCHNEIDER. 2005. ARLEQUIN (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47–50.
- EXCOFFIER, L., P. E. SMOUSE, AND J. M. QUATTRO. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479–491.
- FRANKHAM, R., J. D. BALLOU, AND D. A. BRISCOE. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- FU, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915–925.

- HALL, T. A. 1999. BIOEDIT: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95–98.
- HARING, E., L. KRUCKENHAUSER, A. GAMAUF, M. J. RIESING, AND W. PINSKER. 2001. The complete sequence of the mitochondrial genome of *Buteo buteo* (Aves, Accipitridae) indicates an early split in the phylogeny of raptors. *Molecular Biology and Evolution* 18:1892–1904.
- HARING, E., M. J. RIESING, W. PINSKER, AND A. GAMAUF. 1999. Evolution of a pseudo-control region in the mitochondrial genome of Palearctic buzzards (genus *Buteo*). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 37:185–194.
- HIRSCHFELD, E., ED. 2008. *Rare Birds Yearbook 2008: The World's 189 Most Threatened Birds*. BirdLife International, Cambridge, United Kingdom.
- KRUCKENHAUSER, L., E. HARING, W. PINSKER, M. J. RIESING, H. WINKLER, M. WINK, AND A. GAMAUF. 2004. Genetic vs. morphological differentiation of Old World buzzards (genus *Buteo*, Accipitridae). *Zoologica Scripta* 33:197–211.
- KUMAR, S., K. TAMURA, AND M. NEI. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150–163.
- LOPES, I. F., C. I. MIÑO, AND S. N. DEL LAMA. 2007. Genetic diversity and evidence of recent demographic expansion in waterbird populations from the Brazilian Pantanal. *Brazilian Journal of Biology* 67 (Supplement):849–857.
- MARTÍNEZ-CRUZ, B., J. A. GODOY, AND J. J. NEGRO. 2004. Population genetics after fragmentation: The case of the endangered Spanish Imperial Eagle (*Aquila adalberti*). *Molecular Ecology* 13:2243–2255.
- MILLER, M. P. 2005. Alleles in space (AIS): Computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity* 96:722–724.
- MINDELL, D. P., M. D. SORENSON, AND D. E. DIMCHEFF. 1998. Multiple independent origins of mitochondrial gene order in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95:10693–10697.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2003. *Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção*. [Online.] Available at www.meioambiente.es.gov.br/download/NovaListaFaunaAmeacaMMA2003.pdf.
- MOUM, T., AND E. ÁRNASON. 2001. Genetic diversity and population history of two related seabird species based on mitochondrial DNA control region sequences. *Molecular Ecology* 10:2463–2478.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- NITTINGER, F., E. HARING, W. PINSKER, M. WINK, AND A. GAMAUF. 2005. Out of Africa? Phylogenetic relationships between *Falco biarmicus* and the other hierofalcons (Aves: Falconidae). *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research* 43:321–331.
- PRIMACK, R. B., AND E. RODRIGUES. 2001. *Biologia da conservação*. Midiograf Press, Londrina.
- PRUM, R. O. 1990. A test of the monophyly of the manakins (Pipridae) and of the cotingas (Cotingidae) based on morphology. *Occasional Papers of the Museum of Zoology of the University of Michigan*, no. 723.
- PRUM, R. O. 1992. Syringeal morphology, phylogeny, and evolution of the Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *American Museum of Natural History Novitates* 3043:1–65.
- QUESTIAU, S., M.-C. EYBERT, A. R. GAGINSKAYA, L. GIELLY, AND P. TABERLET. 1998. Recent divergence between two morphologically differentiated subspecies of bluethroat (Aves: Muscicapidae: *Luscinia svecica*) inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Molecular Ecology* 7:239–245.
- QUINN, T. W. 1997. Molecular evolution of the mitochondrial genome. Pages 3–28 in *Avian Molecular Evolution and Systematics* (D. P. Mindell, Ed.). Academic Press, San Diego, California.
- RIESING, M. J., L. KRUCKENHAUSER, A. GAMAUF, AND E. HARING. 2003. Molecular phylogeny of the genus *Buteo* (Aves: Accipitridae) based on mitochondrial marker sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27:328–342.
- ROGERS, A. R., AND H. HARPENDING. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552–569.
- ROZAS, J., J. C. SÁNCHEZ-DELBARRIO, X. MESSEGUER, AND R. ROZAS. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496–2497.
- RUOKONEN, M., AND L. KVIST. 2002. Structure and evolution of the avian mitochondrial control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23:422–432.
- SACCHERI, I., M. KUUSSAARI, M. KANKARE, P. VIKMAN, W. FORTELIUS, AND I. HANSKI. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392:491–494.
- SAMBROOK, J., E. F. FRITSCH, AND T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- SANGER, F., S. NICHLEN, AND A. R. COULSON. 1977. DNA Sequencing with chain-termination inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 74:5463–5468.
- SCHNEIDER, H. 2003. *Método de Análise Filogenética: Um Guia Prático*. Editora Holos–Sociedade Brasileira de Genética Press, Ribeirão Preto.
- SORENSON, M. D., J. C. AST, D. E. DIMCHEFF, T. YURI, AND D. P. MINDELL. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12:105–114.
- SWOFFORD, D. L. 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), version V4.10b. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- TAJIMA, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595.
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS, AND T. J. GIBSON. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673–4680.
- VAN DEN BUSSCHE, R. A., S. R. HOOFFER, D. A. WIEDENFELD, D. H. WOLFE, AND S. K. SHERROD. 2003. Genetic variation within and among fragmented populations of Lesser Prairie-Chickens (*Tympanuchus pallidicinctus*). *Molecular Ecology* 12:675–683.
- WEIR, B. S., AND W. G. HILL. 2002. Estimating F-statistics. *Annual Review of Genetics* 36:721–750.
- WESTEMEIER, R. L., J. D. BRAWN, S. A. SIMPSON, T. L. ESKER, R. W. JANSEN, J. W. WALK, E. L. KERSHNER, J. L. BOUZAT, AND K. N. PAIGE. 1998. Tracking the long-term decline and recovery of an isolated population. *Science* 282:1695–1698.

Associate Editor: D. B. McDonald



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

***Antilophia bokermanni* (Aves: Pipridae): Parâmetros
reprodutivos, sistema de acasalamento social e genético e o papel
da seleção sexual**

Milene Garbim Gaiotti

Orientadora: Regina H. F. Macedo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do grau de Doutora em Ecologia.

Brasília, DF

2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais que sempre me apoiaram e me incentivaram a lutar pelos meus objetivos, e que me deram força em todos os momentos difíceis durante esses anos. Longe ou perto, me ajudando a procurar ninhos ou apenas através do telefone, vocês sempre estiveram comigo quando mais precisei e por isso sou muito grata.

À Regina, que foi muito mais que uma orientadora acadêmica, você é uma inspiração de mulher, pesquisadora e mãe. Obrigada por acreditar em mim, por me proporcionar tantas oportunidades que farão diferença eternamente na minha vida pessoal e profissional.

Agradeço imensamente aos meus alunos e companheiros de campo: Wilmara, João, Verônica, Eveny e Tatyane. Sem vocês esse trabalho provavelmente teria sido muito difícil de realizar. Eu aprendi muito com vocês, a experiência de ensinar essa profissão que tanto amo, principalmente em campo foi incrível. Obrigada por enfrentarem tanto morros, chuvas e dificuldades que só nós sabemos que encontramos nesses quatro anos no campo.

Também gostaria de agradecer toda minha família que mesmo de forma indireta também passou por todas as fases junto comigo, todos os Natais ausentes (ou corridos), obrigada por compreenderem meu trabalho, ou pelo menos aceitarem. Ao meu irmão e cunhada que foram passar Natal comigo quando os ninhos não me deixaram viajar. Agradeço também ao Robson Ávila que de certa forma foi o responsável por eu morar no Crato, e ter a oportunidade de estudar o soladinho do Araripe, obrigada por todo o apoio.

Aos meus amigos antigos e recentes, em especial ao Drausio Honório que é quase um irmão e sempre me deu tanta força em todos os momentos. Aos meus amigos do norte, que tornaram a minha estadia fora do Brasil tão fácil que nem queria voltar mais, em especial ao Brian Wiese, que tem sido um grande parceiro, sempre me incentivando e me colocando pra cima e até me ajudando em campo, sem você essa reta final seria muito mais difícil. Também quero agradecer aos meus colegas da UNB pelas risadas e suporte: Pedro Moraes, Guilherme,

Desireé, Ingrid e especialmente ao Pedro Diniz e à Lilian (ainda conto como UNB), que me socorreram todas as dúvidas e que me ajudaram tanto, sem vocês acho que eu não conseguiria!!

Agradeço todo o pessoal do Laboratório de Ornitologia de Cornell, em especial ao Prof. Mike Webster, Prof. Irby Lovette e à Dra. Bronwyn Butcher, pela oportunidade, paciência, tempo e imensurável aprendizado que me proporcionaram. Também quero agradecer ao Matt Medler pela tão atenciosa recepção durante minha estadia em Ithaca.

Ao CEMAVE/ICMBio pelo fornecimento das anilhas metálicas. Ao IBAMA pela concessão das licenças. À Aquasis pelo apoio inicial no campo.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade de Brasília, à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelas bolsas concedidas no Brasil e no exterior. Agradeço às fontes de financiamento deste projeto: Universidade de Brasília, FAP-DF (Fundação de Apoio à Pesquisa), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), ABS (Animal Behavior Society), AFO (Association of Field Ornithologists), OC (Ornithological Council), The Rufford Foundation e Idea Wild.

Agradeço aos membros da banca, professores doutores Marina Anciães, Miguel Marini, Eduardo Bessa, Carlos Bianchi e Ricardo Machado, pela atenção e contribuições ao meu trabalho.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
ESPÉCIE DE ESTUDO	17
ÁREA DE ESTUDO	19
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 1 - Biologia reprodutiva de <i>Antilophia bokermanni</i> (Aves: Pipridae)	29
INTRODUÇÃO	30
MÉTODOS	33
Captura e marcação dos indivíduos	33
Sexagem	34
Determinação da estação reprodutiva e volume de chuvas	34
Cuidado parental	35
Parâmetros de nidificação	36
Territórios reprodutivos	38
Análises estatísticas	39
RESULTADOS	43
Captura, marcação e definição do período reprodutivo	43
Construção e descrição dos ninhos	46
Descrição dos ovos e incubação	48
Período de ninhego, análises de sobrevivência e modelos	50
Cuidado parental	60
Territórios reprodutivos	63
DISCUSSÃO	65
REFERÊNCIAS	74
ANEXO 1. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 47 ninhos) de ninhos de <i>Antilophia bokermanni</i> , na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1).....	86
ANEXO 2. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 74 ninhos) de ninhos de <i>Antilophia bokermanni</i> , na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis:	

diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável altura do ninho em relação ao solo.87

ANEXO 3. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 55 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável diâmetro externo.88

ANEXO 4. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 28 ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1).89

CAPÍTULO 2 - Intersexual differences in the diet of the critically endangered and endemic Araripe manakin (Aves: Pipridae)91

ABSTRACT92

RESUMO93

INTRODUCTION.....94

METHODS97

RESULTS99

DISCUSSION105

ACKNOWLEDGMENTS108

LITERATURE CITED109

CAPÍTULO 3 - Variação nos caracteres secundários de machos de *Antilophia bokermanni*, e sua relação com sucesso reprodutivo116

INTRODUÇÃO.....117

MÉTODOS121

Índice de Condição corporal121

Coleta e análise da plumagem.....122

Gravação e análise do canto.....124

Coleta de sangue e imunologia.....125

Extração de DNA e análises moleculares de paternidade125

Sucesso reprodutivo129

Análises estatísticas130

RESULTADOS133

Condição corporal e imunologia.....	133
Plumagem	133
Canto	134
Paternidade.....	137
Hipótese 1: O índice de condição corporal está associado à condição imunológica?	137
Hipótese 2: A qualidade do macho (ICC e condição imunológica) está refletida nos caracteres sexuais secundários?.....	139
Hipótese 3: Machos de maior qualidade (na condição corporal, caracteres sexuais secundários ou territorialidade) tem maior sucesso reprodutivo?	141
DISCUSSÃO.....	146
CONCLUSÕES.....	152
REFERÊNCIAS.....	153
ANEXO 1- Frequência (em %) de células do sistema imune nos esfregaços sanguíneos de machos de <i>Antilophia bokermanni</i>	166
ANEXO 2- Valores médios (a partir das 3 medidas de conjuntos de penas), para cada macho de <i>Antilophia bokermanni</i> por parte do corpo de onde a pena foi coletada e as variáveis: brilho (B2), croma (S1.UV para penas brancas e S1.Red para as vermelhas), contraste (S6) e matiz (H2).	167
CAPÍTULO 4 - Sistema de acasalamento social e genético de <i>Antilophia bokermanni</i> (Aves: Pipridae)	171
INTRODUÇÃO.....	172
MÉTODOS	178
Índice de Condição corporal (ICC) das fêmeas e ninhegos.....	178
Sucesso de Pareamento.....	178
Determinação da paternidade genética.....	179
Similaridade genética (parentesco) e heterozigosidade	181
Análises estatísticas.....	181
RESULTADOS	182
DISCUSSÃO.....	187
REFERÊNCIAS.....	194

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A- Macho adulto de *A. bokermanni* B- Fêmea adulta de *A. bokermanni*... 19

Figura 2 – A imagem superior indica os limites da APA da Chapada do Araripe entre os estados do Piauí, Ceará e Pernambuco. O retângulo vermelho destaca a FLONA do Araripe. A imagem inferior é uma ampliação da região que correspondente ao estado do Ceará, e em verde está indicada a área de ocorrência de *A. bokermanni* (imagem: Aquasis, 2006). 21

Figura 3 – Localização das seis áreas amostradas no presente estudo na Chapada do Araripe entre os anos de 2013 a 2016. 21

Figura 4 – Distribuição das cinco áreas amostradas no município de Crato-CE, na Chapada do Araripe. 22

CAPÍTULO 1

Figura 1- Câmera Multilaser DC115 camuflada e posicionada a 2m do ninho para a coleta de dados de cuidado parental de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe-CE..36

Figura 2- Número de ninhos de *Antilophia bokermanni* encontrados e número de ninhos com ninhegos em relação ao volume de chuvas durante as três estações reprodutivas amostradas na Chapada do Araripe-CE. 46

Figura 3- Ninho de *Antilophia bokermanni* em fase inicial de construção, na Chapada do Araripe-CE. 47

Figura 4- Ninho de *Antilophia bokermanni* finalizado, na Chapada do Araripe-CE. . 47

Figura 5- Ovos de *Antilophia bokermanni* no ninho, na Chapada do Araripe- CE. 49

Figura 6- Atividades de cuidado parental realizadas pelas fêmeas de *Antilophia bokermanni* na Chapada do Araripe- CE. A: vigiando o ninho; B: Alimentando ninhego; C: sentada no ninho. 61

Figura 7- Distribuição de 16 territórios reprodutivos estabelecidos por machos de *Antilophia bokermanni* em uma das áreas amostradas, na Chapada do Araripe-CE.... 64

Figura 8- Tamanhos de territórios reprodutivos (m²) de machos de *A. bokermanni* e a presença (1) ou ausência (0) de água no seu interior, na Chapada do Araripe- CE..... 65

CAPÍTULO 2

Figure 1. Percentage of each gathering method performed by male and female Araripe manakins during focal observations ($n = 15$ females and 11 males). 103

Figure 2. Percentage of each gathering method performed by male and female Araripe manakins during the morning (0900 to 10:30 hr; $n = 10$ females and 7 males) and afternoon (1500 to 1600 hr; $n = 11$ females and 9 males) observation sessions. 104

Figure 3. Percentage of time spent by male and female Araripe manakins in each strata during the morning (0900 to 10:30 hr; $n = 10$ females and 7 males) and afternoon (1500 to 1600 hr; $n = 11$ females and 9 males) observation sessions. 104

CAPÍTULO 3

Figura 1- Penas coletadas de um macho de *Antilophia bokermanni* preparadas para medição no espectrofotômetro. 123

Figura 2- Curvas de reflectância das cores de plumagem de cada parte do corpo (ventre, dorso, topete, manto) dos machos de *Antilophia bokermanni* amostrados durante duas estações reprodutivas (2013/2014 e 2014/2015) na Chapada do Araripe-CE. 134

Figura 3- Espectrograma do canto completo de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 135

Figura 4- Espectrograma do assobio de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 135

Figura 5- Espectrograma do canto parcial de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 136

Figura 6- Espectrograma do chamado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 136

Figura 7- Espectrograma do assobio dobrado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 136

Figura 8- Espectrograma do canto dobrado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*. 137

Figura 9- Correlação entre o índice de condição corporal e a frequência de linfócitos em machos de *Antilophia bokermanni*. 138

Figura 10- Correlação entre o índice de condição corporal e a frequência de heterófilos em machos de <i>Antilophia bokermanni</i>	139
Figura 11- Correlação entre o índice de condição corporal e a reflectância de ultravioleta (UV) na plumagem branca do dorso dos machos de <i>Antilophia bokermanni</i>	140
Figura 12- Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e o índice de condição corporal dos machos de <i>Antilophia bokermanni</i> que defenderam território. A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.	142
Figura 13- Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e o tamanho do território defendido por machos de <i>Antilophia bokermanni</i> . A reta em vermelho representa o modelo previsto por regressão linear simples.	142
Figura 14- Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e a condição corporal dos machos (com e sem território) de <i>Antilophia bokermanni</i> . A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.....	143
Figura 15- Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e a complexidade do canto (tamanho do repertório) dos machos de <i>Antilophia bokermanni</i> . A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.....	144
Figura 16- Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e as propriedades acústicas do canto dos machos de <i>Antilophia bokermanni</i> . A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.	145

CAPÍTULO 4

Figura 1- Número de alelos incompatíveis (<i>Trio mismatches</i>) entre pais sociais e seus filhotes e a possibilidade dos machos sociais serem os pais biológicos dos filhotes, levando em consideração as características genéticas das mães (<i>Trio LOD score</i>).	180
Figura 2- Número de alelos incompatíveis (<i>Trio mismatches</i>) entre pais confirmados (<i>genetic father</i>) e seus filhotes e a possibilidade destes machos serem os pais biológicos	

dos filhotes, levando em consideração as características genéticas das mães (Trio *LOD score*)..... 180

Figura 3- Distribuição dos territórios de cinco machos que perderam a paternidade em seus ninhos, mas foram pais extra-par em outros ninhos (indicados pelas setas), na área Grangeiro. 184

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1.** Espécies de plantas utilizadas como suporte de ninho de *Antilophia bokermanni* e o número de ninhos registrados em cada uma delas, na Chapada do Araripe, CE, nas estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. 48
- Tabela 2.** Sobrevivência diária (DSR) geral (ovos e ninhos juntos) por área amostrada e por período reprodutivo amostrado (Ano), com tempo constante, de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, nas estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016..... 51
- Tabela 3.** Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para sobrevivência diária geral (fase de ovos e ninhos, N= 47 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). 51
- Tabela 4.** Sobrevivência diária (DSR) para período de incubação (fase de ovos), por área amostrada e período reprodutivo amostrado (Ano), com tempo constante, de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. 52
- Tabela 5.** Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 47 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1). Sem co-variável área amostrada..... 53
- Tabela 6.** Sobrevivência diária (DSR) para período de ninhego, por área amostrada e por período reprodutivo (Ano) amostrado com tempo constante para de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016..... 54
- Tabela 7.** Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 28 ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1). Sem co-variável área amostrada..... 56
- Tabela 8.** Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 50

ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável altura do ninho em relação ao solo (height)..... 57

Tabela 9. Importância relativa, beta estimate (B) e erro padrão (\pm EP) das variáveis dos modelos da taxa de sobrevivência diárias de ninhos de *Antilophia bokermanni* nos períodos de incubação, ninhego e geral (incubação e ninhego), na Chapada do Araripe, Ceará, durante as três estações reprodutivas amostradas (2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016). As colunas numéricas (1, 2, 3 e 4) são referentes a cada resultado da seleção de modelos com tempo constante (Tc), tempo Linear (Tl) e tempo quadrático (Tq): 1- todas as variáveis inclusas; 2- sem a co-variável área; 3- sem a co-variável altura do ninho em relação ao solo (Altura) e 4- sem a co-variável diâmetro externo (Diamextern.). Tempo constante (Tc), Tempo Linear (Tl), Tempo quadrático (Tq). 58

Tabela 10. Tempo despendido pela fêmea de *Antilophia bokermanni* (em horas) para cada comportamento de cuidado relativo aos ninhegos (N=20 ninhos), na Chapada do Araripe-CE. 62

CAPÍTULO 2

Table 1. Occurrence frequency (OF) and numerical frequency (NF) for all food items consumed by Araripe manakins (N=94). 100

Table 2. Dietary Importance Index (DIi) of each food item consumed by female (N=57) and male (N=37) Araripe manakins (N=94). 100

Table 3. Occurrence frequency (OF) and numerical frequency (NF) for food items consumed by female (N=57) and male (N=37) Araripe manakins. 101

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Descrição dos 15 pares de *primers* utilizados nas análises de microsatélite, suas respectivas temperaturas de anelamento (TA) e referências bibliográficas..... 128

Tabela 2. Características dos 15 microssatélites amplificados em *Antilophia bokermanni* para os 359 indivíduos amostrados, utilizados nas análises de paternidade e maternidade no programa Cervus 3.0.3 (Kalinowski et al. 2007). Hobs: Heterozigosidade observada; Hexp: Heterozigosidade esperada; NE-1P: probabilidade de exclusão para um pai ou mãe candidatos; NE-2P: probabilidade de exclusão para um candidato dado o genótipo da mãe (para filhotes com a maternidade confirmada); P(HW): probabilidade do equilíbrio de Hardy-Weinberg e FN: frequência de alelos nulos..... 129

Tabela 3. Tamanhos amostrais para as variáveis analisadas para machos de *Antilophia bokermanni*, com referência às hipóteses testadas..... 131

Tabela 4. Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis de complexidade do canto de machos de *Antilophia bokermanni*..... 132

- Tabela 5.** Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis dos componentes acústicos do canto de machos de *Antilophia bokermanni*. 132
- Tabela 6.** Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis de coloração da plumagem de machos de *Antilophia bokermanni*..... 132
- Tabela 7.** Resultados dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2), das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis da plumagem do ventre de machos de *Antilophia bokermanni* que defenderam território..... 146

INTRODUÇÃO GERAL

A seleção sexual segundo Darwin (1859, 1871) é a seleção que surge a partir da variância no sucesso de acasalamento dos indivíduos, através da competição entre membros de um sexo por membros do sexo oposto (intra-sexual) e escolha diferencial de membros de um sexo pelo sexo oposto (inter-sexual). Até o advento de técnicas moleculares nos estudos de sistema de acasalamento de aves, era considerado que a seleção sexual desempenhava um papel menor nas espécies monogâmicas (Danchin et al. 2005). A fraca variação aparente do sucesso reprodutivo dos machos parecia indicar esse baixo potencial da seleção sexual. Assim, não parecia necessário utilizar esse tipo de abordagem para explicar a evolução da monogamia nessas espécies (Danchin et al. 2005).

As aves foram, por muitos anos, erroneamente consideradas um grupo quase inteiramente monogâmico (93% das espécies), uma vez que o estudo do sistema de acasalamento se restringia a observação comportamental (Lack 1968). No entanto, no fim da década de 80, a abordagem molecular nas análises de paternidade de alguns estudos, mostraram que em muitas espécies consideradas até então monogâmicas, ocorriam fertilizações extra-par (FEP) (Griffith et al. 2002). Houve uma transformação na forma de interpretar os comportamentos reprodutivos desse grupo. Foi revelado que apenas 14% das espécies seriam geneticamente monogâmicas e que 86% das espécies antes consideradas monogâmicas são na verdade poligâmicas, sendo que em média 11,1% dos ninhegos e 18,7% das ninhadas são provenientes de fertilização extra-par (Griffith et al. 2002).

As análises genéticas de paternidade indicaram a existência de variação no sucesso reprodutivo entre machos, o que permitiu explicar a existência de características e comportamentos exagerados nessas espécies. Tornou-se necessário separar os tipos de sistemas de acasalamento em social e genético (ou sexual) (Bennett & Owens 2002, Griffith et al. 2002, Danchin et al. 2005). O sistema de acasalamento social é aquele onde os machos

podem auxiliar nos cuidados com a prole, porém não necessariamente serem os pais biológicos desta (Bennett & Owens 2002). Enquanto que o sistema genético permite a identificação dos pais biológicos da prole, que podem ser parceiros extra-pares, e não obrigatoriamente auxiliar no cuidado parental nem conviver socialmente com a fêmea (Winckler & Seibt 1983, Gotway 1996).

Essa nova abordagem levou pesquisadores a acreditar que a seleção sexual em aves monogâmicas poderia ser forte o suficiente para explicar a evolução de caracteres sexuais secundários (Prum 1998, Danchin et al. 2005). Tradicionalmente, o dimorfismo sexual seria uma consequência da variação entre espécies no sistema de acasalamento e no padrão de cuidado parental (Darwin 1871, Wallace 1889). A poligamia levaria o sexo competitivo a ser maior ou mais ornamentado que o sexo que escolhe o parceiro, enquanto que a ampla diferença entre os sexos no cuidado parental levaria o sexo que efetua o cuidado da prole a possuir uma plumagem mais críptica (Owens & Hartley 1998). Como o potencial sucesso reprodutivo esperado para os machos deve ser maior em espécies poligínicas que monogâmicas, é comumente assumido que o dicromatismo sexual deva ser maior em espécies com sistemas de acasalamento poligínicos (Bennett & Owens 2002).

A proporção de fertilizações resultantes de cópulas fora do par social é chamada de taxa de fertilização extra-par (FEP) (Westneat et al. 1990), sendo essa bastante variável entre espécies e mesmo dentro de populações (Griffith et al. 2002). Pode ainda, ser bastante alta em algumas espécies socialmente monogâmicas, ultrapassando 25%, e em alguns casos excede 55% (Griffith et al. 2002). Alguns fatores têm sido considerados fundamentais para essa variação, sendo que explicações baseadas sobre a mortalidade dos adultos (Mauck et al. 1999, Wink & Dyrce 1999), o cuidado parental (Mulder et al. 1994), a diversidade genética (Petrie & Lipsitch 1994) e a densidade de ninhos (Stutchbury & Morton 1995, Stutchbury et al. 1998) são as que possuem maior suporte empírico para explicar as variações de FEP em aves.

No entanto, Griffith et al. (2002) chamam a atenção para a possibilidade de diversos fatores estarem envolvidos ao mesmo tempo.

Além disso, em muitas espécies de aves, existe o controle por parte das fêmeas sobre as cópulas e transferência de esperma usado na fertilização, o que pode também influenciar na variação das taxas de FEP, através da proporção de fêmeas numa população que buscam por cópulas extra-par (Birkhead & Møller 1993, Petrie & Kempenaers 1998). Portanto, para compreender essa variação de FEP entre espécies ou populações, deve-se avaliar os fatores que levam fêmeas a buscar parceiros extra-par (Petrie & Kempenaers 1998). Muitas abordagens foram feitas nesse sentido, procurando entender quais os benefícios desse comportamento para as fêmeas (Fisher 1915, Zahavi 1975, Double & Cockburn 2000, Eshel et al. 2000, Griffith et al. 2003, Kokko & Jennions 2008).

Esses benefícios podem ser indiretos, onde fêmeas podem escolher machos com melhores genes e assim produzir uma prole mais saudável e/ou atraente (Zahavi 1975, Møller & Alatalo 1999, Eshel et al. 2000, Pryke & Andersson 2005) ou devido à compatibilidade genética dos indivíduos envolvidos (Zeh & Zeh 1988). Ainda, os benefícios podem ser diretos, em termos de fecundidade acrescida (Andersson 1994), acesso a recursos na forma de presentes nupciais e/ou melhor qualidade do território (Thornhill & Alcock 1983, Alatalo et al. 1986). A fêmea pode também se beneficiar diretamente quanto à qualidade do cuidado parental (Hoelzer 1989, Norris 1990, Keyser e Hill 2000) ou ainda proteção contra predadores e outros machos (Danchin et al. 2005). No entanto, existem custos para fêmeas que buscam FEP, como a perda do parceiro social e seu investimento na prole (Petrie & Kempenaers 1998), assim como a maior exposição a doenças sexualmente transmissíveis e parasitas (Sheldon 1993, Höglund & Sheldon 1998).

A preferência da fêmea por determinados machos ao invés de outros, parece indicar a boa qualidade (genética ou morfológica) destes escolhidos (Dvorak 1984, Griffith & Immler

2009). No entanto, dado o custo associado a essa preferência, tal escolha também pode variar em função da qualidade das fêmeas (Riebel et al. 2010). Alguns estudos demonstram que fêmeas de baixa qualidade copulam com machos de baixa qualidade, enquanto fêmeas de alta qualidade copulam com machos de alta qualidade (Poulin & Vickery 1996, Rolff 1998, Burley & Foster 2006, Holveck & Riebel 2010). Isso implica na existência de um mecanismo que permita às fêmeas avaliar sua própria condição (Burley & Foster 2006).

A seleção sexual pode ser considerada, em alguns casos, um processo co-evolutivo entre machos e fêmeas (Lande 1981, Kirkpatrick 1982, Kirkpatrick & Hall 2004, Andersson & Simmons 2006). A variação na preferência da fêmea pode, então, tanto aumentar ou diminuir consideravelmente a força e/ou direção da seleção sexual, e por isso tem um grande impacto na evolução dos traços secundários nos machos (Poulin & Vickery 1996, Rolff 1998, Cotton et al. 2006). Assim, entender como, e se, machos expressam informações sobre sua qualidade genética no seu fenótipo ou através de determinados comportamentos, como um sinal honesto ou não (Petrie et al. 1998, Forstmeier et al. 2002, Cotton et al. 2006, Taylor & McGraw 2013), e como a preferência e a avaliação das fêmeas variam (Beehler & Foster 1988, Pfennig & Tinsley 2002, Cotton et al. 2006, Caro et al. 2010), é fundamental para compreendermos o papel da seleção sexual no sistema de acasalamento das espécies.

ESPÉCIE DE ESTUDO

O soldadinho do Araripe (*Antilophia bokermanni*) é uma espécie Passeriforme da família Pipridae e uma das recentes descobertas da ornitologia brasileira, descrita há apenas 18 anos. Encontra-se criticamente ameaçada, com população estimada em 800 indivíduos e área de ocorrência de apenas 31 Km² (Rêgo et al. 2010, IUCN 2015). A espécie é endêmica das matas de encosta da Chapada do Araripe localizada na divisa dos estados do Ceará, Pernambuco e Piauí, porém sua ocorrência é restrita à porção do Ceará. Possui dimorfismo

sexual evidente, sendo os machos brancos, com rêmiges e retrizes negras, além de possuírem um manto vermelho (grená) que se estende desde a cabeça até o meio do dorso, enquanto que as fêmeas são verdes, mais escuro no dorso e mais claro no ventre (Coelho & Silva 1998) (Figura 1). Os indivíduos jovens apresentam a mesma coloração da fêmea. Machos sub-adultos fazem a muda para a plumagem de machos adultos iniciando pela coloração do topete e manto e depois pelo branco do corpo e negro da cauda e asa (dados não publicados). Na sua descrição original consta que os machos são maiores e possuem as asas e cauda mais longas que as fêmeas (Coelho & Silva 1998).

Nesses 18 anos desde sua descoberta os esforços para a conservação e aumento populacional da espécie têm sido direcionados quase que exclusivamente para a educação ambiental e preservação das áreas de ocorrência (Silva & Rêgo 2004). No entanto, quase nada se sabe a respeito de sua biologia, ecologia ou comportamentos. Existem apenas quatro estudos empíricos sobre a espécie, sendo estes sobre: a descrição da espécie (Coelho & Silva 1998), determinação do período reprodutivo através da vocalização dos machos (Girão & Souto 2005), plantas utilizadas como suporte para nidificação (Linhares et al. 2010), e variabilidade genética da população (Rêgo et al. 2010). Porém, os indivíduos nunca foram anilhados em nenhum desses estudos, dificultando, por exemplo, a determinação com maior precisão do tamanho e dinâmica da população, fatores fundamentais para adequação do status de ameaça da espécie.

Nenhum estudo empírico sobre o sistema de acasalamento social ou genético, nem sobre a existência de cópulas extra-par e comportamentos reprodutivos do soldadinho do Araripe foi realizado até o momento. Assume-se que a espécie seja socialmente monogâmica devido ao estudo realizado por Marini e Cavalcanti (1992) sobre o sistema de acasalamento da espécie irmã, *Antilophia galeata*, no Brasil Central. Tais informações, assim como outros

dados de sua história natural e comportamento são cruciais, principalmente devido a seu status de ameaça, para proposição de planos de manejo mais efetivos.



Figura 1 – A- Macho adulto de *A. bokermanni* B- Fêmea adulta de *A. bokermanni*

ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado na Chapada do Araripe localizada no domínio da Caatinga, porém a área destoa da região semiárida que a circunda, pelo volume de chuvas (média anual: 934 mm) e altitude (acima de 800m em relação ao nível do mar). A Chapada estende-se pelos estados do Ceará, Pernambuco e Piauí e possui uma área de aproximadamente 4.500Km². Apresenta uma vegetação bastante diversificada dominada por quatro tipos de fitofisionomias principais: Mata seca, Carrasco, Cerrado e Mata úmida (mata de encosta) (Figueira 1989). A permeabilidade da formação rochosa da camada superior da Chapada do Araripe em conjunto com a chuva permite a origem de diversas nascentes na porção norte-oriental, correspondente ao estado do Ceará (Inesp 2009), onde são encontradas as matas úmidas que são o habitat do soldadinho do Araripe.

A porção da Chapada onde é encontrada a espécie está sob regime de proteção da Área de Proteção Ambiental (APA) do Araripe, uma área de uso sustentável. Mais recentemente a espécie foi registrada em áreas de grotas que correspondem a Floresta Nacional (FLONA) do Araripe no topo da Chapada, que por ser uma unidade de proteção integral é fundamental para a permanência da espécie, além de servir como zona de amortecimento da encosta, onde se concentra mais de 95% da população do soldadinho do Araripe (Figura 2) (Aquasis 2006).

A distribuição da espécie não é uniforme nessa faixa de mata úmida, e sim concentrada junto às nascentes e córregos, fazendo com que a área de ocorrência seja de apenas 31 km² no terreno sinuoso da encosta da Chapada do Araripe. Na região se encontram 130 nascentes, sendo que em 91 dessas foi registrada a presença do soldadinho do Araripe e em 74 nascentes foram registrados machos vocalizando, comportamento utilizado como indicativo de sítios de nidificação (Aquasis 2006). Este estudo foi realizado em dois municípios no estado do Ceará: Barbalha e Crato (Figura 3), em seis áreas distintas (1 em Barbalha e 5 em Crato), sendo a de Barbalha denominada Riacho do Meio, e as de Crato: Grangeiro, Nascente, Caianas, Advogados e Serrano (Figura 3 e 4).

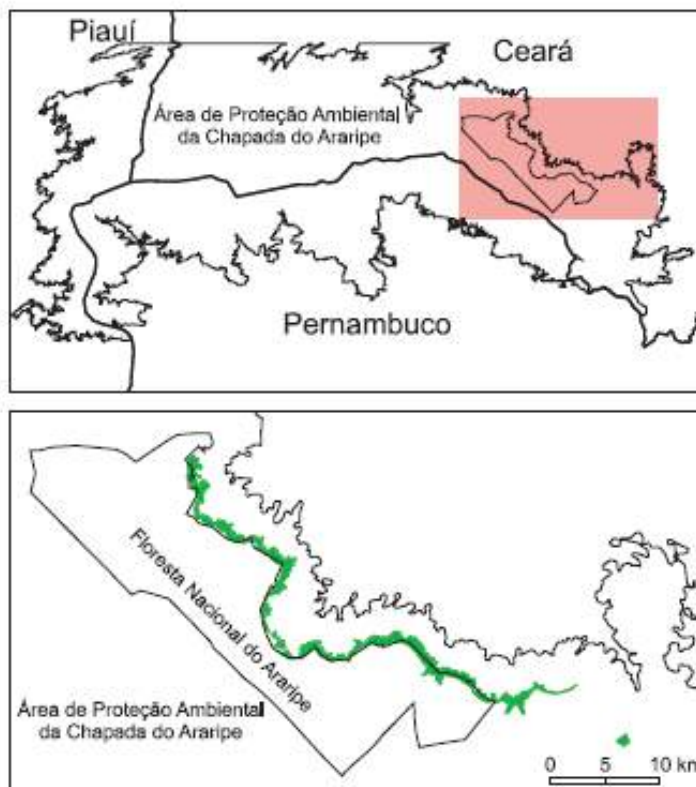


Figura 2- A imagem superior indica os limites da APA da Chapada do Araripe entre os estados do Piauí, Ceará e Pernambuco. O retângulo vermelho destaca a FLONA do Araripe. A imagem inferior é uma ampliação da região que correspondente ao estado do Ceará, e em verde está indicada a área de ocorrência de *A. bokermanni* (imagem: Aquasis, 2006).



Figura 3- Localização das seis áreas amostradas no presente estudo na Chapada do Araripe entre os anos de 2013 a 2016.



Figura 4- Distribuição das cinco áreas amostradas no município de Crato-CE, na Chapada do Araripe.

REFERÊNCIAS

- Alatalo RV, Lundberg A, Glynn C, 1986. Female pied flycatchers choose territory quality and not male characteristics. *Nature* 323: 152 -153.
- Andersson MB, Simmons LW. 2006. Sexual selection and mate choice. *Trends Ecol Evol*: 21: 296–302.
- Andersson, M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press. 599 p.
- Aquasis. 2006. Plano de conservação do soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*). 1–36.
- Beehler BM, Foster MS. 1988. Hotshots, Hotspots and female preference in the organization of lek Mating Systems. *Am Nat*. 131: 203–219.
- Bennett PM, Owens IPF (2002) *Evolutionary Ecology of Birds: Life History, Mating Systems and Extinction*. Oxford University Press, Oxford.
- Birkhead T, Møller A. 1993. Female control of paternity. *Trends Ecol Evol*. 8: 100–4.
- Burley NT, Foster VS. 2006. Variation in female choice of mates: Condition influences selectivity. *Anim Behav*. 72: 713–719.
- Burley NT, Foster VS. 2006. Variation in female choice of mates: Condition influences selectivity. *Anim Behav*. 72: 713–719.
- Caro SP, Sewall KB, Salvante KG, Sockman KW. 2010. Female Lincoln's sparrows modulate their behavior in response to variation in male song quality. *Behav Ecol*. 21: 562–569.
- Coelho G, Silva WAG. 1998. A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia - Brazilian Journal of Ornithology* 6: 81-84.
- Cotton S, Small J, Pomiankowski A. 2006. Sexual selection and condition-dependent mate preferences. *Curr. Biol*. 16: 755–65.

- Danchin É, Giraldeau LA, Cézilly F. 2005. *Ecologia Comportamental*. Instituto Piaget, Lisboa, Portugal.
- Darwin C. 1859. *The Origin of Species, by Means of Natural Selection*. Murray, London.
- Darwin C. 1871. *Principle of Sexual Selection*. In: *Descent of man and Selection in Relation to sex*. 58 p.
- Double M, Cockburn A. 2000. Pre-dawn infidelity: females control extra-pair mating in superb fairy-wrens. *Proc Biol Sci*. 267: 465–70.
- Dvorak AM. 1984. Genetic Consequences of Mate Choice: A Quantitative Genetic. *Science*. 227: 1061–1063.
- Eshel I, Volovik I, Sansone E. 2000. On Fisher – Zahavi’s handicapped sexy son. *Evol. Ecol. Res.* 2: 509–523.
- Figueira MA. 1989. Atlas do Ceará, vegetação. p 24-25. Em: IPLANCE, Fund. Inst. de Planejamento do Ceará, Fortaleza: IPLANCE.
- Fisher RA. 1915. The evolution of sexual preference. *Eugen Rev.* 7: 184–92.
- Forstmeier W, Kempenaers B, Meyer A, Leisler B. 2002. A novel song parameter correlates with extra-pair paternity and reflects male longevity. *Proc Biol Sci*. 269: 1479–85.
- Girão W, Souto A. 2005. Breeding period of Araripe Manakin *Antilophia bokermanni* inferred from vocalisation activity. *Cotinga*. 24: 35–37.
- Gowaty PA (1996) Field studies of parental care in birds: new data focus questions on variation among females. In: *Advances in the Study of Behaviour* (eds Snowdon CT, Rosenblatt JS), pp. 476–531. Academic Press, New York.
- Griffith SC, Immler S. 2009. Female infidelity and genetic compatibility in birds: The role of the genetically loaded raffle in understanding the function of extrapair paternity. *J Avian Biol.* 40: 97–101.

- Griffith SC, Montgomerie R, Küpper C, Cuthill IC, Kis J, Lanctot RB, Sandercock BK, Székely T, Wallander J, Kempenaers B, Chieffi A. 2003. Why do birds engage in extra-pair copulation? *Nature*. 422: 833–834.
- Griffith SC, Owens IPF, Thuman KA. 2002. Extra pair paternity in birds: A review of interspecific variation and adaptive function. *Mol Ecol*. 11: 2195–2212.
- Hoelzer GA. 1989. The good parent process of sexual selection. *Anim. Behav.* 38:1067–1078.
- Höglund J, Sheldon BC. 1998. The Cost of Reproduction and Sexual Selection and sexual selection The cost of reproduction. *Oikos*. 83:478–483.
- Holveck M-J, Riebel K. 2010. Low-quality females prefer low-quality males when choosing a mate. *Proc Biol Sci*. 277: 153–60.
- Inesp. 2009. Caderno regional da Sub- Bacia do Salgado. Instituto de Estudos e pesquisa para o desenvolvimento do Ceará.
- IUCN 2015. The Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <http://www.iucnredlist.org/>.
- Keyser AJ, Hill GE. 2000. Structurally based plumage coloration is an honest signal of quality in male blue grosbeaks. *Behav. Ecol*. 11: 202–209.
- Kirkpatrick M, Hall DW. 2004. Sexual selection and sex linkage. *Evolution*. 58: 683–691.
- Kirkpatrick M. 1982. Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution (NY)*. 36: 1–12.
- Kokko H, Jennions MD. 2008. Parental investment, sexual selection and sex ratios. *J Evol Biol*. 21: 919–948.
- Lack D. 1968. Ecological adaptations for breeding in birds. Methuen, London.
- Lande R. 1981. Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. *Proc Natl Acad Sci USA*. 78: 3721–3725.

- Linhares KVA, Soares FA, Cristina I, Machado S. 2010. Nest support plants of the Araripe Manakin *Antilophia bokermanni*, a critically endangered endemic bird from Ceará, Brazil. *Cotinga*. 32: 121–125.
- Marini MÂ, Cavalcanti RB. 1992. Mating system of the Helmeted Manakin (*Antilophia galeata*) in Central Brazil. *The Auk* 109: 911–913.
- Mauck ARA, Marschall EA, Parker PG, Mauck RA. 1999. Adult Survival and Imperfect Assessment of Parentage : Effects on Male Parenting Decisions. *Am Nat*. 154: 99–109.
- Moller AP, Alatalo R V. 1999. Good-genes effects in sexual selection. *Proc R Soc B Biol Sci*. 266: 85–91.
- Mulder R a., Dunn PO, Cockburn A, Lazenby-Cohen KA, Howell MJ. 1994. Helpers liberate female fairy-wrens from constraints on extra-pair mate choice. *Proc R Soc London*. 255: 223–229.
- Norris KJ. 1990. Female choice and the evolution of the conspicuous plumage coloration of monogamous male great tits. *Behav Ecol Sociobiol*. 26: 129-138.
- Owens IPF, Hartley IR. 1998. Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism? *Proc R Soc B Biol Sci*. 265: 397–407.
- Petrie M, Doums C, Moller AP. 1998. The degree of extra-pair paternity increases with genetic variability. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95: 9390–9395.
- Petrie M, Kempenaers B. 1998. Extra-pair paternity in birds: Explaining variation between species and populations. *Trends Ecol Evol*. 13: 52–58.
- Petrie M, Lipsitch M. 1994. Avian polygyny is most likely in populations with high variability in heritable male fitness. *Proc R Soc London*. 256: 275–280.
- Pfennig KS, Tinsley RC. 2002. Different mate preferences by parasitized and unparasitized females potentially reduces sexual selection. *J Evol Biol*. 15: 399–406.

- Poulin R, Vickery WL. 1996. Parasite-mediated sexual selection: Just how choosy are parasitized females? *Behav Ecol Sociobiol.* 38: 43–49.
- Prum RO. 1998. Sexual selection and the evolution of mechanical sound production in manakins (Aves: Pipridae). *Animal Behaviour* 55: 977–994.
- Pryke SR, Andersson S. 2005. Experimental evidence for female choice and energetic costs of male tail elongation in red-collared widowbirds. *Biol J Linn Soc.* 86: 35–43.
- Rêgo PS, Araripe J, Silva WAG, Albano C, Thieres P, Campos A, Vallinoto M, Sampaio I, Schneider H. 2010. Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *Auk.* 127: 335–342.
- Riebel K, Holveck M, Verhulst S, Fawcett TW. 2010. Are high-quality mates always attractive? State-dependent mate preferences in birds and humans. *Commun Integr Biol.* 3: 271–273.
- Rolff J. 1998. Parasite-mediated sexual selection: parasitized non-choosy females do not slow down the process. *Behav Ecol Sociobiol.* 44: 73–74.
- Sheldon BC. 1993. Sexually transmitted disease in birds: occurrence and evolutionary significance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 339: 491–7.
- Silva WAG, Rêgo PS. 2004. Conservação do soldadinho-do-araripe *Antilophia bokermanni* (Aves: Pipridae): subsídios para a elaboração do plano de manejo. Curitiba, Obs Aves Pernambuco. 30 p.
- Stutchbury BJM, Morton ES, Piper WH. 1998. Extra-Pair Mating System of a Synchronously Breeding Tropical Songbird. *J Avian Biol.* 29: 72–78.
- Stutchbury BJM, Morton ES. 1995. The Effect of Breeding Synchrony on Extra-Pair Mating Systems in Songbirds. *Behaviour.* 132: 675–690.
- Taylor LA, McGraw KJ. 2013. Male ornamental coloration improves courtship success in a jumping spider, but only in the sun. *Behav Ecol.* 24: 955–967.

- Thornhill R, Alcock J. 1983. *The Evolution of Insect Mating Systems*. Cambridge: Harvard University Press.
- Wallace, A. R. 1889. *Darwinism*. Macmillan, London.
- Westneat DF, Sherman PW, Morton ML. 1990. The Ecology of extra pair copulations in birds. *Curr Ornithol.* 7: 331–369.
- Wickler W, Seibt U. 1983. Monogamy: an ambiguous concept. In: Bateson P (ed) *Mate Choice*. Cambridge University Press (England).
- Wink M, Dyrz A. 1999. Mating system in birds: a review of molecular studies. *Acta Ornithol.* 34: 91–109.
- Zahavi A. 1975. Mate selection—a selection for a Handicap. *J Theor Biol.* 53: 205–214.
- Zeh DW, Zeh JA. 1988. Condition-Dependent Sex Ornaments and Field Tests of Sexual-Selection Theory. *Am Nat.* 132: 454–459.

Capítulo 1

Biología reproductiva de *Antilophia bokermanni* (Aves: Pipridae)

INTRODUÇÃO

O conhecimento dos parâmetros reprodutivos de uma espécie é a base para a formulação de questões sobre sua ecologia, evolução e comportamento (Bartholomew 1986, Rotenberry & Wiens 1989). Apesar da importância do conhecimento de tais parâmetros para muitas aves, principalmente neotropicais, dados básicos são escassos e muitas vezes inexistentes para grande número de espécies (Martin 1996, Stutchbury & Morton 2001, Ricklefs 2012, Marini et al. 2012).

Sabe-se que as diferentes estratégias reprodutivas são moldadas por pressões seletivas (Pianka 1976) e envolvem inúmeras “escolhas” evolutivas, que determinam quando indivíduos devem começar a reproduzir, quantos ninhegos produzir por estação reprodutiva, o tempo de incubação e quanto cuidado dedicar aos ninhegos, entre outros aspectos da reprodução (Ricklefs 2003). Embora essas informações sejam essenciais para o desenvolvimento de estratégias de conservação e planos de manejo, estudos que disponibilizam informações coletadas por longos períodos são praticamente inexistentes em algumas regiões do Brasil, especialmente para espécies de aves endêmicas (Duca & Marini 2011). O número de estudos sobre parâmetros reprodutivos de aves brasileiras cresceu consideravelmente nos últimos anos, mas a maioria deles são para espécies do Cerrado (Macedo 1992, Bianchi 1998, Amaral & Macedo 2003, Carvalho et al. 2007, Dias et al. 2009, Marini et al. 2012).

Apesar das informações ainda escassas, alguns padrões têm sido observados nos estudos existentes, principalmente quanto às divergências nos tamanhos de ninhadas, taxas de predação, sucesso reprodutivo e cuidado parental entre espécies, populações e regiões biogeográficas (temperada vs. neotropical) (Snow 1976). Existem diversos fatores ecológicos, evolutivos e fisiológicos envolvidos nessas diferenças (Stutchbury & Morton 2001). Alguns estudos foram realizados com objetivo de encontrar padrões que expliquem

tais variações (Robinson et al. 1963, Rotenberry & Wiens 1989, Ogden & Stutchbury 1996, Robinson et al. 2000, Formica & Tuttle 2009, Keyel et al. 2013). De forma geral, é assumido que aves neotropicais possuem períodos reprodutivos mais longos, menores ninhadas, maiores taxas de predação de ninho e conseqüentemente menor sucesso reprodutivo que aves de regiões temperadas (Cody 1966, Ricklefs 1966, Murray 1985, Purcell et al. 1997). No entanto, existe uma grande variação quanto à duração do período reprodutivo entre regiões, mesmo quando consideramos apenas o Brasil, onde algumas espécies amazônicas reproduzem ao longo do ano (Johnson et al. 2012), enquanto que para a maioria das espécies do Cerrado, por exemplo, o período reprodutivo é restrito aos meses de setembro e outubro (Marini et al. 2012).

Em zonas temperadas hipóteses com bases empíricas possibilitam entender melhor os fatores que determinam o período reprodutivo das aves (Stutchbury & Morton 2001). A hipótese da disponibilidade de alimento, que sugere que as aves se reproduzem quando o recurso alimentar é mais abundante, é a mais aceita (Lack 1954). Para os Trópicos, existem muitos resultados controversos e poucas evidências que apoiam essa hipótese (Stutchbury & Morton 2001). Muitos estudos encontraram que o período reprodutivo das aves neotropicais está relacionado com o início das chuvas, que de maneira geral, é o período de maior abundância de alimento (Marini 1992, Lopes & Marini 2005, Medeiros & Marini 2007, Rubio & Pinho 2008, Nóbrega & Pinho 2010). No entanto, a maioria desses estudos se concentra nas regiões centro-oeste e sudeste do país.

Outros fatores devem ser considerados para explicar a estação reprodutiva de outras regiões, como a predação de ninhos, o período de muda e seleção sexual (Wunderle Jr 1982, Stutchbury & Morton 2001). Para *Antilophia bokermanni*, por exemplo, a determinação do período reprodutivo foi feita através do registro da frequência de vocalizações dos machos, tendo seu pico nos meses de setembro e outubro, que na região nordeste geralmente

corresponde o pico da seca (especialmente o mês de setembro), sendo a frequência de vocalização negativamente correlacionada com a estação chuvosa (Girão & Souto 2005).

Variações no tamanho da prole podem também influenciar a dinâmica populacional e diferença no sucesso reprodutivo dos indivíduos (Rotenberry & Wiens 1989). A alta taxa de predação tem sido relacionada ao menor tamanho de ninhada nos trópicos e é normalmente atribuída à grande diversidade de predadores, sendo as serpentes os predadores primários de ninhos (Skutch 1985). Porém, nem todos os estudos corroboram essa hipótese (Roper & Goldstein 1997). De fato, vários estudos demonstraram que proles de aves tropicais sofrem altas taxas de predação, podendo ultrapassar 70% (Aguilar et al. 2008, Noske et al. 2008, Marini et al. 2009, Nóbrega & Pinho 2010, Marini et al. 2012), sendo esta a causa principal de perda da ninhada e baixo sucesso reprodutivo (Ricklefs 1969). Para aves que possuem ninhos em forma de cesto abertos, a predação é tão alta que apenas 29% dos ninhos chegam à fase de emplumar-se (Robinson et al. 2012).

Ainda, a predação é um dos fatores capazes de moldar as táticas de cuidado parental das espécies (Martin et al. 2000). Skutch (1985) sugeriu que predadores usam a atividade dos pais para localizar os ninhos, gerando um custo da predação que limitaria a frequência na qual os pais podem alimentar os ninhos, afetando assim, o tamanho da ninhada (quanto menor a prole menor a atividade dos pais no ninho). Este custo favoreceria a evolução da redução das visitas dos pais em regiões onde a taxa de predação é alta (Martin et al. 2000).

Os benefícios do cuidado parental variam entre espécies, e muitos fatores aumentam o valor desse cuidado, sendo o aumento da sobrevivência dos ninhos o benefício primário desse comportamento (Slater & Halliday 1994). Em piprídeos o cuidado parental é geralmente realizado apenas pela fêmea, assim como a construção dos ninhos (Prum 1997, Doucet 2006). Esse fator, provavelmente, é resultado de uma forte pressão de predação sobre a prole, uma vez que machos possuem uma coloração extravagante, enquanto a plumagem

das fêmeas é críptica, geralmente em tons de verde (Martin & Badyaev 1996). Outro fenômeno indicador dessa pressão seria o atraso na mudança de plumagem dos machos, que pode levar até três anos, diminuindo seu risco de predação (Selander 1965, Procter-Gray & Holmes 1981, McDonald 1993). Assim, o conhecimento de parâmetros reprodutivos das diferentes espécies auxilia no esclarecimento de diversas questões evolutivas e fornece uma base para a compreensão do seu comportamento de acasalamento. Além disso, é fundamental para elaboração de ações de conservação, principalmente para espécies criticamente ameaçadas.

Este capítulo tem o objetivo principal de entender quais são os padrões da biologia reprodutiva do soldadinho do Araripe (*Antilophia bokermanni*), uma vez que tais informações são inexistentes e ao mesmo tempo cruciais na geração de hipóteses sobre comportamentos de corte e acasalamento da espécie. Informações detalhadas da espécie encontram-se na seção “Espécie de Estudo”, no início da tese.

Neste capítulo procuramos descrever os parâmetros básicos da biologia reprodutiva de *Antilophia bokermanni*, fornecendo informações acerca do período reprodutivo e territorialidade da espécie, descrição do ninho e detalhes sobre sua construção, sobre a postura de ovos e taxas de sobrevivência de ovos e ninhegos. Também fornecemos informações sobre o comportamento de cuidado com os filhotes.

MÉTODOS

O estudo foi realizado na Chapada do Araripe, área descrita anteriormente (ver Área de Estudo), tendo duração de três estações reprodutivas: 2013/2014 (primeira estação), 2014/2015 (segunda estação) e 2015/2016 (terceira estação).

CAPTURA E MARCAÇÃO DOS INDIVÍDUOS

Os indivíduos de *A. bokermanni* foram capturados com redes de neblina (12m x 2,5m), dispostas próximas aos corpos d'água e trilhas onde a espécie foi observada com

maior frequência. As capturas foram realizadas ao longo dos três anos do estudo, totalizando 18.600 horas/rede. Ainda, sempre que encontrado um ninho que os pais não estavam anilhados, foi montada uma ou duas redes de neblina próximo ao ninho na tentativa de marcar todos os indivíduos da família. Todos os indivíduos capturados foram anilhados com anilhas metálicas fornecidas pelo CEMAVE (IBAMA N°40116-1/CEMAVE N°3731/2) e receberam uma combinação única de três anilhas plásticas coloridas.

Os indivíduos capturados foram pesados com balança de mola (100g) e suas medidas morfológicas da asa direita, tarso esquerdo, narina e cauda foram tomadas com paquímetro de precisão. No caso de machos adultos ainda foram medidos a altura do topete e o comprimento do manto. Ainda, foi realizada a coleta de sangue (0,2ml) de todos os indivíduos capturados, através de punção da veia ulnar. O sangue foi armazenado em álcool 99% para subseqüentes análises genéticas de paternidade (ver Cap. 3 e 4) e para sexagem. Os ninhegos foram anilhados e tiveram seu sangue coletado ainda nos ninhos, sempre que possível.

SEXAGEM

Como dito anteriormente, *A. bokermanni* possui forte dimorfismo sexual, no entanto, machos jovens possuem a plumagem verde como a das fêmeas (eg. Coelho & Silva 1998). Assim, a determinação do sexo dos indivíduos com plumagens verdes (inclusive os ninhegos) só pode ser realizada com confiança através de sexagem genética. Utilizamos as amostras de sangue de todos os indivíduos verdes e dos ninhegos para sexagem. A sexagem foi feita pelo método proposto por Griffith et al. (1998) utilizando dois genes CHD (*chromo-helicase-dna*) que possuem cromossomos sexuais W (CHD-W) e Z (CHD-Z), onde fêmeas possuem ZW e machos possuem ZZ. Para amplificação do DNA foi utilizado o método de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) por meio dos iniciadores 2550/2718 descritos por Fridolfsson & Ellegren (1999).

DETERMINAÇÃO DA ESTAÇÃO REPRODUTIVA E VOLUME DE CHUVAS

O início da estação reprodutiva foi considerado a partir do momento em que a primeira atividade de nidificação foi registrada (construção do ninho, ninho pronto ou ninho ativo). A partir desse ponto inicial foram determinados os períodos de nidificação, incubação, ninhego e revoada (quando os filhotes deixam o ninho). A reprodução foi considerada encerrada quando não foi registrada mais nenhuma dessas atividades.

O volume de chuva foi determinado utilizando os dados da FUNCEME (2016) (Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos), que possui dois postos de coleta de dados na área de estudo. Foram utilizados os dados de volume de chuva mensal (mm) referentes ao mês e ano de cada uma das estações reprodutivas (2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016).

CUIDADO PARENTAL

O comportamento parental foi monitorado através de filmagens dos ninhos durante 1:30h a cada três dias, no período de ninhego com 1 a 2 dias de idade, utilizando duas mini-câmeras digitais (Kodak Zx1 e Multilaser DC115, zoom 10x) posicionadas a 2m do ninho. Através das filmagens foram identificadas cinco categorias de comportamento parental, e para cada filmagem foi registrado o número de horas de cada categoria de comportamento. Foi determinada se a distribuição de alimento para os ninhegos, em ninhos com dois ninhegos, foi feita de forma equivalente, e ainda, se a entrega de alimento era realizada de forma direcional (direita e esquerda).

As câmeras foram camufladas para evitar alteração no comportamento dos indivíduos no ninho e para evitar atrair a atenção de predadores (Figura 1). As filmagens permitiram determinar qual dos pais efetua o cuidado parental e quais os tipos de comportamento efetuados por este. Além disso, foi observado (quando possível) se o tipo de alimento entregue aos ninhegos é semelhante ao consumido pelos adultos, informação obtida através das fezes destes durante a captura (ver capítulo 2 para dieta). Adicionalmente, foi registrado

qualquer comportamento de abandono do ninho, e em qual fase do desenvolvimento dos ninhegos o evento ocorreu, e se possível, qual a causa do comportamento, bem como outros comportamentos relevantes (e.g. encontros agonísticos).



Figura 1- Câmera Multilaser DC115 camuflada e posicionada a 2m do ninho para a coleta de dados de cuidado parental de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe-CE.

PARÂMETROS DE NIDIFICAÇÃO

A busca por ninhos foi realizada seguindo metodologia proposta por Martin e Geupel (1992), que consiste em vasculhar toda a vegetação onde há potencial para a espécie construir os ninhos, nesse caso próximo aos corpos d'água e locais úmidos na encosta da Chapada do Araripe. A metodologia inclui também o acompanhamento dos pais (ou apenas de um deles), principalmente quando estes (ou este) estiverem carregando algum material vegetal (para confecção do ninho) ou alimento (para alimentar os ninhegos). Além disso, através do estudo realizado por Linhares et al. (2010) foi possível direcionar as buscas nas plantas já conhecidas por servirem de suporte para os ninhos de *A. bokermanni*.

Uma vez encontrados, os ninhos foram monitorados a cada dois dias, tendo seu status registrado: ativo (com ovos ou ninhego), pronto (quando o ninho estava pronto mas ainda não se tornara ativo) e em construção (quando o ninho foi encontrado na fase de construção). Quando perto do dia de eclosão (para os ninhos que foram acompanhados desde a construção), as visitas foram realizadas diariamente, no intuito de saber o dia exato da eclosão. Também foram tomadas as medidas do ninho, após este ter seu ciclo de reprodução concluído ou ser abandonado, evitando assim qualquer interferência. Com auxílio de uma trena foi medida a altura do ninho em relação ao solo (m) e com paquímetro foram medidas a profundidade do ninho (mm), o diâmetro externo e interno (mm) e a altura do ninho (mm), além de também ter sido registrado o tipo de material utilizado para a confecção do ninho e quando possível a espécie de planta suporte utilizada.

Os ovos tiveram sua largura e comprimento medidos com paquímetro (mm), foram pesados com balança de mola (Pesola® 100g) e descritos quanto à sua coloração e formato. Foram determinados os principais parâmetros reprodutivos, descritos abaixo, que incluíram: tamanho da ninhada, taxa de predação, taxa de sobrevivência da prole, o tempo de incubação e eclosão, a duração da fase de ninhego e o sucesso ou insucesso do ninho.

Um ninho foi considerado bem sucedido quando a reprodução foi concluída, com a saída de pelo menos um ninhego do ninho (revoada). O ninho foi considerado abandonado quando não teve sua construção concluída, não se tornou ativo ou houve abandono na fase de ovos ou ninhego e foi considerado predado quando houve indícios de tal evento, como ovos ou ninhegos danificados ou removidos. Quando houve predação, foi registrado em qual fase do desenvolvimento ocorreu (ovo ou ninhego).

A definição das fases de incubação e ninhego seguiu o proposto por Mayfield (1975), sendo a fase de incubação referente ao tempo decorrido entre a postura do primeiro ovo até

sua eclosão, e a fase de ninhego referente ao período entre a eclosão do primeiro ovo até a partida do último ninhego.

TERRITÓRIOS REPRODUTIVOS

Utilizamos o termo território reprodutivo para nomear as áreas defendidas pelos machos através de constante vocalização durante o período de reprodução da espécie, mas que não são áreas necessariamente utilizadas com exclusividade por estes machos para outros comportamentos tais como se alimentar ou dormir, podendo estes machos utilizar outras áreas (sem ser as que estes defendem) para estes fins. Os territórios foram determinados por meio dos pontos utilizados para emissão de vocalizações dos machos adultos. Sempre que avistado um macho vocalizando em um determinado ponto durante o período reprodutivo ou próximo a um ninho, o local foi marcado com o uso de GPS (GPS Garmin eTrex 10). Esse processo foi repetido quantas vezes foram necessárias, para um mesmo macho, em diferentes pontos de uma determinada área defendida, até que se obteve pontos suficientes para delimitação de seu território (no mínimo seis pontos). Cada macho foi observado por pelo menos três dias, para que fosse confirmada a sua área territorial.

A área do território foi obtida através da união dos pontos mais externos demarcados no GPS (poleiros onde machos vocalizaram): as coordenadas de cada ponto foram inseridas no Google Maps© e utilizando a ferramenta “desenhar polígono”, tais pontos foram unidos formando o polígono do território. Uma vez criado o polígono, sua área foi medida utilizando-se o EarthPoint© (Clark 2016), um *plugin* para o Google Maps que permite medir áreas do mapa em metros quadrados.

A presença ou ausência de córregos ou nascentes dentro da área de cada território foi registrada no intuito de avaliar se esta medida influencia no tamanho do território do macho, pois a presença de água é importante para a reprodução de inúmeras espécies de aves. A presença de água pode permitir uma melhor termoregulação de ovos e ninhegos e resultar na

frutificação de plantas (Grant 1982, Westmoreland et al. 2007), e acreditamos que possa ser uma importante medida da qualidade do território para *A. bokermanni*. A proximidade aos corpos de água permanentes poderia ser um fator chave para a reprodução da espécie na região, devido à escassez e imprevisibilidade de chuvas na região nordeste (Marengo 2010).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Sobrevivência e predação na fase de ovos e ninhegos

O cálculo da taxa de sucesso reprodutivo foi realizado utilizando o programa MARK (White & Burnham 1999, Dinsmore & Dinsmore 2007), que além de fornecer a taxa de sobrevivência diária (TSD) dos ninhos, permite ainda gerar e selecionar modelos que incluem co-variáveis que podem influenciar essas taxas e ainda uma avaliação se a TSD varia ao longo da estação reprodutiva de forma linear ou quadrática, sendo possível também o cálculo da TSD constante, como utilizada no método de Mayfield (Mayfield 1975).

Os modelos foram selecionados pelo Critério de Informação de Akaike (AIC – Akaike’s Information Criterion, Burnham & Anderson 2002), onde os valores de AIC são corrigidos para amostras pequenas (AIC_c). Um modelo foi considerado bom o suficiente para explicar os dados quando $\Delta AIC_c < 2$ (Burnham & Anderson 2002). Os pesos normalizados de Akaike (pesos de AIC) são calculados para cada modelo, e permitem avaliar suas respectivas importâncias na modelagem dos dados, considerando todos os modelos comparados (Burnham & Anderson 2002). A importância relativa de cada variável (soma dos pesos de AIC de todos os modelos que a incluem) foi considerada no intuito de verificar a evidência da sua importância na predição da TSD.

O programa Mark exige que se cumpram cinco premissas, para melhor confiança de suas análises, as quais procuramos preencher: 1) identificação da idade do ninho no dia do encontro (ver procura e monitoramento de ninhos); 2) determinação do destino do ninho (ver procura e monitoramento de ninhos); 3) ausência de influência antropogênica sobre a

sobrevivência; 4) independência entre os destinos dos ninhos; e 5) homogeneidade nas TSDs (Dinsmore & Dinsmore 2007). Consideramos que o encontro do ninho e as checagens subsequentes não influenciaram a TSD (premissa 3), pois os ninhos não foram marcados com nenhum material e foram feitas apenas breves aproximações nos ninhos, evitando chamar a atenção de predadores. A premissa 4, não foi completamente cumprida, uma vez que alguns ninhos pertenciam a uma mesma fêmea, no entanto como os locais e períodos que estes ninhos foram encontrados eram diferentes dos iniciais, consideramos suficientemente independentes. Com relação à premissa 5 (homogeneidade nas TSDs), foi considerado que todos os ninhos possuíam as mesmas condições ecológicas, uma vez que ocorreram no mesmo tipo de vegetação (mata úmida). No entanto, como os ninhos estavam distribuídos em seis áreas diferentes e cada uma pode sofrer diferentes influências (e.g. atividades humanas) além de possuírem diferentes tamanhos, foi criada a variável “Área” para ser incluída nos modelos. O mesmo vale para os períodos reprodutivos, por serem estes três anos distintos, foi criada a variável “Ano”, para que fosse possível considerar o seu efeito na TSD, portanto devido à inclusão das variáveis área e ano, considerou-se que todos os ninhos sofreram o mesmo risco de insucesso (premissa 5).

Nos modelos foram incluídas as co-variáveis das medidas do ninho diâmetro externo (mm) e altura do ninho em relação ao solo (m). As outras medidas tomadas do ninho (diâmetro interno, profundidade e altura) foram excluídas dos modelos por estarem correlacionadas entre si, sendo selecionada apenas a variável diâmetro externo por ter aparentemente uma relevância maior sobre a sobrevivência dos ninhegos, como avaliado *a priori* nos modelos. Ainda foram incluídas as outras duas co-variáveis mencionadas anteriormente: a área amostrada (Área) e as três estações reprodutivas (Ano).

Como para muitas espécies (Lopes e Marini 2005, Duca & Marini 2005, Carvalho et al. 2007) a TSD na fase de ovos difere da TSD na fase de ninhegos devido a fatores como

tempo de exposição e atividade dos pais no ninho, as análises dos modelos foram feitas em três etapas: (1) TSD geral para a espécie, onde não se fez distinção entre fases (ovos ou ninhegos); (2) TSD apenas para o período de incubação (fase de ovos); e (3) TSD apenas para o período de ninhego. Em cada uma delas, foi avaliada a TSD por período reprodutivo, TSD por área amostrada e os modelos incluindo as co-variáveis de medidas do ninho. Devido ao tamanho amostral distinto para medidas do ninho, optou-se por fazer modelos apenas com o diâmetro externo (incluindo período reprodutivo e área), modelos apenas com a altura do ninho em relação ao solo (incluindo período reprodutivo e área) e finalmente com essas duas co-variáveis inclusas.

A “história de encontro” de cada ninho foi construída utilizando os cinco parâmetros exigidos para a modelagem no programa MARK: 1) dia em que o ninho foi encontrado; 2) último dia em que o ninho foi encontrado ativo; 3) último dia de checagem do ninho; 4) destino do ninho: sucesso ou insucesso; e 5) número de ninhos com aquela história de encontro. Além desses cinco parâmetros foram incluídas as quatro co-variáveis mencionadas anteriormente: diâmetro externo do ninho, altura do ninho em relação ao solo, área amostrada e estação reprodutiva (ou ano).

Os períodos reprodutivos foram transformados em dias corridos para a análise no programa MARK, e utilizou-se então a duração da estação mais longa para a análise da sobrevivência geral da espécie (onde a fase de ovos e ninhegos não foi distinta) e das fases de ovos e ninhegos. O primeiro dia de uma estação foi considerado o dia em que foi encontrado o primeiro ninho ativo (com ovos), sendo este o dia 1, e o último dia aquele em que foi observado um ninho ativo (com ovos ou ninhego). A estação mais longa foi a primeira (2013/2014) com 138 dias de ninhos ativos. Para as análises de sobrevivência apenas da fase de ovos o número de dias corridos utilizado foi 131, uma vez que após esse período decorrido não foram observados ninhos com ovos, e para as análises de sobrevivência da fase de

ninho foram utilizados 138 dias já que o último dia da estação corresponde ao último dia de ninho ativo.

Cuidado Parental

Os vídeos de cuidado parental foram analisados no programa JWatcher Video® (Blumstein & Daniel 2007) que permite a quantificação de um determinado comportamento, bem como registra a quantidade de tempo que um determinado comportamento foi realizado.

Nos ninhos com dois ninhegos, para avaliar se o adulto entrega alimento mais frequentemente em uma determinada direção (direita ou esquerda em relação à câmera) ou se a taxa de entrega de alimento é propositalmente direcionada para um dos ninhegos, foram realizados testes t-Student para cada ninho, uma vez que a unidade amostral nesse caso foi o número de entregas de alimentos para cada ninho, e o intuito dessa análise foi analisar a diferença em cada ninho e não um padrão geral para a espécie. No entanto, também foi realizado um teste t-Student com o número de vezes em que cada ninhego (1 e 2) foi alimentado para os ninhos com dois ninhegos. O ninhego 1 foi sempre marcado com tinta preta, sendo sempre re-marcado quando necessário e sua posição no ninho (direita ou esquerda) registrada sempre antes do início das gravações.

Foi testado ainda se houve diferença no tempo gasto em cada comportamento de cuidado parental, entre ninhos com um e dois ninhegos, e para isso foi realizado test t-Student para cada comportamento observado. Todos os testes estatísticos dessa parte do estudo foram realizados no programa PAST 3.13 (Hammer et al. 2001).

Territórios reprodutivos

Com o intuito de analisar se os tamanhos dos territórios diferem quanto a presença/ausência de córregos e nascentes, como os dados não apresentaram uma distribuição

normal, foi utilizada uma análise de Mann-Whitney (U-test) no pacote estatístico PAST 3.13 (Hammer et al. 2001).

RESULTADOS

CAPTURA, MARCAÇÃO E DEFINIÇÃO DO PERÍODO REPRODUTIVO

Foram anilhados e coletadas amostras de sangue de 350 indivíduos (231 adultos e 119 ninhegos). Destes foram sexados 181 machos e 169 fêmeas, sendo que entre os 119 ninhegos, foi possível a sexagem de 113, sendo a razão sexual destes bastante equilibrada: 55 fêmeas e 58 machos. O peso médio dos machos adultos foi de $20.65 \pm 0.10\text{g}$ e das fêmeas $20.69 \pm 0.16\text{g}$, não havendo diferença estatística ($U = 4118.5$, $P = 0.86$). Durante as três estações reprodutivas amostradas foram encontrados 190 ninhos (79 em 2013/2014, 81 em 2014/2015 e 30 em 2015/2016), e destes 124 se tornaram ativos e 75 chegaram a fase de ninhego. Dentre os ninhos ativos, 53 não obtiveram sucesso por diferentes motivos: 10 foram abandonados, 32 predados, cinco foram perdidos por outras razões (chuvas derrubaram ninho, árvore caiu sobre o ninho) e nove filhotes, pertencentes a seis ninhos, morreram no ninho em duas áreas. Ainda, 16 fêmeas ejetaram um dos ovos para fora do ninho. Para todos os ninhos que se tornaram ativos e foram abandonados, o abandono ocorreu durante a fase de incubação.

O período de nidificação foi considerado a partir do primeiro ninho a ser encontrado e terminando no dia de atividade do último ninho mais tardio encontrado, durante as três estações. Sendo assim foi determinado que o período de nidificação inicia-se no dia 30 de outubro (referente ao ninho encontrado mais cedo, pertencente a segunda estação) e termina no dia 4 de abril (referente ao ninho mais tardio, pertencente a terceira estação). O período de incubação variou entre as estações sendo estes: entre 08 de novembro de 2013 a 15 de fevereiro de 2014 (primeira estação), 03 de novembro de 2014 a 27 de fevereiro de 2015

(segunda estação) e 28 de novembro de 2015 a 01 de abril de 2016 (terceira estação). O mesmo ocorreu para o período de ninhego sendo este de 05 de dezembro de 2013 a 26 de março de 2014 (primeira estação), 24 de novembro de 2014 a 14 de março de 2015 (segunda estação) e 29 de janeiro de 2016 a 24 de março de 2016 (terceira estação). Portanto, de modo geral definimos os período de incubação entre 03 novembro a 26 de março, e o período de ninhego de 24 de novembro a 26 de março.

Pode-se observar que o período de incubação terminou após o período de ninhego para a terceira estação (último ninho com ovos foi observado no dia 01 de abril de 2016). No entanto, essa observação foi referente a apenas um ninho que foi predado, não chegando a fase de ninhego. Assim, decidimos não utilizar essa observação para a definição do período de incubação, uma vez que acreditamos ser uma exceção, não representando o período de incubação de toda a espécie.

O período de revoada (primeiro dia em que um ninhego deixa o ninho) iniciou-se em 25 de dezembro de 2013 para a primeira estação (2013/2014), 05 de dezembro de 2014 para a segunda estação (2014/2015) e 15 de fevereiro de 2016 para a terceira estação (2015/2016). O último dia em que um filhote voou para cada estação foi 27 de março de 2014 (primeira estação), 15 de março de 2015 (segunda estação) e 25 de março de 2016 (terceira estação). Dessa forma, o período de revoada pode ser definido como sendo entre 05 de dezembro a 27 de março.

Os dados pluviométricos obtidos no site da FUNCEME (Fundação Cearense de Meteorologia e recursos hídricos), para cada mês/ano de coleta de dados reprodutivos podem ser visualizados na figura 2. Na primeira estação (2013/2014) o volume de chuva foi maior (1.589mm^3 , $\bar{X}: 197,87 \pm 65,5$), no entanto as chuvas iniciaram apenas em novembro. Já na segunda estação (2014/2015), ainda que em menor volume total para a estação (976mm^3 , $\bar{X}: 122,7 \pm 54,9$), as chuvas parecem ter sido mais bem distribuídas ao longo do período

reprodutivo, sendo que as primeiras chuvas, mesmo sendo em menor volume (6mm), ocorreram no mês de setembro. A terceira estação (2015/2016) foi a que apresentou o menor volume de chuvas (767mm^3 , $\bar{X}: 95,8 \pm 53,8$) (Figura 2).

A relação entre o início da construção dos ninhos e o volume de chuvas para a região não foi analisada estatisticamente devido à necessidade de uma amostragem de um número maior de anos para que isso fosse possível. No entanto, observando o gráfico pluviométrico (Figura 2) pode-se notar que a espécie só começou a nidificar após a ocorrência de certa quantidade de chuva. Ainda na figura 2, é possível verificar que o número de ninhos encontrados por mês, bem como o número de ninhegos presentes durante cada mês/ano parece ser bastante dependente da chuva. Isso fica mais claro principalmente para o final de 2015, onde o atraso nas atividades reprodutivas foi de quase três meses, quando comparado com os outros dois anos de amostragem, provavelmente devido ao menor volume de chuvas registrado anterior à nidificação (anterior à janeiro). Ainda no período de 2014/2015 (segunda estação), mesmo a pouca chuva em setembro parece ter influenciado o início precoce da construção de ninhos (1º ninho em construção encontrado em 30 de outubro de 2014), quando comparado com os outros anos amostrados.

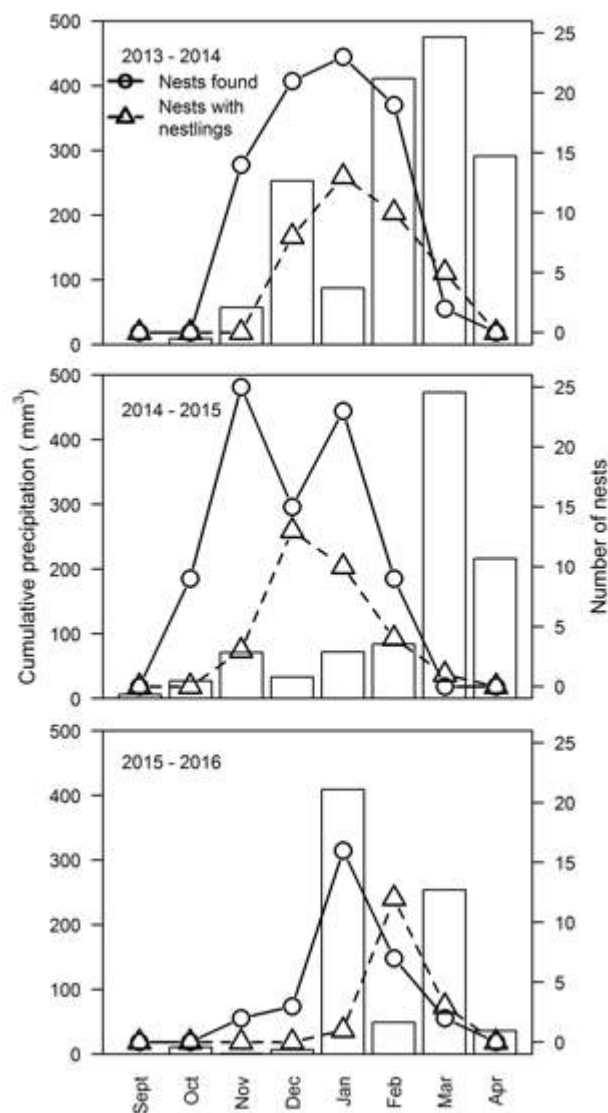


Figura 2- Número de ninhos de *Antilophia bokermanni* encontrados e número de ninhos com ninhegos em relação ao volume de chuvas durante as três estações reprodutivas amostradas na Chapada do Araripe-CE.

CONSTRUÇÃO E DESCRIÇÃO DOS NINHOS

Foram observados 54 ninhos durante a fase de construção nos três períodos de coleta (Figura 4), sendo três destes filmados durante 2h cada, no intuito de verificar se os dois pais contribuem com alimentação dos ninhegos. Em todos os ninhos observados durante essa fase e nos três que foram filmados apenas a fêmea efetuou a construção de ninhos.

Os ninhos são abertos no formato de cestas, construídos em forquilhas de plantas de inúmeras espécies. A fêmea utiliza teias de aranha e folhas secas nas fases iniciais de

construção (Figura 3) e finaliza com gravetos muito finos no interior do ninho (Figura 4). O tempo de construção dos ninhos é em média 4 dias (N=54). As medidas dos ninhos (N=63) são: altura= $55,87 \pm 1,38$ mm; diâmetro interno= $46,05 \pm 0,87$ mm; diâmetro externo= $72,62 \pm 1,10$ mm; profundidade= $27,18 \pm 0,73$ mm; e altura em relação ao solo= $1,89 \pm 0,37$ m.



Figura 3- Ninho de *Antilophia bokermanni* em fase inicial de construção, na Chapada do Araripe-CE.



Figura 4- Ninho de *Antilophia bokermanni* finalizado, na Chapada do Araripe-CE.

Para 87 ninhos, foram identificadas 14 espécies de plantas suportes, pertencentes a 10 famílias (tabela 1). Três espécies identificadas neste estudo, não haviam sido registradas por Linhares et al. (2010), sendo elas: *Cyathea microdonta*, *Inga* spp. e *Mangifera indica*. *Psychotria colorata* foi a espécie mais utilizada (N=13) dentre os ninhos observados (N=87), seguida por *Hirtella glandulosa* (N=10). Dentre as plantas identificadas as samambaias (*Cyathea* spp.) tiveram o maior número relativo de ninhos perdidos por falta de sustentação (queda do ninho): 10 dos 16 ninhos encontrados caíram.

Tabela 1. Espécies de plantas utilizadas como suporte de ninho de *Antilophia bokermanni* e o número de ninhos registrados em cada uma delas, na Chapada do Araripe, CE, nas estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Família	Espécie	N ninhos
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L.	1
Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand	5
Chrysobalanaceae	<i>Hirtella glandulosa</i> Spreng	10
Cyatheaceae	<i>Cyathea pungens</i> (Willd.) Domin	7
Cyatheaceae	<i>Cyathea microdonta</i> (Desv.) Domin.	9
Fabaceae	<i>Inga</i> spp.	3
Melastomataceae	<i>Henriettea succosa</i> (Aubl.) DC	8
Melastomataceae	<i>Miconia ibaguensis</i> (Bonpl.) Triana	9
Nyctaginaceae	<i>Guapira opposita</i> (Vell.) Reitz	5
Picramniaceae	<i>Picramnia sellowii</i> Planch	7
	<i>Psychotria colorata</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll.	13
Rubiaceae	Arg.	
	<i>Cordia myrciifolia</i> (Spruce ex K. Schum) C. Persson &	5
Rubiaceae	Delprete	
Piperaceae	<i>Piper arboreum</i> var. <i>arboreum</i> Aubl.	3
Piperaceae	<i>Piper arboreum</i> var. <i>hirtellum</i> Yunck.	2

DESCRIÇÃO DOS OVOS E INCUBAÇÃO

Foram acompanhados 117 ninhos durante a fase de ovos. Os ovos possuem formato piriforme com coloração bege e manchas basais mais escuras (Figura 5). As medidas dos ovos são (N=147): comprimento= $23,91 \pm 0,07$ mm; largura= $16,49 \pm 0,05$ mm; e peso= $3,19 \pm 0,03$ g. O número de ovos por ninho pode variar de 1 a 2, sendo a maioria dos ninhos amostrados com dois ovos (N= 97). A diferença no tempo de postura entre o primeiro e o

segundo ovo é de dois dias em média (N= 39 ninhos). Apenas a fêmea efetua a incubação dos ovos, sendo essa iniciada somente após a postura do segundo ovo (para ninhos com 2 ovos) e o tempo médio de incubação é de 19 dias (N=125 ninhos).

Ainda, com relação a postura de ovos, algumas fêmeas (N= 16) que possuíram seus ninhos predados na fase de ovo ou ninhego efetuaram mais de uma postura ou ao menos começaram a construção de outro ninho. Na primeira estação (2013/2014), 11 fêmeas efetuaram mais de uma tentativa de postura; na segunda estação (2014/2015), apenas uma fêmea foi registrada fazendo uma segunda tentativa; e na terceira estação (2015/2016), quatro fêmeas efetuaram mais de uma postura. O maior número de tentativas observado para uma mesma fêmea em uma única estação reprodutiva foi de seis vezes, durante a primeira estação. Dentre as 16 fêmeas que foram observadas nidificando mais de uma vez, apenas cinco obtiveram sucesso, ou seja, os ninhegos voaram, sendo o sucesso obtido na segunda tentativa para quatro fêmeas e na terceira tentativa para uma delas.



Figura 5- Ovos de *Antilophia bokermanni* no ninho, na Chapada do Araripe- CE.

PERÍODO DE NINHEGO, ANÁLISES DE SOBREVIVÊNCIA E MODELOS

Dentre os 124 ninhos que se tornaram ativos, 75 (60%) chegaram à fase de ninhego (N=119 ninhegos), sendo que destes, 56 (74,6%) ninhos tiveram sucesso, ou seja os ninhegos voaram. O período de ninhego tem uma duração média de 16 dias, a partir do dia que eclodem até o dia que deixam os ninhos. As medidas dos ninhegos (referente a última medição com 10 dias de vida) são: peso= $15,01 \pm 0,19$ g; asas= $20,81 \pm 0,29$ mm; tarso= $18,79 \pm 0,19$ mm (N= 51 ninhegos).

A probabilidade dos ovos eclodirem é de 56%, enquanto a taxa de predação dos ovos é de 30%, calculados com o método de Mayfield (Mayfield 1975). Já para os ninhegos a probabilidade de deixarem o ninho é de 72%, e a taxa de predação sobre estes é de 20%. Esses dados são referentes apenas às duas primeiras estações reprodutivas (2013/2014 e 2014/2015). Os dados das três estações juntas (2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016) foram tratados por meio de modelagens no programa MARK, dada a maior relevância desse método.

Como dito anteriormente, os modelos foram avaliados em três etapas (ver métodos) no programa MARK, para as três estações reprodutivas. Para a primeira etapa (sem distinção de períodos de ovos e ninhego) a taxa de sobrevivência diária (TSD) variou entre áreas amostradas e entre períodos reprodutivos (tabela 2), considerando o tempo constante, ou seja, quando a sobrevivência dos ninhos não varia ao longo da estação reprodutiva. A área “Advogados” apresentou maior sobrevivência (63,3%) e a área “Serrano” a menor (1,3%); no entanto, é preciso atentar-se para o número de ninhos encontrados em cada área, sendo o tamanho amostral (N ninhos) para a área “Grangeiro” consideravelmente maior que as demais. Já em relação aos períodos reprodutivos, o segundo ano de amostragem (2014/2015) apresentou uma sobrevivência maior (47%) e o terceiro ano (2015/2016) a menor sobrevivência, apenas 37% (tabela 2).

Tabela 2. Sobrevivência diária (DSR) geral (ovos e ninhos juntos) por área amostrada e por período reprodutivo amostrado (Ano), com tempo constante, de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, nas estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Variável	DSR	DSR ³⁵	Sobrevivência %	N ninhos
Área				
Grangeiro	0,97	0,386	38,6	62
Nascente	0,97	0,404	40,5	17
Caiana	0,96	0,314	31,5	16
Riacho do meio	0,97	0,438	43,8	14
Advogados	0,98	0,632	63,3	12
Serrano	0,88	0,013	1,3	3
Ano				
2013/2014	0,96	0,33	33,2	54
2014/2015	0,97	0,47	47	39
2015/2016	0,97	0,37	37	31

Em relação aos modelos para essa primeira etapa das análises de sobrevivência, o modelo com menor valor de AIC que ajustou a TSD foi o que incluiu: o tempo constante (Tc), diâmetro externo (externdiam) e área amostrada (area1), e este modelo possui 26% de evidência de ser o melhor modelo (tabela 4). Outros modelos também tiveram baixos valores de AIC, no entanto as evidências de que estes seriam modelos relevantes, são inferiores a 14% (tabela 3).

Tabela 3. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para sobrevivência diária geral (fase de ovos e ninhos, N= 47 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1).

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tc + externdiam + area1}	182,557	0	0,264	1	4	174,51
{Tc + externdiam}	183,871	1,314	0,136	0,51	2	179,85
{Tc + area1}	184,115	1,558	0,121	0,45	3	178,09
{Tc + externdiam + height + area1}	184,440	1,883	0,103	0,39	5	174,38
{T constante}	184,953	2,396	0,079	0,30	1	182,94
{Tl + externdiam}	185,784	3,226	0,052	0,19	3	179,76

{Tl + area1}	185,824	3,267	0,051	0,19	4	177,78
{Tc + exterdiam + height}	185,875	3,318	0,050	0,19	3	179,85
{Tc + height+ area1}	185,983	3,426	0,047	0,18	4	177,94
{T linear}	186,928	4,371	0,029	0,11	2	182,91
{Tc + height}	186,940	4,383	0,029	0,11	2	182,92
{Tc + ano1}	188,758	6,201	0,011	0,04	3	182,73
{Tl + height}	188,924	6,366	0,010	0,04	3	182,90
{Tq}	188,940	6,382	0,010	0,04	3	182,91

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados.

Para a fase de incubação (período de ovos), também foram observadas diferentes TSDs entre as áreas amostradas e os períodos reprodutivos (tabela 4). Novamente, a área “Advogados” foi a que apresentou a maior sobrevivência (90%) e a área “Serrano” a menor (3%). A área “Grangeiro” apresentou uma sobrevivência também alta (63%), para os 57 ninhos analisados na fase de ovos. Em relação ao período reprodutivo, o segundo ano (2014/2015) apresentou a maior sobrevivência (72%) para a fase de ovos e o primeiro ano a menor (54%).

Tabela 4. Sobrevivência diária (DSR) para período de incubação (fase de ovos), por área amostrada e período reprodutivo amostrado (Ano), com tempo constante, de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Variável	DSR	DSR ¹⁹	Sobrevivência %	N ninhos
Área				
Grangeiro	0,97	0,63	63	57
Nascente	0,96	0,52	52	17
Caianas	0,96	0,46	46	15
Riacho do Meio	0,97	0,56	56	13
Advogados	0,99	0,9	90	12
Serrano	0,88	0,09	9	3
Ano				
2013/2014	0,96	0,54	54	50
2014/2015	0,98	0,72	72	36
2015/2016	0,97	0,57	57	31

Em relação aos modelos analisados para a fase de ovos, quando utilizadas todas as co-variáveis juntas (diâmetro externo, altura, área e estação reprodutiva), o modelo com menor $\Delta AICc$ foi o que incluiu o tempo constante (Tc) e a área amostrada (area1), tendo este 32%

de evidência de ser o melhor modelo. No entanto o modelo que incluiu Tc, área e diâmetro externo (externdiam) também apresentou um valor de $\Delta AICc$ baixo e 25% de evidência de ser o melhor modelo (ANEXO 1).

Como o tamanho amostral variou muito entre áreas (tabela 4), essa co-variável pode ter tido uma influência maior do que teria se os tamanhos amostrais fossem mais similares, uma vez que em algumas áreas a TSD é muito alta ou muito baixa, devido simplesmente ao baixo número de ninhos encontrados. Sendo assim, decidimos avaliar os modelos excluindo a co-variável área. E como pode ser observado na tabela 5, o modelo que incluiu o tempo constante (Tc) foi o que melhor ajustou a TSD para o período de incubação, com valor de ΔAIC menor e 23% de evidência de ser o melhor modelo.

O modelo incluindo Tc e diâmetro externo também apresentou valor de AIC baixo, porém, possui apenas 13% de evidência de ser o melhor modelo. No entanto, quando avaliados os modelos com um tamanho amostral maior (devido à exclusão da co-variável altura do ninho em relação ao solo), o modelo com o tempo linear (Tl) foi o que melhor ajustou a TSD (ΔAIC : 0) para a fase de ovos, indicando que a taxa de sobrevivência diária diminui ao longo da estação reprodutiva, para esta fase (ANEXO 2). Quando analisadas todas as co-variáveis, exceto o diâmetro externo, o modelo que incluiu tempo constante (Tc) e área e o modelo com tempo constante, altura do ninho (height) e área foram os que melhor ajustaram a TSD na fase de ovos, apresentando 50% e 25% de evidência de serem os melhores modelos, respectivamente (ANEXO 3).

Tabela 5. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 47 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1). Sem co-variável área amostrada.

Model	AICc	Delta AICc	AICc Weights	Model Likelihood	Num. Par	Deviance
-------	------	------------	--------------	------------------	----------	----------

{T constante}	135,075	0	0,230	1	1	133,06
{Tc + externdiam}	136,076	1,001	0,139	0,606	2	132,05
{T linear}	136,153	1,078	0,134	0,583	2	132,13
{Tc + height}	137,005	1,930	0,087	0,380	2	132,98
{Tl + externdiam}	137,212	2,137	0,079	0,343	3	131,17
{Tc + externdiam + height}	138,059	2,983	0,051	0,225	3	132,02
{Tl + height}	138,138	3,063	0,049	0,216	3	132,10
{T quadratico}	138,161	3,086	0,049	0,213	3	132,12
{Tc + ano1}	138,334	3,259	0,045	0,196	3	132,29
{Tq + externdiam}	139,191	4,115	0,029	0,127	4	131,13
{Tl + externdiam + height}	139,233	4,157	0,028	0,125	4	131,17
{Tc + ano1 + externdiam}	139,372	4,296	0,026	0,116	4	131,31
{Tc + ano1 + height}	139,993	4,918	0,019	0,085	4	131,93
{Tq + height}	140,157	5,081	0,018	0,078	4	132,09
{Tq + externdiam + height}	141,213	6,137	0,010	0,046	5	131,12

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

Considerando apenas a fase de ninhego (terceira etapa das análises de sobrevivência), também observou-se variações nas TSDs entre áreas amostradas e períodos reprodutivos (tabela 6). Sendo a área “Nascente” a que apresentou maior sobrevivência (100%), onde todos os ninhos que chegaram até a fase de ninhego (N=9) tiveram sucesso. A área com menor sobrevivência foi “Advogados” (sobrevivência: 59%). Em relação aos períodos reprodutivos o primeiro ano (2013/2014), apresentou maior sobrevivência (71%), quando comparado com o segundo (62%) e terceiro (67%) períodos reprodutivos (tabela 6).

Tabela 6. Sobrevivência diária (DSR) para período de ninhego, por área amostrada e por período reprodutivo (Ano) amostrado com tempo constante para de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016.

Variável	DSR	DSR ¹⁶	Sobrevivência %	N ninhos
<u>Área</u>				
Grangeiro	0,97	0,65	65	39
Nascente	1,00	1,00	100	9
Caiana	0,96	0,55	55	11

Variável	DSR	DSR¹⁶	Sobrevivência %	N ninhos
Riacho do Meio	0,97	0,61	61	5
Advogados	0,96	0,59	59	11
Ano				
2013/2014	0,98	0,71	71	31
2014/2015	0,97	0,62	62	28
2015/2016	0,97	0,67	67	16

Em relação às análises de seleção de modelos para a fase de ninhego, quando utilizadas todas as co-variáveis (diâmetro externo, altura, área e estação reprodutiva), o modelo que melhor ajustou a TSD foi o que inclui tempo linear (TI), período reprodutivo (ano1), área amostrada (área 1), diâmetro externo (externdiam) e altura do ninho em relação ao solo (height), apresentando 17% de evidência de ser o melhor modelo (ANEXO 4). No entanto, assim como realizado para a fase de ovos, devido a grande diferença nos tamanhos amostrais entre áreas amostradas, optou-se novamente por verificar a seleção de modelos sem essa co-variável. E foi observado que o modelo com o tempo constante e período reprodutivo (ano1) foi o que melhor ajustou a TSD para a fase de ninhego, com 26% de evidência de ser o melhor modelo, seguido pelo modelo que incluiu tempo linear, período reprodutivo (ano1), diâmetro externo (externdiam) e altura do ninho em relação ao solo (height) com evidência de que este é um bom modelo de 18% (tabela 7). O modelo que inclui tempo linear e ano, apresentou taxa de sobrevivência constante ao longo do primeiro ano (2013/2014), no entanto para o segundo e terceiro anos de amostragem, a sobrevivência foi menor no início da estação reprodutiva, aumentando ao longo desta.

No caso dos dados para fase de ninhego, todos os ninhos que possuíam dados de altura do ninho possuíam dados de diâmetro externo, mas o oposto não é verdade, sendo então analisados os dados sem a altura do ninho apenas, na intenção de se utilizar um maior tamanho amostral. Para a análise incluindo todas as co-variáveis exceto altura do ninho em relação ao solo, o modelo que melhor ajustou a TSD para a fase de ninhego foi o que inclui o tempo quadrático e área amostrada (area1) com 20% de evidência de que é o melhor modelo

(tabela 8). Isso indica que a sobrevivência dos ninhegos oscila ao longo da estação, sendo menor no início e no final e tendo seu pico no meio da estação reprodutiva (Tabela 9).

Tabela 7. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 28 ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1). Sem co-variável área amostrada.

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tc + ano1}	39,461	0	0,263	1	2	35,42
{Tl + ano1+ externdiam + height}	40,154	0,693	0,186	0,706	5	29,95
{Tl + ano1+ externdiam }	40,656	1,195	0,145	0,55	4	32,52
{Tl + ano1}	40,867	1,406	0,130	0,495	3	34,78
{Tl + ano1+ height}	40,977	1,516	0,123	0,468	4	32,84
{Tc + externdiam}	43,887	4,426	0,028	0,109	2	39,84
{T linear}	43,987	4,526	0,027	0,104	2	39,94
{T constante}	44,342	4,881	0,022	0,087	1	42,32
{Tl + externdiam}	44,712	5,251	0,019	0,072	3	38,63
{Tc + externdiam + height}	45,919	6,458	0,010	0,039	3	39,83
{Tl + height}	46,006	6,545	0,01	0,037	3	39,92
{Tc + height}	46,355	6,894	0,008	0,031	2	42,31
{Tq + externdiam}	46,563	7,102	0,007	0,028	4	38,43
{Tl + height + externdiam}	46,76	7,299	0,006	0,026	4	38,62
{Tq + height}	47,028	7,567	0,006	0,022	4	38,89
{Tq + height + externdiam}	48,570	9,109	0,002	0,010	5	38,37

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

Tabela 8. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 50 ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável altura do ninho em relação ao solo (height).

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tq + area1}	86,990	0	0,204	1	5	76,88
{Tc + area1}	88,339	1,348	0,104	0,509	3	82,29
{T quadrático}	88,422	1,432	0,100	0,488	3	82,38
{Tq + area1 + externdiam}	88,904	1,913	0,078	0,384	6	76,75
{Tq + area1 + ano1}	89,024	2,034	0,074	0,361	7	74,82
{Tc + area1 +externdiam}	89,114	2,124	0,070	0,345	4	81,04
{Tl + area1}	89,151	2,160	0,069	0,339	4	81,08
{T constante}	89,724	2,733	0,052	0,254	1	87,71
{Tc + area1 + ano1}	89,981	2,991	0,045	0,224	5	79,87
{Tc + externdiam}	90,377	3,387	0,037	0,183	2	86,35
{Tq + externdiam}	90,391	3,401	0,037	0,182	4	82,32
{Tq + ano1}	90,767	3,777	0,030	0,151	5	80,66
{T linear}	90,802	3,812	0,030	0,148	2	86,78
{Tl + externdiam}	91,855	4,864	0,017	0,087	3	85,81
{Tc + externdiam + ano1}	92,394	5,404	0,013	0,067	4	84,32
{Tq + ano1 + externdiam-}	92,582	5,592	0,012	0,061	6	80,43
{Tc + ano1}	92,590	5,600	0,012	0,060	3	86,54
{Tl + ano1}	93,900	6,909	0,006	0,031	4	85,82

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

Período/ variável	Importância Relativa				B ± EP							
	1	2	3	4	1		2		3		4	
Tc	0,84	---	---	---	5,940	2,329	---	---	---	---	---	---
Tl	0,14	---	---	---	-0,0003	0,0117	---	---	---	---	---	---
Tq	0,01	---	---	---	4,05E-08	0,0001	---	---	---	---	---	---
Área	0,58	---	---	---	-0,85663	0,0001	---	---	---	---	---	---
Ano	0,01	---	---	---	-0,0009	0,0086	---	---	---	---	---	---
Diamextern	0,60	---	---	---	-0,0308	0,1018	---	---	---	---	---	---
Altura	0,24	---	---	---	0,0335	0,1722	---	---	---	---	---	---

CUIDADO PARENTAL

Foram analisadas 195h de filmagens em 20 ninhos (12 com dois ninhegos e oito com um ninhego), durante os dois primeiros períodos reprodutivos (2013/2014 e 2014/2015). Em todos os ninhos analisados apenas a fêmea efetuou as atividades de cuidado dos ninhegos.

Os comportamentos observados foram classificados nas seguintes categorias: sentada no ninho (sobre os ninhegos) (Figura 6C), alimentando o ninhego 1, alimentando o ninhego 2 (no caso de dois ninhegos) (Figura 6B), limpando o ninho, vigiando (empoleirada ao lado do ninho) (Figura 6A), limpando os ninhegos, e ausente (quando a fêmea se ausentava do ninho). Dentre estes, o comportamento que a fêmea realizou por mais tempo é o de “sentar no ninho” (33,87 horas), ainda que na maior parte do tempo observado a fêmea estava ausente do ninho (92,21 horas) (tabela 10). Foi observado apenas um encontro agonístico entre uma fêmea de *A. bokermanni* e um indivíduo de *Myiobius atricaudus*. Acreditamos que este encontro seja resultado de disputa por recursos, uma vez que as espécies nidificam muito próximas espacialmente e temporalmente (no mesmo período) uma da outra e durante o mesmo período (observação pessoal).



Figura 6- Atividades de cuidado parental realizadas pelas fêmeas de *Antilophia bokermanni* na Chapada do Araripe- CE. A: vigiando o ninho; B: Alimentando ninhego; C: sentada no ninho.

Dos itens alimentares que foram entregues pela fêmea aos ninhegos, nenhum diferiu dos que foram encontrados nas fezes dos indivíduos adultos. Ainda, foram analisadas as fezes de 12 ninhegos e também nenhuma diferença quanto ao tipo de item alimentar foi encontrada quando comparadas as dietas destes com a dieta dos adultos (para descrição da dieta dos adultos, ver capítulo 2).

Foi ainda averiguado se fêmeas com 1 ou 2 ninhegos apresentam diferentes comportamentos ou gastam mais tempo em determinadas atividades. Não foi encontrada diferença entre ninhos com diferentes números de ninhegos para nenhum dos comportamentos (limpando o ninho: $t=-0,69$, $p=0,49$; limpando ninhegos: $t=-0,21$, $p=0,82$; vigiando: $t=-0,63$, $p=0,53$; sentada no ninho: $t=0,17$, $p=0,86$; tempo ausente: $t=-1,5$, $p=0,13$). Para o comportamento alimentando os filhotes não foi testada a diferença entre ninhos com 1 ou 2 ninhegos, uma vez que os dados para ninhos com dois ninhegos foram coletados separadamente, com o intuito de testar a diferença nesse comportamento dentro de um mesmo ninho.

Para ninhos com dois ninhegos foi analisado se fêmeas dariam preferência para um dos ninhegos (1 ou 2) na entrega de alimento, mas também não foi encontrada diferença significativa ($t= 0,43$; $p=0,66$), sendo o número de vezes e o tempo gasto na distribuição de alimento entre filhotes igual ou muito similar. Em relação à posição de entrega (direita ou esquerda), a fêmea deu maior preferência para o ninhego da direita em apenas um dos ninhos ($t= 5,14$; $p<0,001$), sendo que este ninho foi filmado por mais horas do que os demais (16h de filmagem).

Tabela 10. Tempo despendido pela fêmea de *Antilophia bokermanni* (em horas) para cada comportamento de cuidado relativo aos ninhegos (N=20 ninhos), na Chapada do Araripe-CE.

Comportamento	N Horas efetuada
Limpando o ninho	0,45
Limpando ninhegos	0,53
Alimentando ninhego 2	0,56
Alimentando ninhego 1	1,32
Vigiando	17,46
Sentada no ninho	33,87
Ausente do ninho	92,21

TERRITÓRIOS REPRODUTIVOS

Foram mensurados 29 territórios reprodutivos na primeira (2013/2014), segunda (2014/2015) e terceira (2015/2016) estações reprodutivas. Os territórios foram demarcados por meio de registro da atividade de defesa dos machos em cada área, com canto frequente e perseguições aéreas de machos vizinhos e/ou invasores. Os territórios possuíam em média $1.209 \text{ m}^2 \pm 122$. Onze territórios foram estabelecidos em áreas sem a presença de córregos ou nascentes.

Durante a segunda estação reprodutiva (2014/2015), 10 machos permaneceram nos mesmos territórios estabelecidos previamente durante a campanha de 2013/2014 (dos que já estavam anilhados na primeira estação reprodutiva). Na terceira estação (2015/2016) apenas um macho permaneceu no mesmo território estabelecido na segunda estação (2014/2015). No entanto, dois machos permaneceram na mesma área, com novos territórios entre a estação de 2014/2015 e 2015/2016, sendo que dois machos que haviam estabelecido território em uma das áreas na primeira e segunda estação, migraram para uma outra área durante a terceira estação. Ainda, três machos permaneceram no mesmo território durante as três estações reprodutivas. Observou-se também que mesmo quando um novo macho ocupou um território que pertenceu a outro indivíduo em uma estação prévia, estes ocupavam os mesmo poleiros, sendo a área defendida do território, a mesma.

Muitos territórios encontram-se bastante próximos uns dos outros (Figura 7). Em algumas ocasiões foram observados encontros entre machos vizinhos, onde machos executaram perseguições aéreas, emitindo um som mecânico com as asas e cauda. Ainda, em quatro ocasiões foram observados encontros agonísticos com disputa física, onde machos lutaram no solo.



Figura 7- Distribuição de 16 territórios reprodutivos estabelecidos por machos de *Antilophia bokermanni* em uma das áreas amostradas, na Chapada do Araripe-CE.

Em relação à presença ou ausência de água dentro dos territórios defendidos pelos machos, foi encontrado que territórios com a presença de água são menores que os territórios sem água no seu interior (Mann-Whitney MANN-WHITNEY $U= 21$, $p= 0,01$) (Figura 8).

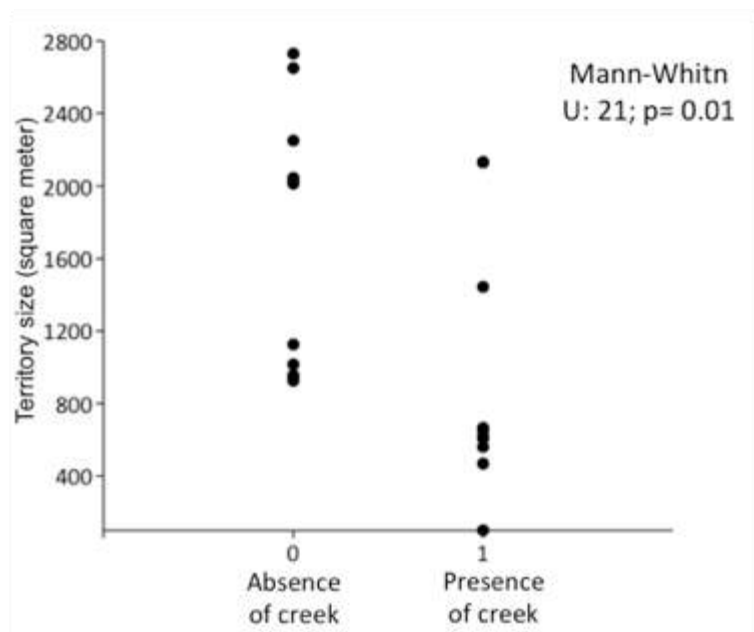


Figura 8- Tamanhos de territórios reprodutivos (m²) de machos de *A. bokermanni* e a presença (1) ou ausência (0) de água no seu interior, na Chapada do Araripe- CE.

DISCUSSÃO

Considerando que a população de *Antilophia bokermanni* é estimada em 800 indivíduos apenas (IUCN 2015), neste estudo foi amostrado 43,75% da população total, sendo que 51,72% foram machos e 48,28% fêmeas. O conhecimento do tamanho efetivo de uma população, é fundamental para a predição da taxa de endogamia e perda da variabilidade genética (Frankham 1995). Ainda, conhecer a razão sexual de populações, principalmente para espécies ameaçadas de extinção, é fundamental para análises de viabilidade populacional, uma vez que populações com razão sexual enviesada para um dos sexos, necessitam diferentes estratégias de conservação e tendem a decrescer mais rapidamente (Steifetten & Dale 2006).

O presente estudo é o primeiro a ser realizado efetuando o anilhamento de *A. bokermanni*, sendo os resultados sobre captura e número de indivíduos de cada sexo

essencial para futuros estudos populacionais e comportamentais. Ao contrário do que se espera para populações pequenas e isoladas (Steifetten & Dale 2006), a razão sexual de *A. bokermanni* parece ser equilibrada. No entanto, é necessário um acompanhamento a longo prazo de populações da espécie para que se observe a permanência do equilíbrio da razão sexual, principalmente por ser uma espécie relativamente recente, do ponto de vista evolutivo (Luna et al. in prep.), estar sob grande pressão antrópica e pela inexistência de dados anteriores a este estudo para avaliar se a razão sexual caminha para um enviesamento, pelo menos na população estudada.

O período reprodutivo de *A. bokermanni* pode ser considerado longo, quando comparado com outras espécies de píprídeos e aves neotropicais (Foster 1976, McDonald 1989, Marini 1992, Aleixo & Galetti 1997, Prum et al. 1996, Diniz et al. 2013), tendo uma duração total de pelo menos seis meses (Outubro a Março), considerando a nidificação. A duração do período de nidificação é também maior do que o esperado quando comparamos com outras espécies que possuem ninhos abertos e em formato de cesta (Ricklefs & Brawn 2013, Marques-Santos et al. 2015, Repenning & Fontana 2016). Algumas outras espécies Neotropicais também apresentam longos períodos de nidificação (Skutch 1976, Ricklefs 1993, Martin 2002), sendo essa uma estratégia difícil de explicar, uma vez que devido às maiores taxas de predação nos trópicos, espera-se que a fase de nidificação seja mais curta (Martin 2002, Tieleman et al. 2004, Ricklefs & Brawn 2013). Uma das hipóteses mais usadas para explicar essas diferenças reprodutivas entre aves tropicais e de regiões temperadas é a de que espécies com períodos mais longos, tenham menor taxa de visitação pelos pais. Isso resultaria em um decréscimo na temperatura média dos ovos para a fase de incubação e menor taxa de entrega de alimento na fase de ninhegos, atrasando a eclosão

dos ovos e revoada dos filhotes; no entanto, Ricklefs e Brawn (2013) não encontraram essa relação para as seis espécies de Passerine analisadas.

O fato de não serem encontradas muitas espécies de predadores de ninhos na Chapada do Araripe, e destas espécies não serem muito abundantes (Ribeiro et al. 2012 , Gaiotti observação pessoal), pode contribuir para a longa duração do período de incubação e ninhegos de *A. bokermanni*, pois como se sabe a pressão de predação é um dos principais fatores que moldam a duração da estação reprodutiva das espécies, bem como outros aspectos comportamentais (Ricklefs 1969, Skutch 1985). Dentre os 124 ninhos que se tornaram ativos, apenas 25,8% foram perdidos devido à predação, enquanto que a porcentagem de ninhos predados para outras espécies de aves neotropicais varia de 65% a 70% (Aguilar et al. 2000, Noske et al. 2008, Nóbrega & Pinho 2010). Ainda, outro indicativo da baixa predação é a alta taxa de sobrevivência de *A. bokermanni*, sendo que em geral, para espécies com ninhos abertos, apenas 29% dos ninhegos deixam os ninhos (Robinson et al 2012), enquanto que neste estudo 74,6% dos ninhos ativos, obtiveram sucesso.

No estudo de Girão e Souto (2005), onde determinaram o período reprodutivo de *A. bokermanni* através da frequência de canto de alguns machos, foi sugerido que a estação reprodutiva seria de agosto a fevereiro, tendo seu pico em setembro e outubro e período de incubação e ninhego de setembro a dezembro. No entanto, no presente estudo encontramos que o período de nidificação vai de novembro à março, tendo seu pico em janeiro, podendo ter mais de um pico ao longo da estação como foi o caso da segunda estação (2014/2015). Os nossos resultados demonstram a importância da coleta de dados de nidificação, através do monitoramento dos ninhos, para uma maior precisão da determinação de cada etapa da

reprodução. Durante a coleta de dados nas três estações reprodutivas, em especial na terceira (2015/2016), o canto iniciou-se por algumas semanas mas cessou por longo período (aparentemente devido a falta de chuvas), não significando que tivesse iniciado o período de nidificação, uma vez que ninhos não foram iniciados.

Dentre as 14 espécies de plantas identificadas, utilizadas como suporte de ninho de *A. bokermanni*, quatro são também utilizadas para a alimentação da espécie (Linhares et al. 2010). Espécies de *Psychotria* foram também utilizadas como plantas suporte em estudos realizados com *Chiroxiphia linearis*, que utilizou apenas seis espécies de planta suporte (Foster 1976), e na dieta de *Manacus manacus* e *Pipra erythrocephala* (Morales-Betancourt 2012). As espécies *Climedia spp.*, *Miconia spp.* e *Piper spp.*, aqui registradas como espécies suporte de ninho, foram também utilizadas na dieta de *Chiroxiphia boliviana*, *M. manacus* e *P. erythrocephala* (Montaño-Centellas 2012, Morales-Betancourt 2012), o que sugere a possibilidade de que *A. bokermanni* poderia também utilizar tais espécies para sua alimentação.

Alguns fatores relativos às plantas utilizadas merecem atenção especial, como o caso da fêmea que nidificou em uma mangueira (*Magnifica indica*), espécie invasora e bastante comum em áreas urbanas. A área onde esse registro ocorreu (Nascente), é uma das áreas que mais sofre com a presença constante de humanos e extração ilegal e irregular de água, causando grande alteração na vegetação. Os ninhos construídos em samambaias (*Cyathea spp.*) também chamam a atenção pelo insucesso (68% foram perdidos), sendo que na maioria das vezes o ninho foi derrubado por intempéries climáticas. Samambaias são bastante abundantes no interior da mata, no entanto, a maioria das áreas são pequenos fragmentos de vegetação ao longo da encosta da Chapada do Araripe (Brito et al. 2013),

que possivelmente sofrem efeito de borda, o que pode explicar a perda dos ninhos (Silva Neto 2013). Se *A. bokermanni* possuía uma preferência por samambaias, devido ao difícil acesso de predadores (por ser uma planta frágil) e a sua proximidade à áreas úmidas, a perda de ninhos nessas plantas devido a uma maior exposição à intempéries climáticas, pode ocasionar um efeito negativo relevante para o sucesso da espécie.

As áreas amostradas apresentam diferentes graus de fragmentação, sendo a área “Grangeiro” a maior e aparentemente mais bem conservada dentre todas, o que explica o maior número de ninhos encontrados nesta área (N= 67 ninhos). Apesar de a área “Advogados” ter apresentado a maior taxa de sobrevivência diária geral e no período de incubação, foram encontrados apenas 12 ninhos nessa área. No segundo semestre de 2015 a área “Advogados” foi quase que completamente perdida por um incêndio criminoso, logo no início do período de nidificação, o que ocasionou o pequeno tamanho amostral de ninhos para esta área. O incêndio também afetou boa parte da área “Grangeiro”, e estimamos que foram perdidos pelo menos 10 territórios reprodutivos (e sítios de nidificação), devido a esse episódio.

Neste estudo encontramos resultados divergentes para a taxa de sobrevivência em relação a área e ano de amostragem. Variações no sucesso reprodutivo em diferentes anos e áreas é um padrão comum para aves (Moynahan et al. 2006, Manica 2008, Newmark & Stanley 2011). Os principais fatores ligados a diferentes TSDs entre estações seriam o volume de chuva, oferta de alimento, competição, mudanças de temperatura, bem como catástrofes ecológicas (Rotenberry & Wiens 1989, Donovan et al. 1997, Stutchbury & Morton 2001, Moynahan et al. 2006). Em geral, áreas mais abertas ou degradadas possuem TSD menor quando comparadas com áreas de mata contínua e mais densa (Wilcove 1985,

Martin 1993, Paton 1994).

Encontramos que o diâmetro externo do ninho e altura em relação ao solo podem ser fatores determinantes para o sucesso de *A. bokermanni* nas fases de ovos e ninhegos. Poucos trabalhos avaliaram o efeito do tamanho do ninho sobre o seu sucesso (Caccamise 1977, Alabrudzinska et al. 2003, Hudson & Bollinger 2013). No entanto, alguns estudos também encontraram que as dimensões, formato e altura de um ninho podem ser fatores importantes para o sucesso destes (Møller 1989, Martin 1993, Söderström & Rydén 1998, Hansell 2000, Aguilar et al. 2008, Newmark & Stanley 2011).

Assim como demonstrado para outros estudos (Martin et al. 2000, Lloyd & Martin 2005, Repenning & Fontana 2016), foi encontrada uma menor sobrevivência ao longo da estação reprodutiva durante a fase de ovos (quando excluída a co-variável altura do ninho), que pode estar relacionada a fatores como: maior visitação dos pais ao ninho dada a proximidade da eclosão dos ovos e maior tempo de exposição do ninho, ambos facilitando a detecção por predadores (Hochachka 1990, Grant et al. 2005, Di Giacomo et al. 2011). Além disso, o aumento das chuvas no final do período de reprodutivo, pode também causar maior perda de ninhos de *A. bokermanni*.

O fato de que a sobrevivência dos ninhegos oscila ao longo da estação (tempo quadrático), pode ser explicada pela maior oferta de alimento e volume de chuvas (Linhares et al. 2010, Funceme 2016), uma vez que a disponibilidade de alimento só passa a ser importante nesta fase. Ainda, a baixa sobrevivência dos ninhegos no início da estação, pode estar associada ao menor número de ninhos em uma determinada área neste período, resultando em uma menor diluição do risco de predação dos ninhegos (Kruuk 1964, Lack 1968, Ricklefs 1969). Outro fator que pode causar essa variação quadrática, é o grau de

experiência da fêmea. Fêmeas mais experientes tendem a por ovos em períodos onde a taxa de perda de ninho é menor, bem como quando a disponibilidade de alimento durante a fase de ninhego é maior (Skutch 1976, Curio 1983). Dependendo da espécie este período pode ser no início, meio ou fim da estação reprodutiva, enquanto fêmeas reproduzindo pela primeira vez não possuem tal discernimento (Bryant 1979, Nol & Smith 1987).

Assim como para outras espécies de piprideos (Marini 1992, Doucet 2006, DuVal & Goymann 2011), o cuidado parental é realizado apenas pela fêmea em *A. bokermanni*. Não foi encontrada diferença na taxa de entrega de alimento entre ninhegos ou entre os comportamentos efetuados em ninhos com um ou dois ninhegos. Assim, a variação no número de filhotes entre ninhos não parece estar ligada a diferenças no cuidado efetuado pela fêmea. A comprovação de que machos não auxiliam em nenhuma etapa do cuidado parental, incita um questionamento sobre a atual classificação do sistema de acasalamento de *A. bokermanni*, considerada socialmente monogâmica. Em espécies socialmente monogâmicas é comum que a fêmea receba auxílio do macho, seja no cuidado com a prole ou com alimentação trazida pelo macho para a fêmea durante a incubação, por exemplo (Trivers 1972, Chutter et al. 2016).

A única atividade realizada pelo macho, relacionada à reprodução, é a defesa de território. Os territórios dos machos de *A. bokermanni* são relativamente pequenos quando comparados com outros passeriformes (Gorrel et al. 2005, Duca & Marini 2005, Faria et al. 2007). Uma explicação ecológica seria a pequena área de ocorrência da espécie adicionada à fragmentação do habitat, além da sinuosidade do relevo (ICMBIO 2011, Pinhero et al. 2014). O fato de termos encontrado uma relação negativa entre o tamanho do território e a presença de água, pode ser explicada pelo fato de que áreas próximas a água tendem a ser

de melhor qualidade, devido à maior umidade e oferta de alimento bem como locais de nidificação (Grant 1982, Smith & Shugart 1987). Isso tornaria desnecessária a defesa de uma grande área, uma vez que a quantidade de alimento presente em uma pequena porção seria suficiente (Schoener 1968). Ainda, estas áreas seriam mais disputadas por machos, gerando maior competição e pressão entre vizinhos, resultando em menores territórios (Korpimäki 1988, Adams 2001).

Ao contrário do que se acreditava (BirdLife International 2010, ICMBIO 2011), inúmeros ninhos e territórios reprodutivos foram encontrados relativamente distantes de corpos d'água e em altas altitudes na encosta da Chapada do Araripe. Essa constatação é de fundamental importância para a conservação da espécie, uma vez que o fato de sítios de nidificação não estarem necessariamente sobre nascentes e corpos d'água pode ampliar a área de vida da espécie bem como modificar as estratégias de conservação. Vale ressaltar que uma certa umidade e a presença de determinadas plantas, em especial as utilizadas como suporte de ninhos, parecem ser necessárias para o estabelecimento destes territórios pelos machos e a nidificação da fêmea (observação pessoal).

Os resultados encontrados neste estudo sobre a história natural e em especial, a biologia reprodutiva de *A. bokermanni*, fornecem base para estudos mais elaborados sobre a espécie, além de colaborar com ações de conservação para a mesma. O fato de terem sido encontrados ninhos em áreas com grande influência antrópica, não significa que a espécie tenha sucesso em tais locais, pois é preciso atentar-se para o número de ninhos encontrados e o número de ninhos bem sucedidos nessas áreas. O menor número de ninhos encontrados, o elevado número destes abandonados, e a utilização de espécies de plantas invasoras para nidificação em áreas com maior interferência humana indicam ser essa uma das principais

ameaças para *A. bokermanni*. Por outro lado, a persistência da espécie e o relativo alto sucesso reprodutivo também demonstram a resiliência de *A. bokermanni*, gerando otimismo quanto à sua sobrevivência como espécie, desde que as devidas providências sejam implementadas.

REFERÊNCIAS

- Adams, ES. 2001. Approaches to the study of territory size and shape. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32: 277-303.
- Aguilar TM, Dias RI, Oliveira AC, Macedo RH. 2008. Nest-site selection by blue-black grassquits in a Neotropical savanna: do choices influence nest success? *J. Field Ornithol.* 79: 24-31.
- Aguilar TM., Maldonado-Coelho M, Marini MÁ. 2000. Nesting biology of the Gray-hooded Flycatcher (*Mionectes rufiventris*). *Ornit Neotrop.* 11: 223–230.
- Alabrudzińska J, Kaliński A, Słomczyński R, Wawrzyniak J, Zieliński P, Bańbura J. 2003. Effects of Nest Characteristics on Breeding Success of Great Tits *Parus major*. *Acta Ornithol.* 38:151–154.
- Aleixo A, Galetti M. 1997. The conservation of the avifauna in a lowland Atlantic forest in South-East Brazil. *Bird Conservation International* 7: 235–261.
- Amaral MF, Macedo RHF. 2003. Breeding Patterns and habitat use in the endemic Curl-crested Jay of Central Brazil. *J. Field Ornithol.* 74: 331–340.
- Aquasis. 2006. Plano de conservação do soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*). 1–36.
- Bartholomew GA. 1986. The Role of Natural History in Biology Contemporary Natural. *Bioscience.* 36: 324–329.
- Bianchi CAC. 1998. Biologia reprodutiva da arara canindé (*Ara ararauna*, Pscittacidae) no Parque Nacional das Emas, GO. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília DF.

- BirdLife International. 2010. Os pássaros mais ameaçados das Américas. A Sentila das Águas. *Antilophia bokermanni*.
- Blumstein DT, Daniel JC. 2007. Quantifying Behavior the JWatcher Way. Sinauer Associates.
- Brito K., Nascimento KJ, Alves MME, Dias AS, Paula-Zárate EL, Lacerda SR. 2013. Ocorrência de Samambaias na Nascente Batateiras, Encosta da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte.
- Bryant D M. 1979. Reproductive costs in the house martin (*Delichon urbica*). J of Anim Ecol. 48: 655-675.
- Burnham KP, Anderson DR. 2002. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach. New York: Springer-Verlag.
- Carvalho CBV, Macedo RH, Graves JA. 2007. Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: Extra-Pair fertilizations, behavior, and morphology. Condor. 108: 579–590.
- Carvalho CBV, Macedo RHF, Graves JA. 2007. Reproduction of Blue-black Grassquits in central Brazil. Braz J of Biol. 67: 275–281.
- Chutter CM, Cooper NW, Duffield D, Redmond LJ, Murphy MT, Dolan AC. 2016. Paternal behaviour in a socially monogamous but sexually promiscuous passerine bird. Behaviour. 153: 443–466.
- Clark B. 2016. EarthPoint. Tool for Google Earth. <http://www.earthpoint.us/>
- Cody M. 1966. A general theory of clutch size. Evolution (NY). 20: 174–184.
- Coelho G, Silva WAG. 1998. A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. Ararajuba. 6: 81–84.

- Curio E. 1983. Why do young birds reproduce less well? *Ibis*. 125: 400–404.
- Di Giacomo AS, Di Giacomo AG, Reboresda JC. 2011. Male and female reproductive success in a threatened polygynous species: The Strange-tailed Tyrant, *Alectrurus risora*. *The Condor*. 113: 819–628.
- Dias RI, Kuhlmann M, Lourenço LR, Macedo RH. 2009. Territorial Clustering in the Blue-Black Grassquit: Reproductive Strategy in Response to Habitat and Food Requirements? *The Condor*. 111: 706-714.
- Diniz P, Ramos DM, Chemin N. 2013. Breeding biology of Coal-crested Finches. *The Wil J of Ornit*. 125: 592–599.
- Dinsmore SJ., Dinsmore JJ. 2007. Modeling avian nest survival in program MARK. *St in Av Biol*. 34: 73-83.
- Donovan TM, Jones PW, Annand EM, Thompson FR. 1997. Variation in local-scale edge effects: Mechanisms and landscape context. *Ecology*. 78: 2064–2075.
- Doucet SM. 2006. Plumage coloration and morphology in *Chiroxiphia* Manakins: Interacting Effects of Natural and Sexual Selection. Tese doutorado. Auburn University. Auburn, EUA.
- Duca C, Marini MÂ. 2005. Temporal variation in the reproductive success of *Cacicus haemorrhous* (Linnaeus) (Aves, Icterinae) in an Atlantic Forest reserve in Southeast Brazil. *Rev Bras de Zool*. 22: 484–489.
- Duca C, Marini MÂ. 2011. Variation in Breeding of the Shrike-like Tanager in Central Brazil. *Wilson J Ornithol*. 123: 259–265.
- DuVal EH, Goymann W. 2011. Hormonal correlates of social status and courtship display in the cooperatively lekking lance-tailed manakin. *Horm and Behav*. 59: 44–50.

- Faria LCP., Carrara LA., Rodrigues M. 2007. Sistema territorial e forrageamento do fura-barreira *Hylocryptus rectirostris* (Aves: Furnariidae). Rev Bras de Ornit. 15: 395–402.
- Formica VA, Tuttle EM. 2009. Examining the social landscapes of alternative reproductive strategies. J Evol Biol. 22: 2395–408.
- Foster MS. 1976. Nesting biology of the Long-Tailed Manakin. The Wilson Bull. 88: 400–420.
- Fridolfsson AK, Ellegren H. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. J of Av Biol. 30: 116-121.
- FUNCEME. 2016. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos hídricos. <http://www.funceme.br> acesso: 02.07.2016. Chuvas diárias município Crato-CE.
- Girão W, Souto A. 2005. Breeding period of Araripe Manakin *Antilophia bokermanni* inferred from vocalisation activity. Cotinga. 24: 35–37.
- Grant GS. 1982. Avian incubation: egg temperature, nest humidity, and behavioral thermoregulation in a hot environment. Ornithol Monog. 30: 1–75.
- Grant TA., Shaffer TL., Madden EM., Pietz PJ. 2005. Time-specific variation in passerine nest survival: New insights for old questions. The Auk 122: 661–672.
- Griffiths R, Double MC, Orr K, Dawson RJ. 1998. A DNA test to sex most birds. Mol Ecol. 7: 1071–1075.
- Hammer O., Harper DAT., Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological Statistic Software package for education and data analysis. Paleontol Electr 4: 9–9.
- Hansell M. 2000. Birds Nests and Construction Behaviour. Cap 7: The selection of a nest site, p. 152-167.

- Hochachka W. 1990. Seasonal decline in reproductive performance of Song Sparrows. *Ecology*. 71: 1279–1288.
- Hudson NC, Bollinger EK. 2013. Nest success and nest site selection of Red-headed Woodpeckers (*Melanerpes erythrocephalus*) in East-central Illinois. *The American Midland Naturalist*. 170: 86–94.
- ICMbio. 2011. Plano de Ação Nacional para a Conservação do soldadinho do Araripe. Série espécies Ameaçadas. N 15. Instituto Chico Mendes. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- IUCN 2015. The Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <http://www.iucnredlist.org/>.
- Johnson EI, Stouffer PC, Bierregaard Jr RO. 2012. The phenology of molting, breeding and their overlap in central Amazonian birds. *J Avian Biol*. 43: 141–154.
- Keyel A, Strong A, Perlut N, Reed J. 2013. Evaluating the Roles of Visual Openness and Edge Effects on Nest-Site Selection and Reproductive Success in Grassland Birds. *Auk*. 130: 161–170.
- Korpimäki E. 1988. Effects of Territory quality on occupancy, breeding performance and breeding dispersal in Tengmalm's owl. *J of Animal Ecol*. 57: 97-108.
- Kruuk H. 1964. Predators and Anti-Predator Behaviour of the Black-Headed Gull (*Larus ridibundus* L.). *Behaviour. Supplement*. 11: 1-129.
- Lack D. 1968. Ecological adaptations for breeding in birds. Methuen, London.
- Lack D. 1954. The natural regulation of animal numbers. Oxford University Press. 343p.

- Linhares KVA, Soares FA, Cristina I, Machado S. 2010. Nest support plants of the Araripe Manakin *Antilophia bokermanni*, a Critically Endangered endemic bird from Ceará, Brazil. *Cotinga*. 32: 121–125.
- Lloyd JD, Martin TE. 2005. Reproductive success of Chestnut-collared Longspurs in native and exotic grassland. *Condor*. 107: 363–374.
- Lopes L, Marini M. 2005. Biologia reprodutiva de *Suiriri affinis* e *S. islerorum* (Aves: Tyrannidae) no Cerrado do Brasil Central. *Papéis Avulsos Zool (São Paulo)*. 45: 127–141.
- Luna LW, Souza O.T., Carneiro L., Silva W., Shneider H., Araripe J., Rêgo P.S. in prep. A história da recente e incompleta separação das espécies do gênero *Antilophia* (Aves: Pipridae) evidenciada através de dados moleculares e bioclimáticos.
- Macedo RH. 1992. Reproductive Patterns and Social Organization of the Communal Guira Cuckoo (*Guira guira*) in Central Brazil. *The Auk*. 109: 786-799.
- Manica LT. 2008. Reprodução cooperativa em *Neothraupis fasciata*: ajudantes de ninho realmente ajudam? Tese de mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Marengo JA. 2010. Vulnerabilidade, impactos e adaptação à mudança do clima no semi-árido do Brasil. *Parcerias estratégicas*. 13: 149–176.
- Marini MÂ, Borges F, Lopes LE, Sousa NO, Gressler DT, Santos LR, Paiva LV de, Duca C, Manica LT, Rodrigues S. 2012. Breeding biology of birds in the Cerrado of central Brazil. *Ornitol Neotrop*. 23: 385–405.
- Marini MÂ, Lobo Y, Lopes LE, França LF, Paiva LV de. 2009. Biologia Reprodutiva de *Tyrannus savanna* (Aves, Tyrannidae) em cerrado do Brasil Central. *Biota Neotrop*. 9: 55–65.

- Marini MÂ. 1992. Notes on the Breeding and reproductive biology of the Helmeted Manakin. *Wilson Bull.* 104: 168–173.
- Marques-Santos F, Braga TV, Wischhoff U, Roper JJ. 2015. Breeding Biology of Passerines in the Subtropical Brazilian Atlantic Forest. *Ornitol Neot.* 26: 363–374.
- Martin TE, Badyaev A. 1996. Sexual dichromatism in birds: importance of nest predation and nest location for females versus males. *Evolution (NY).* 50: 2454–2460.
- Martin TE. 1996. Life history evolution in Tropical and South Temperate birds: What do we really know? *J Avian Biol.* 27: 263–272.
- Martin TE. 2002. A new view of avian life-history evolution tested on an incubation paradox. *Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci.* 269: 309–316.
- Martin TE, Geupel GR. 1992. Nest-Monitoring Plots: Methods for locating nest and monitoring success. *J F Ornithol.* 64: 507–519.
- Martin TE, Martin PR, Olson CR, Heidinger BJ, Fontaine JJ. 2000. Parental care and clutch sizes in North and South American birds. *Science.* 287: 1482–1485.
- Martin, TE. 1993. Nest predation among vegetation layers and habitat types: revising the dogmas. *The Americ Natur.* 141: 897-913.
- Mayfield H. 1975. Suggestions for calculating nest success. *Willson Bull.* 87: 456–466.
- McDonald DB. 1989. Correlates of male mating success in a lekking bird with male-male cooperation. *Anim Behav.* 37: 1007–1022.
- Mcdonald DB. 1993. Delayed plumage maturation and orderly queues for status: A Manakin mannequin experiment. *Ethology.* 5: 31–45.
- Medeiros RDCS De, Marini MÂ. 2007. Biologia reprodutiva de *Elaenia chiriquensis* (Lawrence) (Aves , Tyrannidae). *Rev Bras Zool.* 24: 12–20.

- Møller AP. 1989. Nest site selection across field-woodland ecotones: The effect of nest predation. *Oikos*. 56: 240–246.
- Montaño-Centellas FA. 2012. Are males and females of Yungas Manakin (*Chiroxiphia boliviana*) ecologically redundant as seed dispersers. *Ornitol. Neotrop.* 23: 185-192.
- Morales-Betancourt JA, Castaño-Villa GJ, Fontúrbel FE. 2012. Resource abundance and frugivory in two manakin species (Aves: Pipridae) inhabiting a reforested area in Colombia. *J of Trop Ecol.* 28: 511–514.
- Moynahan BJ, Lindberg MS, Thomas JW. 2006. Factors contributing to process variance in annual survival of female Greater Sage-grouse in Montana. *Ecol Appl.* 16:1529–1538.
- Murray BG. 1985. Evolution of clutch size in Tropical species of birds. *Ornithol Monogr.* 36: 505–519.
- Newmark WD, Stanley TR. 2011. Habitat fragmentation reduces nest survival in an Afrotropical bird community in a biodiversity hotspot. *Proc of the Nat Acad of Scienc.* 108: 11488–11493.
- Nóbrega PFA de, Pinho JB. 2010. Biologia reprodutiva e uso de habitat por *Cantorchilus leucotis* (Lafresnaye, 1845) (Aves, Troglodytidae) no Pantanal, Mato Grosso, Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* 50: 511–517.
- Nol E, Smith JNM. 1987. Effects of age and breeding experience on seasonal reproductive success in the Song Sparrow. *J of Anim Ecol.* 56: 301-313.
- Noske RA, Fisher S, Brook BW. 2008. Artificial nest predation rates vary among habitats in the Australian Monsoon Tropics. *Ecol. Res.* 23: 519-527.

- Ogden L, Stutchbury B. 1996. Constraints on double brooding in a Neotropical migrant, the Hooded Warbler. *Condor*. 98: 736–744.
- Paton, PW. 1994. The effect of edge on avian nest success: How strong is the evidence? *Cons. Biol.* 8: 17–26.
- Pianka E. 1976. Natural selection of optimal reproductive tactics. *Am Zool.* 16: 775–784.
- Procter-Gray E, Holmes R. 1981. Adaptive significance of delayed attainment of plumage in male American Redstarts: Tests of two hypotheses. *Evolution (NY)*. 35: 742–751.
- Prum RO, Kaplan JD, Pierson JE. 1996. Display behavior and natural history of the Yellow-Crowned Manakin (*Heterocercus flavivertex*: Pipridae). *The Condor*. 98: 722–735.
- Prum RO. 1997. Phylogenetic tests of alternative intersexual selection mechanisms: Trait macroevolution in a polygynous clade (Aves: Pipridae). *Am Nat.* 149: 668–692.
- Purcell K, Verner J, Oring L. 1997. A comparison of the breeding ecology of birds nesting in boxes and tree cavities. *The Auk*. 114: 646–656.
- Repenning M, Fontana CS. 2016. Breeding biology of the Tropeiro Seedeater (*Sporophila beltoni*). *The Auk*. 133: 484–496.
- Ricklefs R. 1966. The temporal component of diversity among species of birds. *Evolution (NY)*. 20: 235–242.
- Ricklefs R. 1969. An analysis of nesting mortality in birds. *Smithson Contrib to Zool.* 9:1-48.
- Ricklefs RE. 2003. *A economia da Natureza*. 3ª ed. Guanabara Koogan SA. 470p.
- Ricklefs RE. 1993. Sibling competition, hatching asynchrony, incubation period, and lifespan in altricial birds. *Curr Ornithol.* 11: 199–276.

- Ricklefs RE, Brawn J. 2013. Nest attentiveness in several Neotropical suboscine passerine birds with long incubation periods. *J of Ornithol.* 154: 145–154.
- Ricklefs, RE. 2012. Species richness and morphological diversity of passerine birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, in press.
- Robinson MR, Van Doorn GS, Gustafsson L, Qvarnström A. 2012. Environment-dependent selection on mate choice in a natural population of birds. *Ecol Lett.* 15: 611–618.
- Robinson S, Thompson FR, Donovan TM, Whitehead DR, Faaborg J. 1963. Reproductive success of birds in a deciduous scrub habitat. *Ecology.* 267: 1987–1990.
- Robinson WD, Robinson TR, Robinson SK, Brawn JD. 2000. Nesting success of understory forest birds in Central Panama. *J Avian Biol.* 31: 151–164.
- Roper J, Goldstein R. 1997. A test of the Skutch hypothesis: Does activity at nests increase nest predation risk? *J Avian Biol.* 28: 111–116.
- Rotenberry JT, Wiens JA. 1989. Reproductive biology of shrubsteppe Passerine birds: Geographical and temporal variation in clutch size, brood size, and fledging success. *Condor.* 91: 1–14.
- Rubio T, Pinho J. 2008. Biologia reprodutiva de *Synallaxis albilora* (Aves: Furnariidae) no Pantanal de Poconé, Mato Grosso. *Pap Avul Zool (São Paulo).* 48: 181–197.
- Schoener TW. 1968. Sizes of feeding territories among birds. *Ecology.* 49: 123–141.
- Selander R. 1965. On mating systems and sexual selection. *Am Nat.* 99: 129–141
- Silva Neto B. 2013. Perda da vegetação natural na Chapada do Araripe (1975/2007) no estado do Ceará. [accessed 2016 Jul 28].
<http://repositorio.unesp.br/handle/11449/104464>

- Skutch AF. 1976. Parent birds and their young. University of Texas Press, Austin, TX.
- Skutch A. 1985. Clutch size, nesting success, and predation on nests of Neotropical birds, reviewed. *Ornithol Monogr.* 36: 575–594.
- Slater PJB, Halliday TR. 1994. *Behaviour and Evolution*. Cambridge University Press. 348p.
- Smith TM., Shugart HH. 1987. Territory size variation in the Ovenbird: The Role of habitat Structure. *Ecology.* 69: 695-704.
- Snow DW. 1976. The relationship between climate and annual cycles in the Cotingidae. *Ibis.* 118: 366-401
- Söderström B, Pärt T, Rydén J. 1998. Different nest predator faunas and nest predation risk on ground and shrub nests at forest ecotones: An experiment and a review. *Oecologia* 117: 108–118.
- Steifetten Ø, Dale S. 2006. Viability of an endangered population of ortolan buntings: The effect of a skewed operational sex ratio. *Biol Conserv.* 132: 88–97.
- Stutchbury BJM, Morton ES. 2001. *Behavioral Ecology of Tropical Birds*. Academic Press, San Diego. 165 p.
- Tieleman BI, Williams JB, Ricklefs RE. 2004. Nest attentiveness and egg temperature do not explain the variation in incubation periods in tropical birds. *Funct Ecol.* 18: 571–577.
- Trivers RL. 1972. Parental Investment and Sexual Selection. In: B. Campbell (Ed.), *Sexual selection and the descent of man, 1871-1971* (p. 136–179). Chicago, IL Aldine.

- Westmoreland D, Schmitz M, Burns KE. 2007. Egg color as an adaptation for thermoregulation. *J of Field Ornith.* 78: 176–183.
- White, G. C. & Burnham, K. P. 1999. Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. *Bird Study.* 46: 120-139.
- Wilcove DS. 1985. Nest predation in forest tracts and the decline of migratory songbirds. *Ecology.* 66: 1211–1214.
- Wunderle Jr J. 1982. The timing of the breeding season in the Bananaquit (*Coereba flaveola*) on the island of Grenada, WI. *Biotropica.* 14: 124–131.

ANEXO 1. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 47 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (areal).

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tc + areal}	131,724	0	0,323	1	3	125,68
{Tc + areal + externdiam}	132,170	0,445	0,259	0,800	4	124,11
{Tc + areal + height}	133,211	1,487	0,153	0,475	4	125,15
{T constante}	135,075	3,350	0,060	0,187	1	133,06
{Tc + externdiam}	136,076	4,352	0,036	0,113	2	132,05
{T linear}	136,153	4,429	0,035	0,109	2	132,13
{Tc + height}	137,005	5,281	0,023	0,071	2	132,98
{Tl + externdiam}	137,212	5,488	0,020	0,064	3	131,17
{Tc + externdiam + height}	138,059	6,334	0,013	0,042	3	132,02
{Tl + height}	138,138	6,413	0,013	0,040	3	132,10
{T quadratico}	138,161	6,436	0,012	0,04	3	132,12
{Tc + ano1}	138,334	6,610	0,011	0,036	3	132,29
{Tq + externdiam}	139,191	7,466	0,007	0,023	4	131,13
{Tl + externdiam + height}	139,233	7,508	0,007	0,023	4	131,17
{Tc + ano1 + externdiam}	139,372	7,647	0,007	0,021	4	131,31
{Tc + ano1 + height}	139,993	8,269	0,005	0,016	4	131,93
{Tq + height}	140,157	8,432	0,004	0,014	4	132,09
{Tq + externdiam + height}	141,213	9,488	0,002	0,008	5	131,12

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

ANEXO 2. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 74 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável altura do ninho em relação ao solo.

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{T linear}	190,062	0	0,260	1	2	186,05
{T constant}	191,002	0,94	0,162	0,625	1	188,99
{T quadratico}	191,866	1,804	0,105	0,405	3	185,84
{Tl + externdiam}	191,919	1,857	0,103	0,395	3	185,89
{Tl + area1}	192,350	2,288	0,083	0,318	6	180,27
{Tc + externdiam}	192,975	2,913	0,060	0,232	2	188,96
{Tq + externdiam}	193,781	3,719	0,040	0,155	4	185,74
{Tl + ano1}	193,997	3,935	0,036	0,139	4	185,96
{Tq + area1}	194,033	3,971	0,035	0,137	7	179,93
{Tc + ano1}	194,047	3,985	0,035	0,136	3	188,02
{Tc + area1}	194,187	4,125	0,033	0,127	5	184,13
{Tq + ano1}	195,719	5,657	0,015	0,059	5	185,66
{Tc + externdiam + area}	195,963	5,901	0,013	0,052	6	183,88
{Tc + externdiam + ano1}	195,991	5,929	0,013	0,051	4	187,95

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

ANEXO 3. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) no período de incubação (fase de ovos, N= 55 ninhos) de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadratic (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1). Sem co-variável diâmetro externo.

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc peso	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tc + area1}	171,908	0	0,504	1	3	165,87
{Tc + height + area1}	173,273	1,364	0,255	0,505	4	165,22
{T constante}	176,060	4,151	0,063	0,125	1	174,05
{Tc + height}	176,451	4,541	0,052	0,103	2	172,43
{Tl+ height}	177,264	5,355	0,034	0,068	3	171,23
{T linear}	177,373	5,464	0,032	0,065	2	173,35
{Tq + height}	178,801	6,893	0,016	0,031	4	170,74
{Tc + ano1}	178,864	6,955	0,015	0,030	3	172,83
{T quadratico}	178,927	7,018	0,015	0,029	3	172,89
{Tc + height+ ano1}	179,747	7,838	0,010	0,019	4	171,69

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

ANEXO 4. Resultados da seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike para pequenos tamanhos amostrais (AICc) para período de ninhego (N= 28 ninhos), de ninhos de *Antilophia bokermanni*, na Chapada do Araripe, CE, entre as estações reprodutivas de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Modelos analisados com tempo constante (Tc), linear (Tl) e quadrático (Tq). Modelos incluindo co-variáveis: altura do ninho (height), diâmetro externo (externdiam), estação reprodutiva (ano1) e área amostrada (area1).

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc Pesos	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
{Tl + ano1 + area1 + externdiam + height}	38,939	0	0,175	1	6	26,65
{Tl + ano1 + area1 + height}	39,183	0,243	0,155	0,8852	5	28,98
{Tc + ano1}	39,461	0,521	0,135	0,7706	2	35,42
{Tl + ano1+ externdiam + height}	40,154	1,214	0,095	0,5448	5	29,95
{Tl + ano1+ externdiam }	40,656	1,716	0,074	0,4239	4	32,52
{Tl + ano1}	40,867	1,927	0,066	0,3815	3	34,78
{Tl + ano1+ height}	40,977	2,037	0,063	0,361	4	32,84
{Tl + ano1 + area1 + externdiam}	41,549	2,609	0,04	0,2713	5	31,34
{Tl + ano1 + area1 }	41,982	3,042	0,038	0,2184	4	33,84
{Tl + area1 }	43,259	4,319	0,020	0,1154	3	37,17
{Tc + area1 }	43,729	4,789	0,016	0,0912	2	39,68
{Tc + externdiam}	43,887	4,947	0,014	0,0843	2	39,84
{T linear}	43,987	5,047	0,014	0,0801	2	39,94
{Tl + area + externdiam}	44,277	5,337	0,012	0,0693	4	36,14
{T constante}	44,342	5,403	0,011	0,0671	1	42,32
{Tl + externdiam}	44,712	5,773	0,009	0,0558	3	38,63
{Tl + area + height}	44,923	5,984	0,008	0,0502	4	36,79
{T quadratico}	45,120	6,180	0,007	0,0455	3	39,04
{Tc + externdiam + height}	45,919	6,979	0,005	0,0305	3	39,83
{Tl + height}	46,006	7,066	0,005	0,0292	3	39,92
{Tl + area1 + externdiam +	46,025	7,085	0,005	0,0289	5	35,82

Modelo	AICc	Delta AICc	AICc Pesos	Model Likelihood	Num. Par	Desvio
height}						
{Tc + height}	46,355	7,415	0,004	0,0246	2	42,31
{Tq + externdiam}	46,563	7,623	0,003	0,0221	4	38,43
{Tl + height + externdiam}	46,76	7,820	0,003	0,0201	4	38,62
{Tq + height}	47,028	8,088	0,003	0,0175	4	38,89
{Tq + height + externdiam}	48,570	9,630	0,001	0,0081	5	38,37

deltaAICc = Diferença entre o AICc e o AICc mínimo encontrado para os modelos comparados

Capítulo 2

Intersexual differences in the diet of the critically endangered and endemic Araripe manakin (Aves: Pipridae)

ABSTRACT

Diet studies provide information about a species' ecology, evolution and behavior. The Araripe manakin (*Antilophia bokermanni*) is a critically endangered, endemic and sexually dichromatic species from northeastern Brazil. Similarly to other manakins, females have cryptic plumage while males exhibit typically conspicuous coloration, in this case a red helmet and black wings and tail. Little is known about its natural history, and as an endangered bird, information about diet may be crucial for conservation plans. We analyzed the Araripe manakin diet and tested if male and female food items and foraging behavior differ. We caught and banded birds, and analyzed feces samples. Using focal observations we collected foraging behavioral data, including vegetation strata used, foraging bout duration and gathering method. Food items were identified to the lowest taxonomic level possible. Unidentified seeds were classified as morphotypes. Based on data gathered from 57 females and 37 males, we found that the Araripe manakin diet contains both plant and animal items including 10 different types of fruits and three Orders of invertebrates. *Climedia biserrata* was the most important plant item consumed, representing 80% of the diet. There was a substantial overlap of 68% of food items in the diets between sexes, which did not differ statistically. However male and female diets were unique in some aspects: females consumed two extra items (Morphotypes VIII and IX) and also had a more diverse diet when compared to males. Males, however, consumed more Coleoptera and these were the second most important item in their diets. Since male and female foraging behavior does not differ, this result suggests that males choose to consume more beetles perhaps to maintain plumage color, since beetles are rich in carotenoids.

Results also provide important data about which plants can be used in the management or recovery of Araripe manakin habitats.

Keywords: Araripe manakin, diet, foraging, frugivory, Pipridae

RESUMO

Estudos sobre dieta fornecem informações sobre ecologia, evolução e comportamento das espécies. *Antilophia bokermanni* é uma espécie criticamente ameaçada, sexualmente dicromática e endêmica do nordeste do Brasil. Assim como outros piprídeos, fêmeas possuem coloração críptica enquanto machos exibem uma coloração conspícua, nesse caso um manto vermelho, cauda e asas pretas. Pouco se sabe sobre a história natural da espécie e como uma ave ameaçada, informações sobre sua dieta são cruciais para sua conservação. Nós analisamos a dieta de *A. bokermanni* e testamos se os itens consumidos e o comportamento de forrageamento diferem entre machos e fêmeas. Nós capturamos os indivíduos, e analisamos suas amostras de fezes. Usando observações focais coletamos dados sobre forrageamento incluindo: extrato da vegetação e técnica utilizadas e duração do forrageamento. Os itens alimentares foram identificados ao menor nível taxonômico possível. Sementes não identificadas foram agrupadas em morfotipos. Utilizando dados de 57 fêmeas e 37 machos, nós encontramos que a dieta de *A. bokermanni* contém itens vegetais e animais, incluindo 10 tipos de frutos e três Ordens de invertebrados. *Climedia biserrata* foi o item mais importante, representando 80% da dieta. A sobreposição intersexual da dieta foi de 68%, a qual não diferiu estatisticamente. No entanto, a dieta de machos e fêmeas foram únicas em alguns aspectos: fêmeas consumiram dois itens extra (Morfotipo VIII e IX) e apresentando uma dieta mais diversa. Machos consumiram mais

Coleoptera, sendo este o segundo item mais importante na sua dieta. Uma vez que o comportamento de forrageamento entre sexos não diferiu, nossos resultados sugerem que machos escolhem consumir mais besouros, talvez com a finalidade de manutenção da coloração da plumagem, uma vez que besouros são ricos em carotenóides. Os resultados ainda fornecem importantes informações sobre quais plantas usar no manejo ou recuperação do habitat da espécie.

Palavras-chave: Antilophia bokermanni, dieta, forrageamento, frugivoria, Pipridae

INTRODUCTION

Diet is one of the strongest selection pressures influencing a bird's life, affecting both the fecundity and survival of adults (Charnov and Krebs 1974, Murphy and Haukioja 1986, Nur 1990). Regrettably, for most tropical species, even general information about foraging habits and diet are still missing (Harris et al. 2005, Alho 2008). Because habitat degradation in the Tropics is in many cases severe and ongoing, threatening the continued existence of many bird populations, data relative to diets are important for appropriate conservation, especially for endangered species (Sample and Whitmore 1993, Lopes et al. 2005).

Our study focused on the diet of the Araripe manakin, *Antilophia bokermanni*, a critically endangered and endemic bird species of the tropical bird family Pipridae. Species in this family typically exhibit a striking dichromatism, with males presenting colorful plumage and complex displays, and mating systems are based upon lek formation and promiscuous mating (Prum 1994). Nevertheless, one single genus in the family, *Antilophia*, appears to have a socially monogamous system, no lek formation, and parental investment by both sexes (Prum 1994). The genus has two species: *A. galeata* and *A. bokermanni*. The

latter species, subject of the current study, was described in 1998 (Coelho & Silva 1998), is critically endangered, and is the only passerine species endemic to Ceará state, Brazil (IUCN 2015). Its population size is currently estimated at only 800 individuals (Aquasis 2006, Rêgo et al. 2010, IUCN 2015, BirdLife International 2016). Similarly to the rest of the species in the family, the Araripe manakin is sexually dichromatic: females are olive green while adult males are white, with a red helmet and black wings and tail (Coelho and Silva 1998). Despite some limited information about its conservation status and endemism, data on the species' natural history, ecology, and behavior are totally lacking, imposing serious obstacles to the development and implementation of conservation plans.

Species with strong sexual dimorphism can differ in their feeding ecology (Selander 1966, Hedrick and Temeles 1989, Shine 1989), especially if males and females have a large difference in body size, different coloration, and need to forage in different ways to avoid predation or to ingest different types of food given their plumage coloration requirements (Fox and Vevers 1961, Brush 1978). Recent studies with some manakins have found that males and females differ in their behavior and diet and do not have the same role and significance as fruit dispersers (Loiselle et al. 2007, Montaña-Centellas 2012). Consequently, information relative to the diet requirements of each sex and their particular impact and importance for the ecosystem is crucial for conservation purposes (Selander 1966, Hedrick and Temeles 1989, Shine 1989).

Habitat fragmentation is one of the main causes of species' populational decline (Wilcove et al. 1998, Venter et al. 2006), and implementing recovery plans is in some cases the best solution for increasing population size (Kerr and Deguise 2004, Taylor et al. 2005). Conservation plans for endangered species usually identify which habitat conditions are

essential components for the preservation and growth of populations (Cassaza et al. 2016). Hence, data about which plants are critical (e.g. as food sources, for nesting and protection) for the survival of a given species is a crucial step for establishing successful conservation plans.

The plateau where our studied population occurs is a disturbed area that suffers from human occupation and inappropriate resource exploitation by the local community. Also, the multiple fresh water springs on the slopes of the plateau constitute the most important water source for nearby cities. Thus, the loss of the forest vegetation will result in a large and very negative impact on surrounding cities (Brasil 1996, Lins, 2009). Maintenance of the forest is strongly dependent upon seed dispersal of local plants and trees. The manakins are represented by many frugivorous species that are important seed dispersers (Snow 1970, Foster 1977, Marini 1992, Blake and Loiselle 2002, Silva e Melo 2011, Montaña-Centellas 2012, Morales-Betancourt et al. 2012), often having a substantial role in maintaining forests (Marini 1992, Loiselle and Blake 1999, Silva and Melo 2011). The Araripe manakin is the only representative of the Pipridae family on the Araripe plateau, and despite its critically endangered status, it remains one of the most abundant species in many areas along the plateau (Gaiotti in prep.).

For the above described reasons, information about the Araripe manakin diet should be important not only for the species' conservation but can also be relevant to human populations in the cities that obtain their water supplies from the plateau. In the present study we describe the diet of the critically endangered Araripe manakin and assess whether males and females have different dietary habits. Given the strong sexual dimorphism of the species, we expected to find divergences in male and female foraging habits and diets.

METHODS

We conducted this study in four areas along the slopes of the Araripe plateau, Ceará state, Brazil (-7.2810694°S, -39.44205°W). The diet data were collected over the course of two years, from April 2013 to April 2015. We caught the birds using five mist nets (12m x 3m) for 6hr each day, during 620 days totaling 18,600 net-hours.

Once caught we kept individuals for five minutes in a cloth bag lined with a paper towel to collect the feces deposited in the bag, which were stored in 70% ethanol and subsequently analyzed with a stereomicroscope (Bel Photonics® WF10X). Despite some level of sample degradation, fecal data analysis was the chosen method because of its less invasive nature, given the conservation status of the species, while still providing relatively good information about diet, especially fruit consumption (Remsen et al. 1993). Additionally, a previous study with the sister species (Helmeted Manakin *Antilophia galeata*) using forced regurgitation, a method that yields more complete diet data, presented a high mortality rate (Gaiotti 2011).

The body measurements were taken to determine the degree of sexual size dimorphism, as this can be relevant for foraging behavior. Individuals were measured with a hand-held dynamometer (mm) and weighted with a spring balance (Pesola® 100g). Body measurements included tarsus length, tail length (from uropygial gland to the tip of the longest feather), wing length (from the shoulder to the tip of the longest feather), and bill length (from the nostril to the tip of the bill). As young males have the same olive green plumage as females, we collected ~60 µL of blood from all individuals using brachial venipuncture for molecular determination of sex. Samples were kept in ethanol until

analyses were performed. We used PCR analyses to determine the sex of each individual using the sexing primer 2550/2718.

Food items in the fecal samples were identified to the lowest taxonomic level possible. Seeds that could not be identified were classified as morphotypes. To determine the most important food items in the diet we calculated the occurrence frequency (OC) and numerical frequency (NF) for each individual food item as:

$$OC = \frac{Nv}{Nind.} \times 100$$

Where Nv is the number of individuals who consumed a given food item and $Nind.$ is the total number of individuals sampled.

$$NF = \frac{Ni}{Nt} \times 100$$

Where Ni is the number of food item for a given category and Nt is the sum of all food items for all categories.

With these values we used a modified version of the Kawakami-Vazzoler (1980) Dietary Importance Index (DI i):

$$DI_i = (OC_i \times \overline{AF}_i) / \sum(OC_i \times \overline{AF}_i) \times 100.$$

Where OC_i is the Occurrence Frequency for a given food item and \overline{AF}_i is the average of the numerical frequency for the food item.

We calculated the diversity of food items for male and female diets using the Shannon Diversity Index (H) (Shannon 1948) and the amount of food item overlap between sexes using the Bray-Curtis Dissimilarity Index (Bray and Curtis 1957). We tested whether consumption of each food item by males and females differed with a Student t -Test when the data had a normal distribution and a Mann-Whitney U -test for non-parametric data. All

statistical analyses were performed with the statistics package PAST 3.0 (Hammer et al. 2001) with the α -level set at <0.05 . All values are presented as mean \pm standard deviation, unless noted otherwise.

In addition we also collect foraging behavior data using focal observations of color-banded individuals foraging for 90 min in the morning (0900 to 1030 hr; $n = 10$ females and 7 males) and 60 min during the afternoon (1500 to 1600 hr; $n = 11$ females and 9 males) for one week. We recorded the vegetation strata where individuals foraged, the foraging behavior employed (gathering methods), the duration of feeding bouts and whether males and females were together. The strata were classified according to height as: canopy (>7 m), understory (2-7 m) and ground (0-2 m). We followed Remsen and Robinson's (1990) classification scheme for foraging behavior for four categories: hang, hang up, hang down, hang upside-down. We added an extra category named fly-catch based on previous observations of Araripe manakin foraging behavior.

RESULTS

We caught 183 Araripe manakins from which we obtained 94 individual fecal samples. Of these, 28 male samples and 44 female samples contained identifiable food materials of both plant and animal origin. We found 10 different types of fruits and two Orders (Coleoptera and Aracnidae) and one Family (Formicidae) of invertebrates (Table 1). We identified fruits from three plant genera/species: *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae), *Clidemia biserrata* (Melastomataceae) and *Cecropia sp* (Urticaceae) while the other seven were classified as morphotypes.

Clidemia biserrata was the most consumed item with an occurrence frequency (OC) of 22.34% (Table 1). It also was the most important food item representing 80.92% of

the Araripe manakin diet, followed by fruit Morphotype VI (DI_i= 11.82%) and Morphotype I (DI_i= 4.32%) (Table 2). The most consumed animal item was Coleoptera (OC= 12.76%), followed by Aracnidae (OC= 6.38%) (Table 1).

Table 1. Occurrence frequency (OF) and numerical frequency (NF) for all food items consumed by Araripe manakins (N=94).

Item	OF (%)	NF (%)
<i>Byrsonima sericea</i>	3.19	0.26
<i>Cecropia sp.</i>	5.32	0.89
<i>Clidemia biserrata</i>	22.34	65.96
Morphotype I	10.64	7.53
Morphotype III	12.76	2.04
Morphotype VI	11.70	18.79
Morphotype VII	6.38	0.62
Morphotype VIII	6.38	1.33
Morphotype IX	2.13	0.18
Morphotype X	4.25	0.35
Formicidae	4.25	0.44
Aracnidae	6.38	0.53
Coleoptera	12.76	1.06

Table 2. Dietary Importance Index (DI_i) of each food item consumed by female (N=57) and male (N=37) Araripe manakins (N=94).

Item	Females	Males	All
<i>Byrsonima sericea</i>	0.01	0.09	0.05
<i>Cecropia sp.</i>	0.09	0.49	0.24
<i>Clidemia biserrata</i>	64.16	94.36	80.62
Morphotype I	6.45	1.92	4.32

Item	Females	Males	All
Morphotype III	1.74	0.96	1.42
Morphotype VI	25.34	1.44	11.82
Morphotype VII	0.33	0.09	0.23
Morphotype VIII	1.49	0	0.23
Morphotype IX	0.06	0	0.02
Morphotype X	0.06	0.09	0.09
Formicidae	0.03	0.21	0.1
Aracnidae	0.06	0.38	0.16
Coleoptera	0.14	1.93	0.8

Males and females presented differences in their diets: females ingested two extra fruit species not ingested by males: Morphotypes VIII and IX (Table 3). Females also had a more diverse diet ($H= 1.89$, $e^{\wedge}=0.27$, $D=0.36$) when compared to males ($H= 0.72$, $e^{\wedge}=0.18$, $D=0.72$). However, the overall diet of males and females had a substantial overlap of 68% of food items (BrayCurtis Index= 0.68), and did not differ statistically ($U = 30.5$, $P = 0.53$). Perusing the data allowed us to verify that males ingested animal items more frequently (Table 3), and that these items were also twice as important in their diets (Table 2). Additionally, males consumed significantly more Coleoptera than did females ($t = 2.78$, $P = 0.006$).

Table 3. Occurrence frequency (OF) and numerical frequency (NF) for food items consumed by female (N=57) and male (N=37) Araripe manakins.

Food item	Females		Males	
	OF (%)	NF (%)	OF (%)	NF (%)
<i>Byrsonima sericea</i>	1.75	0.16	5.4	0.39
<i>Cecropia sp.</i>	3.51	0.47	8.11	1.38

Food item	Females		Males	
	OF (%)	NF (%)	OF (%)	NF (%)
<i>Clidemia biserrata</i>	21.05	51.35	24.32	84.81
Morphotype I	10.53	10.3	10.81	3.94
Morphotype III	12.28	2.38	13.51	1.58
Morphotype VI	14.03	30.43	8.11	3.94
Morphotype VII	7.02	0.8	5.4	0.39
Morphotype VIII	10.53	2.38	0	0
Morphotype IX	3.51	0.32	0	0
Morphotype X	3.51	0.32	5.4	0.39
Formicidae	1.75	0.32	8.11	0.59
Aracnidae	3.51	0.32	10.81	0.8
Coleoptera	5.26	0.5	24.32	1.8

During focal observations, we recorded 29 adult males and 32 females foraging and using five different gathering behaviors (see Methods). The most frequently used method was “hang”, performed 83.09% by females and 80.49% by males, followed by “hang down” (Figure 1). The behaviors “hang upside down” and “fly catch” were only performed in the morning (Figure 2). We did not find differences between male and female duration of foraging behavior ($t = -0.7, p = 0.46$), strata used ($U = 4.0, p = 1.0$) or gathering methods ($t = -3.93E-16, p = 1.0$). Both sexes spent a higher percentage of time on the ground and never visited the canopy during the afternoon (Figure 3).

We found no difference between male (mean = 20.65 ± 0.10) and female mass (mean = 20.69 ± 0.16) ($U = 4118.5, P = 0.86$). And while males have longer wings ($U =$

3994.5, $P < 0.001$), tails ($t = 5.13$; $P < 0.001$) and tarsi ($U = 3260.5$, $P < 0.001$), females have longer bills ($U = 4694.5$, $P = 0.003$).

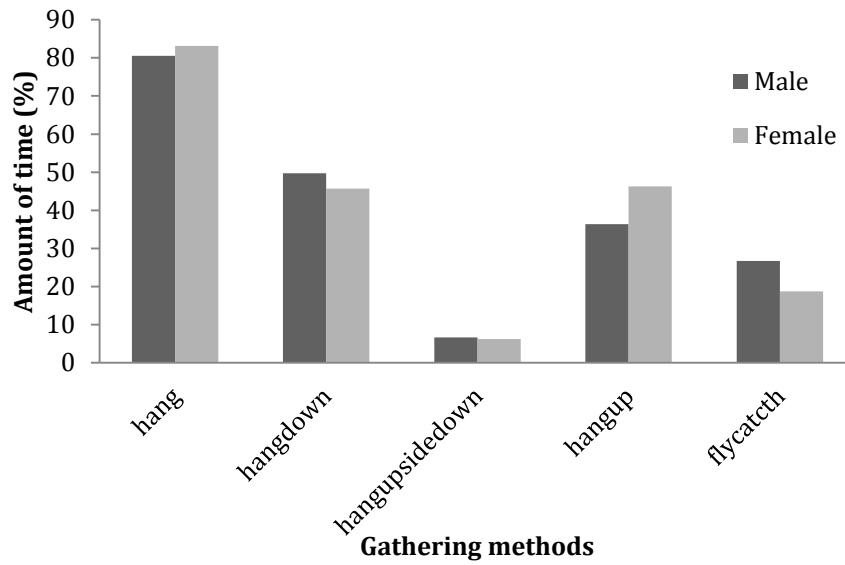


Figure 1. Percentage of each gathering method performed by male and female Araripe manakins during focal observations ($n = 15$ females and 11 males).

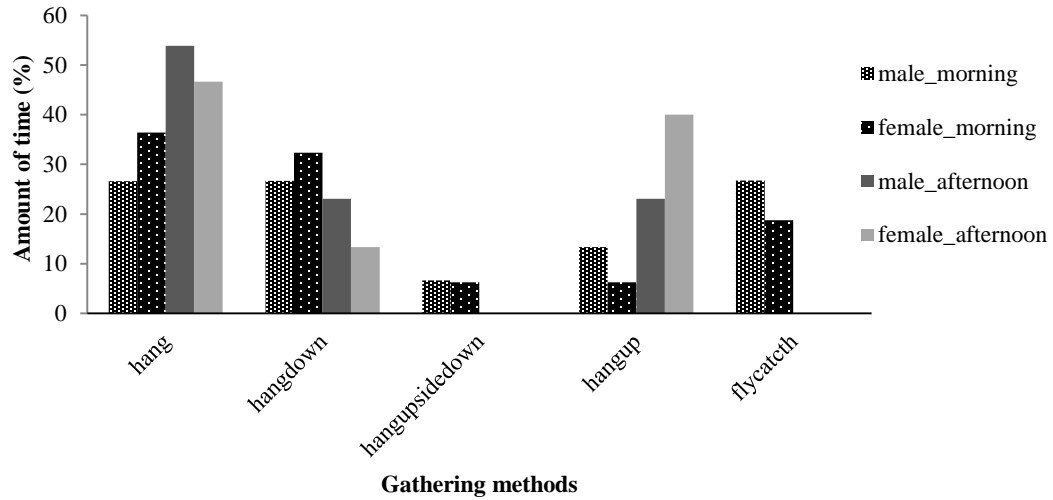


Figure 2. Percentage of each gathering method performed by male and female Araripe manakins during the morning (0900 to 10:30 hr; $n = 10$ females and 7 males) and afternoon (1500 to 1600 hr; $n = 11$ females and 9 males) observation sessions.

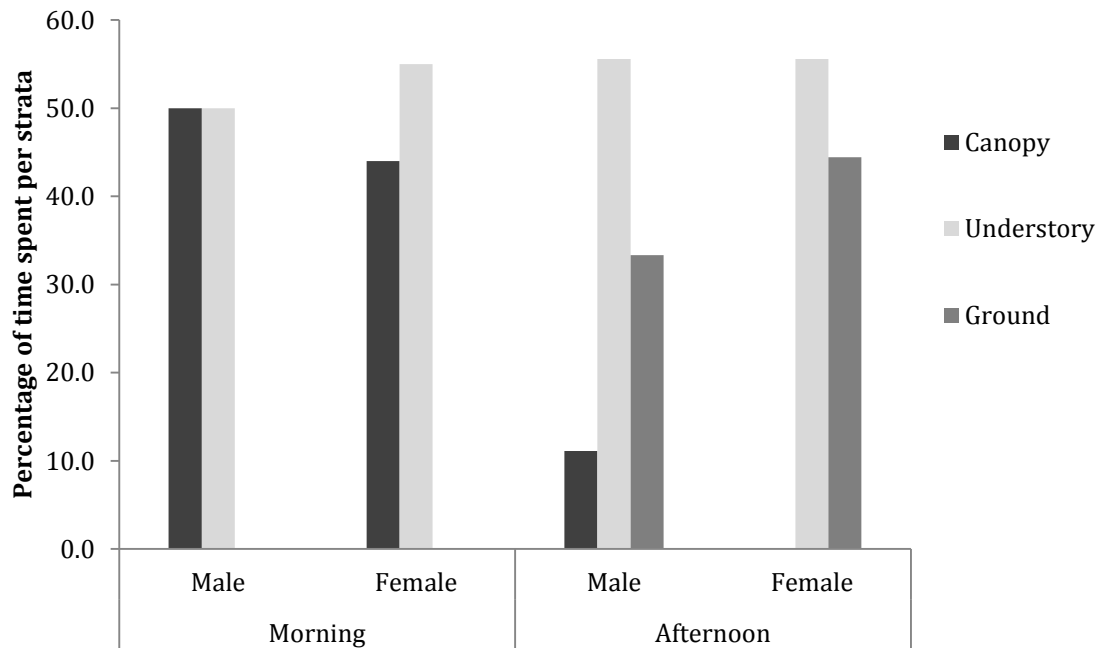


Figure 3. Percentage of time spent by male and female Araripe manakins in each strata during the morning (0900 to 10:30 hr; $n = 10$ females and 7 males) and afternoon (1500 to 1600 hr; $n = 11$ females and 9 males) observation sessions.

DISCUSSION

Despite some expected fecal sample degradation, we were able to document the Araripe manakin's diet and show the existence of some divergences between the male and female diets. Similarly to several other studied manakins (Marini 1992, Loiselle and Blake 1999, Lopes et al. 2005, Gaiotti 2011, Silva e Melo 2011, Montaña-Centellas 2012), Araripe manakins consume both fruits and arthropods, although fruits were more representative and seem to be the primary item of their diet. The amount of fruit species ingested by Araripe manakins was similar to that found for other manakin species (Foster 1976, Silva and Melo 2011, Morales-Betancourt 2012).

In this study, *Clidemia bisserata* was the most consumed item for both sexes, and also had the highest Dietary Importance Index (DI_i), demonstrating the importance of this plant for this critically endangered bird. Two other manakin species, *Manacus manacus* and *Pipra erythrocephala*, have also been shown to consume high levels of plants of the *Clidemia* genus (Morales-Betancourt et al. 2012). The phenology of *C. bisserata* may contribute to our findings, since it is one of the few plants in the Araripe plateau that provides fruit year-round (Linhares 2010), allowing Araripe manakins continuous easy access. Quite possibly, individuals learn the location of plants that are providing fruits, allowing them to return repeatedly to the same sites (Foster 1977, Wheelwright and Janson 1985).

Males and females did not differ in their foraging behavior. For all focal observations both sexes were feeding close to each other or even on the same plant. Thus, foraging behavior does not justify the differences between male and female diets. We found that females have a more diverse diet than males. One possible explanation is that

the more cryptic olive-green plumage of females provides them with a greater degree of camouflage in forested areas, thus allowing them to seek food over a broader area with less risk of predation (Pratt and Stiles 1983). Males, on the other hand, have a very bright white body coloration, with conspicuous red helmets, and may be more vulnerable to predation (Wallace 1889, Götmark 1993).

Furthermore, we found that females have a longer bill, which probably allows them to manipulate more types of fruits (e.g. larger fruits) that males may be unable to handle and ingest (Doucet 2006). Another possible explanation for the higher diversity in the female diet is their more frequent movement between territories, allowing them to forage more widely, when compared to the territorial males, which are limited to small areas. Evidence of this higher locomotion is that only females or young males (with green feathers) were recaptured in areas as far apart as 4.65 km during this study ($n = 4$) but no adult males were recaptured at any substantial distance from their first place of capture. This is also the case for other manakins, wherein adult males are committed to lek sites, and thus cover smaller feeding areas when compared to females and young males (Snow 1962, Lill 1974, Graves et al. 1983, Théry 1992).

Males consumed significantly more Coleoptera beetles when compared to females. Many studies have shown that beetles and other arthropods are rich in carotenoids (Karrer and Jucker 1948, Czezug 1971, Goodwin 1986, Isaksson 2009, Eeva et al. 2010). Animals cannot produce carotenoids and rely on their diets to obtain this pigment (Thommen 1971, Brush 1976, Gray 1996), which is responsible for the red, yellow and orange colors found in bird plumages (Fox and Vevers 1961, Brush 1978, McGraw 2004). Several studies have shown that the level of carotenoid ornamentation in birds is associated

with differences in their diets (Slagsvold and Lifjeld 1985, Partali et al. 1987, Hill and Montgomerie 1994, Hill et al. 1994, Ryan et al. 1994), and that carotenoid ingestion is positively correlated to the intensity of feather coloration (Hill et al. 2002). Because the majority of red feathers result from carotenoid ingestion (Brush 1976, Hill 2006), it is very likely that adult male Araripe manakins need to ingest food items that will result in the bright red plumage of their helmets. The consumption of beetles may be a good option when fruits rich in carotenoids are unavailable or insufficient.

The higher importance of arthropods (i.e. protein) in the male diet can also be associated to the male's overall larger size, including longer wings, tail and tarsi. Because arthropods have high levels of protein, the growth rate of birds on a more insectivorous diet is faster than that of frugivorous ones (Savory 1977, Johnston 1993). Since males have a less diverse diet than females, as mentioned above, they may need a more protein-rich diet. In addition, as the vast majority of plants do not have fruit year-round, males may depend upon invertebrates as a complementary item in their diet, more frequently than females.

Our results provide key information about the Araripe manakin diet, which may be important for improving the conservations status of this endemic and critically endangered species (BirdLife International 2016). Additionally, we show that males and females differ in several aspects of their diets, indicating sex-specific requirements relative to habitat food resources. These results also contribute with basic data about Araripe manakin feeding ecology, which can be helpful for future conservation plans applied to recover heavily degraded areas; in such cases, for example, reforestation can use plants that we now know are important for the Araripe manakin diet. Finally, the differences in the male and female diets raise new questions about the evident dimorphism of the Araripe manakin and how

male foraging behavior may be used to maintain their conspicuous coloration.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for scholarships provided to Milene Gaiotti. CNPQ also provided a fellowship for Regina H. Macedo. For financial support we thank the Association of Field Ornithology, Ornithological Council, Geopark Araripe, Rufford Foundation and the Fundação de Apoio a Pesquisa do DF (FAP-DF). Prof. Robson Ávila graciously provided lab space for the food item analyses. We are grateful for logistic support from Universidade de Brasília and Cornell University and for field assistance provided by João H. de Oliveira, Verônica Lima, Eveny L. Cavalcante Maia and Tatyane Oliveira. Brian D. Wiese reviewed a preliminary version of this manuscript. We thank NGO Aquasis for help with access to our field study sites.

Ethics statement: This research was conducted under the licenses provided by CEMAVE (no. 3731/2) and IBAMA (no. 40116-4).

LITERATURE CITED

- Alho, C. J. R., (2008). Biodiversity of the Pantanal: response to seasonal flooding regime and to environmental degradation. *Brazilian Journal of Biology* 68: 957–966.
- BirdLife International (2016) Species factsheet: *Antilophia bokermanni*. <http://www.birdlife.org>.
- Blake, J. G., and B. A. Loiselle (2002). Manakins (pipridae) in second-growth and old-growth forests: patterns of habitat use, movement, and survival. *The Auk* 119:132–148.
- Brasil, D. N. P. M. (1996). Projeto Avaliação Hidrogeológica da Bacia Sedimentar do Araripe. Recife: Departamento Nacional de Produção Mineral.
- Bray, J. R. and J. T. Curtis (1957). An ordination of upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27: 325–349.
- Brush, A. H (1978). Avian pigmentation. In *Chemical Zoology* Vol 10, 117– 139 (A. H. Brush, editor) Academic, New York.
- Brush, A. H. (1976). Carotenoids in native and captive birds and mammals. In *Carotenoid technology* (J. C. Bauernfiend, editor) Academic, New York.
- Casazza, M., C. Overton, T. V. Bui, J. Hull, J. Albertson, V. Bloom, S. Bobzien, J. McBroom, M. Latta, P. Olofson, M. T. Rohmer, S. Schwarzbach, D. R. Strong, et al. (2016). Endangered species management and ecosystem restoration: finding the common ground. *Ecology and Society* 21: 19.
- Charnov, E., and J. R. Krebs (1974). On Clutch size and fitness. *Íbis* 116: 217-219.
- Coelho, G., and W. A. G. Silva (1998). A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia - Brazilian Journal of Ornithology* 6: 81-84.

- Czeczuga, B. (1971). Assimilation of carotenoids with food by the beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Insect Physiology* 17:2017–2025.
- Doucet, S. M. (2006). Plumage coloration and morphology in *Chiroxiphia* manakins: interacting effects of natural and sexual selection. Ph. D. dissertation, Auburn University, Graduate Faculty, Auburn, AL (USA).
- Eeva, T., S. Helle, J. P. Salminen, and H. Hakkarainen (2010). Carotenoid Composition of Invertebrates Consumed by Two Insectivorous Bird Species. *Journal of Chemical Ecology* 36: 608–613.
- Foster, M. S. (1977). Ecological and Nutritional Effects of Food Scarcity on a Tropical Frugivorous Bird and its Fruit Source. *Ecology* 58:73–85.
- Fox, H. M., and G. Vevers (1961). The nature of animal colours. *Science* 133: 695–696.
- Gaiotti, M. G. (2011). Ecologia Alimentar de Aves de sub-bosque em três ambientes na porção Norte do Pantanal, Mato Grosso, Brasil. Master degree dissertation. Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.
- Gaiotti, M. G. (In prep.). Avifauna do Geopark Araripe. In *O Geopark Araripe e sua Importância na Conservação da Avifauna e Herpetofauna* (Ávila, R. W. and M. G. Gaiotti, editors). Research Project. Coordenação de Apoio a Pesquisa, Ceará, Brasil.
- Gotmark, F. (1993). Conspicuous Coloration in Male Birds is Favoured by Predation in Some Species and Disfavoured in Others. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 253:143–146.
- Graves, G. R., M. B. Robbins, and J. V. Remsen (1983). Age and Sexual Difference in Spatial Distribution and Mobility in Manakins (Pipridae): Inferences from Mist-Netting. *Journal of Field Ornithology* 54:407–412.

- Gray, D. A. (1996). Carotenoids and sexual dichromatism in North American passerine birds. *American Naturalist*. 148: 453–480.
- Hammer, O., Harper, D. A. T., and Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistic Software package for education and data analysis. *Paleontologia electronica* 4: 9–9.
- Harris, M. B., C. Arcangelo, E. C. T. Pinto, G. Camargo, M. B. Ramos-Neto, and S. M. Silva (2005). Estimativas de perda da área natural da bacia do Alto Paraguai e Pantanal Brasileiro. Campo Grande, MS. Technical Report, Conservação Internacional.
- Hedrick, A. V., and E. J. Temeles (1989). The evolution of sexual dimorphism in animals: Hypotheses and tests. *Trends in Ecology & Evolution* 4:136–138.
- Hill, G. E. (2006). Bird Coloration. In *Function and evolution Vol 2* (G. E. Hill and K. J. McGraw, editors) Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Hill, G. E., and R. Montgomerie (1994). Plumage Colour Signals Nutritional Condition in the House Finch. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 258:47–52.
- Hill, G. E., C. Y. Inouye, and R. Montgomerie (2002). Dietary carotenoids predict plumage coloration in Wild House Finches. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269:1119–1124.
- Hill, G. E., R. Montgomerie, C. Y. Inouye, and J. Dale (1994). Influence of Dietary Carotenoids on Plasma and Plumage Colour in the House Finch: Intra- and Intersexual Variation. *Functional Ecology* 8:343–350.
- Isaksson, C. (2009). The Chemical Pathway of Carotenoids: From Plants to Birds. *Ardea* 97:125–128.

- Iucn (2015). The Red List of Threatened Species. Version 2015-4.
<http://www.iucnredlist.org/>.
- Johnston, R. D. (1993). Effects of Diet Quality on the Nestling Growth of a Wild Insectivorous Passerine, the House Martin *Delichon urbica*. *Functional Ecology* 7:255.
- Karrer, P. and E. Jucker (1948). *Carotinoide*. Basle: Birkhauser.
- Kawakami, E., and G. Vazzoler (1980). Método gráfico e estimativa de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. *Boletim do Instituto Oceanográfico* 29:205–207.
- Kerr, J. T., and I. Deguise (2004). Habitat loss and the limits to endangered species recovery. *Ecology Letters* 7:1163–1169.
- Lill, A. (1974). Sexual Behavior of the Lek-forming White-bearded Manakin (*Manacus manacus trinitatis*, Hartert). *Zeitschrift für Tierpsychologie* 36:1–36.
- Linhares, K. V., F. A. Soares, and I. C. S. Machado (2010). Nest support plants of the Araripe Manakin *Antilophia bokermanni*, a Critically Endangered endemic bird from Ceará, Brazil. *Cotinga* 32:90–92.
- Lins, G. L. (2009). APAs (Área de Proteção Ambiental) federais análise da APA da Chapada do Araripe. Master degree dissertation. Centro Universitário de Brasília, Brasília, Brasil.
- Loiselle, B. A., and J. G. Blake (1999). Dispersal of Melastome Seeds by Fruit-Eating Birds of Tropical Forest Understory. *Ecology* 80:330–336.
- Loiselle, B. A., P. G. Blendinger, J. G. Blake, and T. B. Ryder (2007). Ecological redundancy in seed dispersal systems: a comparison between manakins (Aves: Pipridae) in two tropical forests. In *Seed dispersal: theory and its application in a*

- changing world (A. J. Dennis, E. W. Schupp, R. J. Green and D. A. Westcott, editors).
CABI, Wallingford, UK.
- Lopes, L. E., A. M. Fernandes, and M. Â. Marini (2005). Diet of some Atlantic Forest Birds. *Ararajuba* 13: 95-103.
- Marini, M. Â. (1992). Foraging behavior and diet of the Helmeted manakin. *Condor*: 151-158.
- McGraw, K. J. (2004). Not all red, orange, and yellow animal colors are carotenoid-based: the need to couple biochemical and behavioral studies of color signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 70:593–598.
- Montaño-Centellas, F. A. (2012). Are males and females of Yungas Manakin (*Chiroxiphia boliviana*) ecologically redundant as seed dispersers. *Ornitologia Neotropical* 23:185–192.
- Morales-Betancourt, J. A., G. J. Castaño-Villa, and F. E. Fontúrbel (2012). Resource abundance and frugivory in two manakin species (Aves: Pipridae) inhabiting a reforested area in Colombia. *Journal of Tropical Ecology*. 28:511–514.
- Murphy, E. C., and E. Haukioja (1986). Clutch size in nidicolous birds. *Current Ornithology* 4: 141–180.
- Nur, N. (1990). The Cost of reproduction in birds evaluating the evidence from manipulative and non-manipulative studies. In *Population biology of Passerine birds. An integrated approach*, (J. Blondel, A. Gosler, J. D. Lebreton and R. McClerry. editors), Springer Verlage-Nato Asi.
- Partali, V., S. Liaaen-Jensen, T. Slagsvold, and J. T. Lifjeld (1987). Carotenoids in food chain studies—II. The food chain of *Parus* SPP. Monitored by carotenoid analysis.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry 87:885–888.
- Pratt, T. K., and E. W. Stiles (1983). How long fruit-eating birds stay in the plants where they feed: implications for seed. *American Naturalist* 122:797–805.
- Prum, R. O. (1994). Phylogenetic Analysis of the Evolution of Alternative Social Behavior in the Manakins (Aves: Pipridae). *Evolution* 48:1657.
- Rêgo, P. S., J. Araripe, W. A. G. Silva, C. Albano, T. Pinto, A. Campos, M. Vallinoto, I. Sampaio, H. Schneider, and D. B. McDonald (2010). Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *The Auk* 127:335–342.
- Remsen Jr, J. V., and S. K. Robinson (1990). A classification scheme for foraging behavior of birds in terrestrial habitats. *Studies in Avian Biology* 13:144–160.
- Ryan, P. G., C. L. Moloney, and J. Hudon (1994). Color Variation and Hybridization among *Nesospiza* Buntings on Inaccessible Island, Tristan da Cunha. *The Auk* 111:314–327.
- Savory, C. J. (1977). The Food of Red Grouse Chicks *Lagopus L. Scoticus*. *Ibis* 119:1–9.
- Selander, R. K. (1966). Sexual dimorphism and differential niche utilization in birds. *The Condor* 68:113–151.
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal* 27: 379–423.
- Shine, R. (1989). Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism: a review of the evidence. *Quarterly Review of Biology*. 64:419–461.

- Silva, A. M., and C. Melo (2011). Frugivory and seed dispersal by the Helmeted Manakin (*Antilophia galeata*) in forests of Brazilian Cerrado. *Ornitologia Neotropical* 22:69–77.
- Slagsvold, T., and J. T. Lifjeld (1985). Variation in plumage colour of the Great tit *Parus major* in relation to habitat, season and food. *Journal of Zoology* 206:321–328.
- Snow, D. W. (1962). A field study of the Black-and- white Manakin, *Manacus manacus*, in Trinidad, W. I. *Zoologica* 47:65-104.
- Snow, D. W. (1971). Evolutionary aspects of fruit-eating by birds. *Ibis* 113:194–202.
- Taylor, M. F. J., K. F. Suckling, and J. J. Rachlinski (2005). The Effectiveness of the Endangered Species Act: A Quantitative Analysis. *BioScience* 55:360–367.
- Théry, M. (1992). The evolution of leks through female choice: differential clustering and space utilization in six sympatric manakins. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30:227–237.
- Thommen, H. (1971). Metabolism. In *Carotenoids* (O. Isler, editor). Basel, Switzerland, Birkhauser Verlag 637-668.
- Venter, O., N. N. Brodeur, L. Nemiroff, B. Belland, I. J. Dolinsek, and J. W. A. Grant (2006). Threats to Endangered Species in Canada. *BioScience* 56:903–910
- Wallace, A. R. (1889). *Darwinism*. Macmillan, London.
- Wheelwright, N. T., and C. H. Janson (1985). Colors of fruit displays of bird-dispersed plants in two tropical forests. *American Naturalist* 126: 777–799.
- Wilcove, D. S., D. Rothstein, J. Dubow, A. Phillips, and E. Losos (1998). Quantifying Threats to Imperiled Species in the United States. *BioScience* 48:607–615.

Capítulo 3

Variação nos caracteres secundários de machos de *Antilophia bokermanni*, e sua relação com sucesso reprodutivo

INTRODUÇÃO

No século XIX a função e a evolução de características extravagantes, geralmente dos machos, foram tema de famosas discussões entre Charles Darwin e Alfred Wallace, que diferiam quanto às ideias de como tais características teriam surgido (Darwin 1871, Wallace 1895). Foi Ronald Fisher (1915, 1930) que, com a teoria de potencialização (*runaway selection hypothesis*), forneceu novas explicações para a origem de tais características e reconciliou os pontos de vista desses grandes naturalistas. A proposta de Fisher era, resumidamente, que existiam duas etapas no processo de evolução de características extravagantes: primeiro existiria uma variação genética embasando os traços dos machos, e que aqueles com um traço ligeiramente mais extravagante (e.g., uma cauda um pouco maior), teriam uma pequena vantagem em termos de sobrevivência. A segunda etapa diz respeito à preferência das fêmeas, que por sua vez, possuiriam uma variação genética na propensão de acasalarem-se com machos com traços de extravagância variados. Assim, fêmeas que preferissem machos mais extravagantes produziriam uma prole com uma sobrevivência ligeiramente maior. Então, os alelos codificando traços mais extravagantes tornariam-se mais frequentes na população, tal qual os alelos codificando a preferência das fêmeas por esses traços, potenciando o processo.

Muitos autores mostraram através de modelos teóricos que o processo *runaway* proposto por Fisher (1915) realmente pode ocorrer (Donald 1973, Lande 1981, Kirkpatrick 1982, Bailey & Moore 2012, Chandler et al. 2013). No entanto, alguns pesquisadores não estavam satisfeitos com o efeito disgênico da escolha da fêmea e buscaram explicações em um contexto onde a escolha poderia levar as fêmeas a copularem com machos de maior aptidão (Smith 1976). Desta forma surgiram hipóteses alternativas para a origem dos

caracteres sexuais secundários dos machos. O princípio do *handicap* (ou desvantagem), defendido por Zahavi (1975), é o mais discutido. Esse princípio propõe que as preferências das fêmeas evoluem para permitir que estas se acasalem com machos de maior qualidade, e a escolha de machos com traços mais extravagantes, no entanto desvantajosos (em termos de sobrevivência) para os machos, ocorreria porque funcionariam como indicadores de boa saúde e vigor, também chamado por Andersson (1994) de mecanismos indicadores. Isso alude à existência de genes associados à boa qualidade dos indivíduos, ou “bons genes”. Assim, apenas machos de melhor qualidade (e.g., mais saudáveis), seriam capazes de exibir traços energeticamente custosos, que parecem não ser adaptativos no contexto da seleção natural. Tal qual o processo *runaway*, o princípio do *handicap* tanto tem sido criticado quanto elogiado (Smith 1976; 1985, Kirkpatrick 1986, Pomiankowski 1987, Grafen 1990, Yang et al. 2013, Hodges-Simeon et al. 2014, Moore et al. 2015).

Hamilton e Zuk (1982) propuseram algumas modificações na teoria de Zahavi (1975). Eles sugeriram que adaptações em populações animais evoluem de forma cíclica em resposta aos parasitas, e que a variação na extravagância das características dos machos seria mediada por tais parasitas ou patógenos. Assim, machos livres de infecções ou infestações exibiriam características comportamentais mais vigorosas (e.g., *display*, canto, vôo) ou possuiriam plumagens mais brilhantes, por exemplo. Sugeriram ainda, que se a resistência a parasitas fosse hereditária, fêmeas que optassem por tais machos teriam uma prole com maior aptidão. Esse modelo assume que: (1) a expressão de características sexuais secundárias nos machos depende da sua saúde e vigor; (2) hospedeiros co-evoluem com seus parasitas gerando uma hereditariedade da resistência a esses parasitas; e (3) existe

um efeito negativo da presença do parasita sobre a viabilidade do hospedeiro (Møller 1990).

Inúmeros estudos têm sido realizados no intuito de explicar se, de fato, esses traços dos machos estão relacionados com sua qualidade e saúde, e muitas divergências tem sido encontradas (Borgia & Collis 1989, Endler & Lyles 1989, Møller 1990, Clayton 1991, Weatherhead et al. 1991, Poulin & Vickery 1996, von Schantz et al. 1996, Hamilton & Poulin 1997, Costa & Macedo 2005, Vas et al. 2011, Pölkki et al. 2012, Marzal et al. 2013, Molnár et al. 2013). Tal princípio não parece funcionar de maneira igual para todos os traços, nem para todas as espécies (Kirkpatrick 1986, Clayton 1991, Pröhl et al. 2013). Por isso é necessário primeiramente encontrar quais traços, caso existam, estariam relacionados com a saúde e vigor do macho, assim como quais parâmetros de saúde ou boa qualidade poderiam estar associados a esses traços (Drury 2010).

É reconhecido que doenças parasitárias afetam negativamente o desenvolvimento e a qualidade dos caracteres sexuais secundários. Sabe-se também que altos níveis de testosterona, necessários para a produção e manutenção de traços exagerados, suprimem o sistema imune (Folstad & Karter 1992), permitindo apenas aos machos livres (ou com menores taxas) de parasitas e infecções possuírem tais características extravagantes. A convergência das propostas de Folstad & Karter (1992) e de Hamilton e Zuk (1982) com a teoria do *handicap* de Zahavi (1975) sugere que a exuberância de características sexuais secundárias seja uma boa indicadora da saúde do macho que as exhibe (Drury 2010). Para as aves, a coloração das penas, a complexidade do canto, o investimento no cuidado parental e a condição corporal são caracteres reconhecidamente associados à qualidade da saúde dos

machos (Shutler & Weatherhead 1990, Garamszegi 2004, Carvalho et al. 2007, Gil et al. 2007, Marzal et al. 2013).

Aves da Família Pipridae são excelentes modelos para testar tais teorias, devido ao grande dimorfismo sexual, e à exuberância e complexidade na coloração e nos *displays* exibidos pelos machos (Prum 1998, Anciães & Prum 2008). A Família Pipridae destaca-se não só pela exuberância das características sexuais secundárias como também pelo fato de ter um sistema de acasalamento poligâmico, na forma de leks. O presente trabalho focou uma das espécies dessa família, *Antilophia bokermanni*, com o intuito de examinar sua biologia reprodutiva e comportamento. Na Introdução Geral à tese apresento informações mais detalhadas acerca da espécie de estudo.

O gênero *Antilophia* é o único entre os piprideos que não exhibe *displays* elaborados de corte, sendo que as duas espécies do gênero são classificadas como monogâmicas, diferentemente das outras espécies da família (Prum 1994, 1998, Marini & Cavalcanti 1992). Contudo, machos de *A. bokermanni* possuem uma plumagem de coloração extravagante para uma espécie tida como monogâmica e que habita a mata úmida: branca, grená e preta, diferente das fêmeas que são verde oliva (Coelho & Silva 1998). Ainda, os machos possuem uma vocalização bastante chamativa e frequente, especialmente durante o período reprodutivo, além de um repertório variado (Girão & Souto 2005, Gaiotti observação pessoal).

Tais caracteres sexuais secundários, na sua vasta maioria, não são produzidos através de seleção natural (Lande 1981, Kirkpatrick 1982, Frazee & Masly 2015, Gordon et al. 2015). Assim, esse estudo teve por objetivo avaliar se a variação nos caracteres sexuais secundários em machos de *A. bokermanni* está relacionada com uma melhor condição

física destes, ou seja, se as características são sinais honestos de qualidade e se os machos com características mais acentuadas/complexas, por sua vez, são favorecidos pelas fêmeas, tendo assim um maior sucesso reprodutivo. Esperamos, também, que machos com melhores condições corporais possuam maiores territórios reprodutivos.

No contexto do exposto acima, testamos nesse trabalho as seguintes hipóteses: (1) machos com melhor condição corporal (maior índice da relação peso e comprimento do tarso) apresentam melhor condição imunológica; (2) machos com melhor condição corporal (maior índice da relação peso e comprimento do tarso) e/ou melhor condição imunológica exibem caracteres sexuais secundários mais extravagantes (plumagem e vocalização) e possuem territórios reprodutivos maiores; e (3) a qualidade do macho, seja através de condição corporal, extravagância dos caracteres sexuais secundários ou maior território, está relacionada com seu sucesso reprodutivo.

MÉTODOS

O Capítulo 1 traz parte da descrição metodológica que foi utilizada também no estudo descrito no presente capítulo, e portanto não repetida aqui. Tais metodologias se referem à:

Captura e marcação dos indivíduos

Territórios reprodutivos

ÍNDICE DE CONDIÇÃO CORPORAL

Todos os machos adultos capturados tiveram as medidas morfométricas tomadas com paquímetro bem como seu peso mensurado com balança de mola, como descrito nos métodos no capítulo 1. A idade dos machos foi determinada através da coloração da plumagem, onde machos com plumagem adulta completa (sem a presença de penas verdes)

foram considerados adultos, machos que apresentaram partes da plumagem verde foram considerados sub-adultos e machos totalmente verdes (que tiveram o sexo determinado através de sexagem genética) foram considerados jovens. Usando a razão entre o peso e o comprimento do tarso, foi calculado o índice de condição corporal dos indivíduos ($ICC = \text{peso}/\text{tarso}$) onde altos valores indicam indivíduos mais pesados com relação ao tamanho, ou seja, com melhores condições corporais no que se refere à reservas energéticas lipídicas. Esse método é considerado uma boa medida de saúde e tamanho do macho, quando as duas medidas, peso e tarso, não estão correlacionadas, como no caso do presente estudo (coeficiente da correlação de Pearson: $r = 0,27$; $p = 0,10$), uma vez que reflete de forma independente peso e comprimento (Peig & Green 2009).

COLETA E ANÁLISE DA PLUMAGEM

Para todos os machos adultos, foram registradas (com paquímetro 0,01mm de precisão) as medidas do comprimento do manto (da extremidade do topete até a extremidade do manto), e do comprimento do topete (da base da pena frontal até a ponta do topete). Foram coletadas 4 a 7 penas do topete (vermelhas), 4 a 7 do manto (vermelhas), 3 a 6 penas do dorso (brancas) e 3 a 6 penas do ventre (brancas). As penas foram fixadas com fita crepe em papel cartão (Figura 1), embaladas em envelopes de papel alumínio com identificação do indivíduo, os quais foram mantidos longe da umidade e da luz para posterior espectrofotometria das penas. A medição da coloração das penas foi realizada com espectrofotômetro Ocean Optics® USB4000 com uma fonte de luz de xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Florida), que permite a iluminação no espectro ultra-violeta e no espectro visível para humanos (250-750nm).

Para cada grupo de penas (topete, manto, dorso e ventre), foi avaliado o total de luz refletido pelas penas através da medida de brilho (reflectância média, B2), a cor através da

matiz (comprimento de onda com máxima reflectância, H2), o contraste (diferença entre as reflectâncias máxima e mínima, S6), e a pureza da cor (croma) através da saturação (razão entre a soma da reflectância em um determinado espectro de cor e a reflectância total: UV-Croma para as penas brancas e S1.vermelho para penas vermelhas). Para essas análises, foi utilizado o programa SpectraSuite®. As leituras das medidas de reflectância das penas foram obtidas posicionando a fibra óptica apenas no ângulo de 90° em relação à pena, por não se tratarem de penas com coloração iridescente. Para cada conjunto de penas foram feitas três medidas em locais aleatórios nas penas, e computada a média para cada conjunto de medições. As medidas de coloração das penas do topete dos machos foram desconsideradas nas análises das hipóteses 2 e 3, devido ao pequeno tamanho amostral para machos que defenderam território (Hipótese 2) e/ou produziram prole (Hipótese 3). Essas medidas foram utilizadas apenas para fins descritivos das curvas de reflectância.



Figura 1- Penas coletadas de um macho de *Antilophia bokermanni* preparadas para medição no espectrofotômetro.

GRAVAÇÃO E ANÁLISE DO CANTO

As gravações dos cantos dos indivíduos foram realizadas entre as 1100h e 1300h, horário de maior atividade vocal de *A. bokermanni* (Girão & Souto 2005, Gaiotti observação pessoal). Sempre que avistado um indivíduo macho adulto anilhado, vocalizando, foi iniciada a gravação a partir do início do próximo canto, com um gravador digital Marantz PMD 661® e microfone unidirecional Sennheiser K6®. Todas as amostras de canto tiveram duração mínima de cinco minutos. As gravações foram analisadas no programa RavenPro 1.4® (Bioacustics Research Program 2011).

Para as análises acústicas do canto foram utilizadas cinco amostras de cantos completos (ver descrição abaixo), sendo selecionados os cantos mais limpos (com menos ruído) e de melhor qualidade (gravados mais próximos aos indivíduos). Para os cantos completos foram medidos os seguintes parâmetros acústicos (Smith et al. 2013): duração do canto (segundos), banda de frequência 90% (Hz), frequência 5% (Hz), frequência 95% (Hz), pico de frequência (Hz), delta time (s) e entropia média (Hz). A complexidade do canto também foi avaliada, uma vez que foi observado que machos podem realizar mais de um tipo de som. A complexidade foi quantificada com base no número total de cada tipo de canto emitido pelo macho durante o intervalo de 5 minutos de gravação. Os tipos de cantos existentes foram determinados após serem escutadas todas as gravações realizadas em campo, em conjunto com os registros observados enquanto em campo (quando não era possível gravar, mas foi registrado um novo tipo de canto). Para caracterizar diferentes categorias de canto, consideramos o número e tipo (aspecto) de sílabas presentes, e para classificar como um novo tipo de canto, deveria soar diferente. Por exemplo, cantos incompletos apresentam sílabas similares às de cantos completos, porém em números

diferentes e o final do canto incompleto é diferente do canto completo, faltando sílabas de finalização, por isso denominamos tal vocalização de canto incompleto. Os sonogramas, gráficos representativos que mostram a distribuição de frequências dos cantos registrados para *A. bokermanni*, encontram-se nos resultados.

COLETA DE SANGUE E IMUNOLOGIA

As amostras de sangue dos indivíduos foram coletadas por meio de uma punção com agulha na veia ulnar como descrito no capítulo 1. Parte do sangue coletado foi utilizado para produzir um esfregaço sanguíneo no intuito de gerar um perfil imunológico dos machos, com a quantificação de células do sistema imune (i.e., bastonetes, heterófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos). Os esfregaços foram feitos em lâminas de microscopia, fixados com metanol 10% e corados com Giemsa para posterior análise laboratorial com o método de contagem diferencial de leucócitos através de coloração pelo panócito.

As análises laboratoriais foram realizadas pelo Laboratório Veterinário Santé, em Brasília, DF, Brasil (<http://www.santelaboratorio.com.br/>). Uma análise de correlação foi efetuada entre frequências das células do sistema imune e as medidas de condição corporal dos machos para verificar se esses dois parâmetros estariam associados.

EXTRAÇÃO DE DNA E ANÁLISES MOLECULARES DE PATERNIDADE

Para a obtenção do DNA das amostras de sangue foi utilizado o protocolo de extração QIAGEN® para tecidos, uma vez que o armazenamento do sangue ocorreu em etanol 99%, coagulando-o rapidamente e tornando-o sólido como um tecido. Foram utilizados 15 pares de microsátélites polimórficos para as análises de paternidade. Todos os *primers* utilizados foram previamente desenvolvidos a partir de dados da literatura (tabela 1). Dez dos *primers* utilizados foram desenvolvidos para outras espécies de piprídeos, no entanto, se mostraram eficazes (polimórficos) para *A. bokermanni* no presente estudo

(tabela 2). Cinco destes primers foram desenvolvidos especificamente para *Antilophia* spp. (Souza et al. in prep.) (tabela 1). Os microsátélites foram rearranjados em grupos de quatro para possibilitar múltiplas PCR (*Polymerase Chain Reaction*). As PCR's foram realizadas com o kit QIAGEN® Multiplex PCR, e as condições de cada reação foram adaptadas para cada conjunto de microsátélites, de acordo com o tamanho dos marcadores e temperatura de anelamento necessárias para a eficácia da PCR. Todas as extrações de DNA e reações de PCR foram realizadas no Fuller Lab de biologia molecular do Cornell Lab of Ornithology, Cornell University, EUA.

Cada reação de PCR conteve 5 µl de QIAGEN® *Type it master mix kit*, 1 µl do mix de primers, 1,4 µl de água e 2 µl de DNA. Para cada mix de primers foram preparadas soluções de 500 µl da seguinte maneira: foram adicionados 10 µl de cada primer (5'-3' e 3'-5') (quando haviam quatro primers no mix) e 420 µl de solução tampão TE. Quando havia menos primers no *mix* (para casos de primers que tiveram temperatura de anelamento diferentes), a solução teve o volume de TE ajustado para que o produto final fosse 500 µl. O DNA foi amplificado nas reações de PCR através de ciclos termais de acordo com o protocolo para o *Type it* microsátélite *PCR Kit* da QIAGEN®, modificando-se apenas as temperaturas de anelamento (TA) de acordo com a característica (sequência) de cada primer (tabela 1). Para os pares de primers que possuíram TA de 58 °C o tempo final de extensão foi prolongado para 3 minutos (ao invés dos 30 segundos do protocolo) para maior eficácia da reação. Os produtos da PCR foram genotipados na *Cornell University Biotechnology Resource Center (BRC)* utilizando *3730xl DNA analyzer* (Applied Biosystems) e *GeneScan-500 LIZ* (Applied Biosystems) como padronizador de tamanho molecular.

Foi utilizado o programa Geneious 8.1.5 (Kearse et al. 2012) para determinar os picos de cada microsatélite, através do tamanho do fragmento de cada alelo para cada locus, onde cada pico corresponde a um alelo de determinado tamanho. Os resultados gerados no Geneious foram então utilizados para as análises de paternidade no programa Cervus 3.0.0 (Kalinowski et al. 2007). Utilizamos a verossimilhança entre os alelos (LOD score) dos indivíduos, com o nível de confiança de 95% (restrita) e 90% (relaxada) sendo utilizados apenas os valores acima da confiança restrita (exceto para um caso onde o macho com maior LOD era o macho do par social, onde foi então aceita a confiança de 80%). A maior verossimilhança é calculada através da probabilidade de um pai candidato ser o verdadeiro pai, dividido pela probabilidade de que ele não o seja. Os valores de LOD no Cervus foram gerados com base nos seguintes parâmetros: 1) 10000 simulações de genótipos de ninhegos, 2) número de machos (pais candidatos), 3) proporção de alelos assinados, 4) proporção de machos amostrados na população (85%), e 5) mínimo desejado de alelos compatíveis entre pais e filhotes (modificado para 7). Primeiramente foram feitas análises de frequência de alelos, onde se identificou a presença e proporção de alelos nulos e heterozigosidade (tabela 2).

As simulações de paternidade foram feitas para filhotes onde se sabia quem era a mãe, através de observações no campo, e para filhotes onde não se conhecia a mãe, com o intuito de verificar se nesse último caso ela teria sido amostrada, mesmo não tendo sido identificada no campo. Para as análises de parentesco foram utilizadas as opções “all parents” e “joint LOD score”. A maternidade também foi confirmada para os ninhegos onde se conhecia a mãe, utilizando-se o mesmo processo usado para confirmar a paternidade, porém para maternidade, sendo que utilizamos o parâmetro de 70% como a

proporção de fêmeas amostradas na população. Quando a maternidade foi confirmada as mães foram incluídas nas análises de paternidade.

Tabela 1. Descrição dos 15 pares de *primers* utilizados nas análises de microsatélite, suas respectivas temperaturas de anelamento (TA) e referências bibliográficas.

Tabela 2. Características dos 15 microssatélites amplificados em *Antilophia bokermanni* para os 359 indivíduos amostrados, utilizados nas análises de paternidade e maternidade no programa Cervus 3.0.3 (Kalinowski et al. 2007). Hobs: Heterozigosidade observada; Hexp: Heterozigosidade esperada; NE-1P: probabilidade de exclusão para um pai ou mãe candidatos; NE-2P: probabilidade de exclusão para um candidato dado o genótipo da mãe (para filhotes com a maternidade confirmada); P(HW): probabilidade do equilíbrio de Hardy-Weinberg e FN: frequência de alelos nulos.

Locus	N alelos	Hobs	Hexp	NE-1P	NE-2P	P (HW)	FN
Chiro5	4	0.621	0.564	0.833	0.677	0.002	-0.0550
Chiro4	8	0.710	0.726	0.673	0.492	0.410	0.0153
Chiro10	5	0.474	0.447	0.895	0.754	0.340	-0.0290
Chiro8	4	0.630	0.532	0.851	0.697	0.000	-0.1039
Chiro12	5	0.643	0.635	0.780	0.623	0.5901	-0.0089
Chiro11	3	0.599	0.570	0.838	0.725	0.6339	-0.0239
Man4	6	0.691	0.702	0.709	0.532	0.7368	0.0066
Man1	6	0.727	0.710	0.699	0.521	0.3197	-0.0160
Chr3-22	3	0.284	0.295	0.956	0.864	0.8266	0.0128
Chiro7	7	0.730	0.728	0.675	0.497	0.006	-0.0023
M7	2	0.485	0.497	0.877	0.813	0.6966	0.0118
M9	5	0.752	0.731	0.685	0.512	0.5319	-0.0152
M10	2	0.382	0.404	0.919	0.839	0.3497	0.0274
M12	2	0.474	0.461	0.894	0.823	0.6702	-0.0140
M14	5	0.747	0.732	0.684	0.510	0.6940	-0.0107

SUCESSO REPRODUTIVO

O sucesso reprodutivo dos machos de *A. bokermanni* foi quantificado a partir do número de ninhegos com paternidade genética confirmada para cada macho. No entanto, para as análises estatísticas não foi possível utilizar o número de ninhegos atribuídos a cada macho diretamente como um parâmetro, devido a essa distribuição numérica ser muito variável (apenas 2 machos geraram 2 ninhegos, 1 gerou 5 ninhegos e 57 apenas 1 ninhego). Desta forma, optou-se por utilizar o sucesso reprodutivo como uma variável binária: 0

(quando o macho não foi pai biológico de nenhum ninhego) ou 1 (quando o macho foi pai biológico de pelo menos um ninhego).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Utilizamos análises de Pearson para avaliar a correlação entre o índice de condição corporal dos machos e a contagem de células do sistema imune (hipótese 1). Na avaliação da hipótese 2, realizamos uma análise de correlação entre os caracteres sexuais secundários dos machos (variáveis explicativas) e o índice de condição corporal (variável resposta). Para os machos que defenderam território, verificamos também se o tamanho dos territórios está relacionado com o índice de condição corporal.

Para avaliar a hipótese 3, onde testamos se os caracteres sexuais secundários de machos de *A. bokermanni* estão relacionados com seu sucesso reprodutivo, foi utilizada um modelo linear generalizado (distribuição do erro do tipo binomial) no programa R (R Development Core Team 2011). As análises foram separadas em dois grupos: machos com territórios reprodutivos e todos os machos, uma vez que machos que não foram observados defendendo territórios também tiveram a paternidade confirmada para alguns filhotes. Dentro de cada um desses grupos foi analisada a relação do sucesso reprodutivo com cada variável ou conjunto de variáveis, separadamente: (1) índice de condição corporal, e tamanho do território para o grupo dos machos com território, (2) coloração da plumagem branca do dorso, (3) coloração da plumagem vermelha do manto, (4) coloração da plumagem branca do ventre, (5) complexidade do canto, e (6) características acústicas do canto.

As análises foram realizadas separadamente (na forma de correlações) para cada conjunto de variáveis devido à grande diferença nos tamanhos amostrais de machos e características sexuais secundárias amostradas, não sendo possível a realização de um

modelo único incluindo todas as variáveis ao mesmo tempo. Por exemplo, para alguns machos foram coletadas amostras do canto mas não das penas, sendo que todas as variáveis foram amostradas em apenas seis machos (tabela 3). A idade dos machos foi incluída em todos os modelos como um valor fixo, exceto para modelos que incluíram a coloração da plumagem. O índice de condição corporal dos machos foi incluído como uma variável preditora contínua nos modelos que incluíram as variáveis de (2) a (6), listadas acima.

Tabela 3. Tamanhos amostrais para as variáveis analisadas para machos de *Antilophia bokermanni*, com referência às hipóteses testadas.

Variáveis	Tamanho amostral (N de machos)	
	Hipóteses 1 e 2	Hipótese 3
Índice de condição corporal	118	60
Coloração plumagem ventre	33	23
Coloração plumagem dorso	34	20
Coloração plumagem manto	32	25
Perfil imunológico	42	14
Tamanho território	32	32
Canto (complexidade e acústica)	21	21

Foram aplicadas análises dos componentes principais (PCA), separadamente, para as medidas de complexidade do canto (tabela 4), características acústicas do canto (tabela 5) e coloração da plumagem (tabela 6). As análises de PCA foram realizadas com o intuito de reduzir o número de variáveis preditoras e evitar colinearidade entre preditores nos modelos. Os componentes com auto-valores (eigenvalues) maiores que 1 (critério de Kaiser 1960), foram retidos para as demais análises. Em todos os casos, apenas os dois primeiros componentes foram utilizados e explicaram em média 76,88% da variação no conjunto original dos dados. Ainda, realizou-se testes de verossimilhança para a comparação entre modelos e avaliação da significância de cada variável preditora. Para comparações múltiplas, foi utilizado o comando `glht` do pacote *multcomp* no programa R (R Development CoreTeam 2011).

Tabela 4. Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis de complexidade do canto de machos de *Antilophia bokermanni*.

Variável	Comp.1	Comp.2
Número de assobios	0.603	-0.137
Número de cantos completos	0.536	
Número de cantos incompletos	0.238	0.531
Número de duplos assobios	0.487	-0.430
Número de cantos dobrados	-0.233	-0.717

Tabela 5. Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis dos componentes acústicos do canto de machos de *Antilophia bokermanni*.

Variáveis	Comp.1	Comp.2
Largura de Banda 90%	-0.461	0.374
Delta time (s)	-0.309	0.157
Pico de frequência	-0.479	
Entropia média		-0.759
Frequência 5%	-0.405	-0.489
Frequência 95%	-0.544	0.110

Tabela 6. Valores dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2) resultantes das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis de coloração da plumagem de machos de *Antilophia bokermanni*.

Variáveis	Comp.1	Comp.2
dorso.B2	0.563	-0.382
dorso.s1uv	-0.466	-0.467
dorso.S6	0.681	
dorso.H2	0.796	
manto.B2	0.680	0.128
manto.s1red	-0.429	-0.712
manto.S6	0.534	-0.506
manto.H2	-0.260	0.470
ventre.B2	0.632	0.406
ventre.s1red	-0.260	0.733
ventre.S6	0.703	
ventre.H2	-0.198	0.543

RESULTADOS

Foram capturados e anilhados 123 machos (85 adultos, 27 sub-adultos e 11 jovens), para os quais também foram coletadas amostras de sangue. Destes, 118 tiveram medidas morfométricas coletadas. Foram feitas gravações de cantos de 21 machos anilhados (identificados), dentre os 32 que também defenderam território. As penas foram analisadas para 53 machos (adultos apenas) e esfregaços de sangue de boa qualidade foram feitos para 42 machos.

CONDIÇÃO CORPORAL E IMUNOLOGIA

A média do índice de condição corporal dos machos ($ICC = \text{peso}/\text{tarso}$) foi de $0,91 \pm 0,006$, sendo que o macho com maior índice possuiu 1,08 e o menor 0,77. Foram analisadas lâminas com esfregaço de sangue de 42 machos adultos. A presença e a quantidade de cada categoria celular do sistema imune variou entre indivíduos, no entanto, em nenhum macho adulto foram encontrados bastonetes e eosinófilos, apenas heterófilos, linfócitos e monócitos (Anexo 1).

PLUMAGEM

Foram analisadas penas de 53 machos adultos. No Anexo 2, estão listados, individualmente, os valores médios (a partir das 3 medidas de conjuntos de penas) por parte do corpo de onde a pena foi coletada para as variáveis: brilho (B2), croma (S1.UV para penas brancas e S1.Red para as vermelhas), contraste (S6) e matiz (H2). As curvas de reflectância foram produzidas para as plumagens de diferentes partes do corpo para a população de machos amostrados (Figura 2).

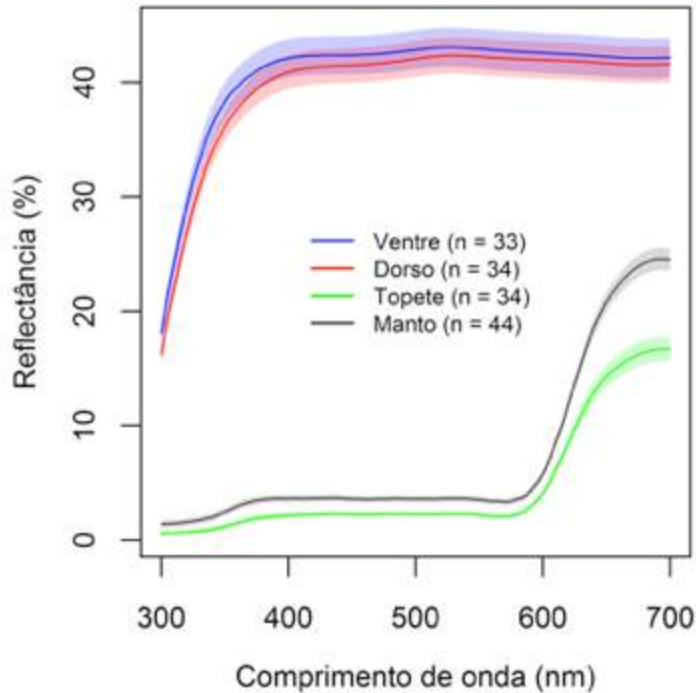


Figura 2- Curvas de reflectância das cores de plumagem de cada parte do corpo (ventre, dorso, topete, manto) dos machos de *Antilophia bokermanni* amostrados durante duas estações reprodutivas (2013/2014 e 2014/2015) na Chapada do Araripe-CE.

CANTO

Foram gravados os cantos de 21 machos que estabeleceram territórios reprodutivos em uma ou mais estações reprodutivas. Foram registrados seis tipos diferentes de sons sendo estes classificados em: cantos completos (Figura 3), assobios (Figura 4), cantos parciais (Figura 5), chamados (Figura 6), duplo assobios (Figura 7) e canto dobrado (Figura 8). Em relação às características acústicas dos cantos completos (Figura 3), as medidas médias para os 21 indivíduos analisados foram: duração do canto 90% (segundos): $0,76 \pm 0,02$, banda de frequência 90% (Hz): $1131,7 \pm 37,0$; frequência 5% (Hz): $2357,2 \pm 18,23$; frequência 95% (Hz): $3488,9 \pm 42,82$; pico de frequência (Hz): $3068,75 \pm 53,90$; delta time (s): $0,947 \pm 0,02$ e entropia média (Hz): $2805,8 \pm 115,90$.

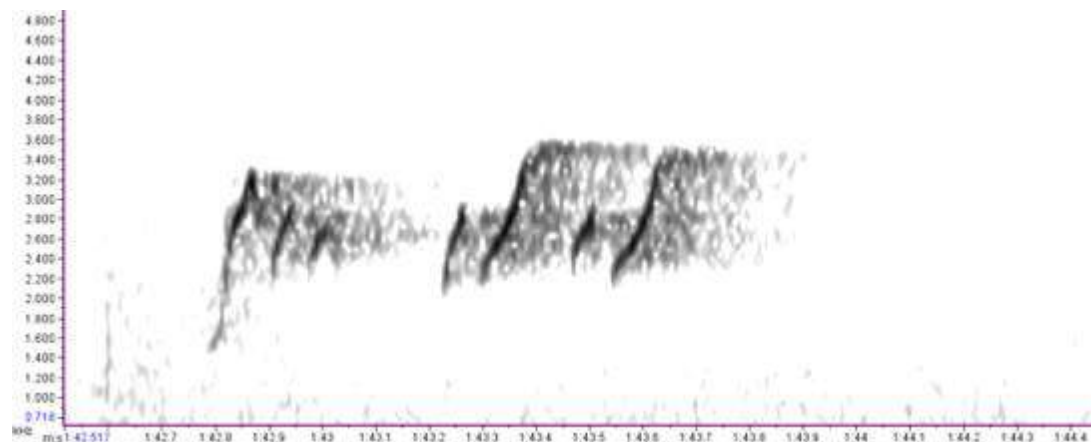


Figura 3- Espectrograma do canto completo de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

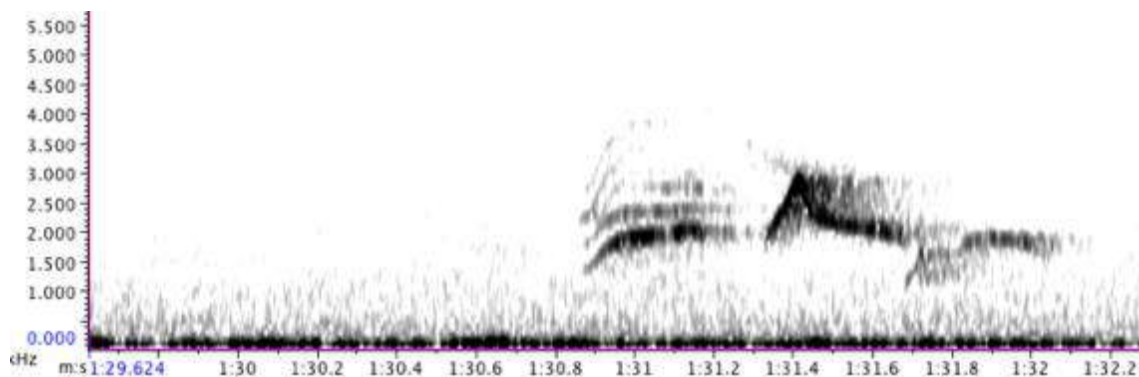


Figura 4- Espectrograma do assobio de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

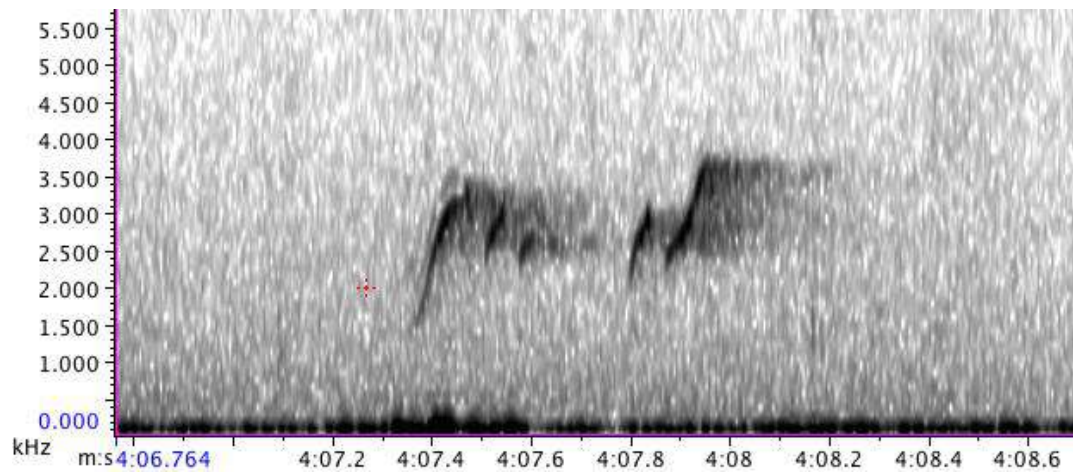


Figura 5- Espectrograma do canto parcial de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

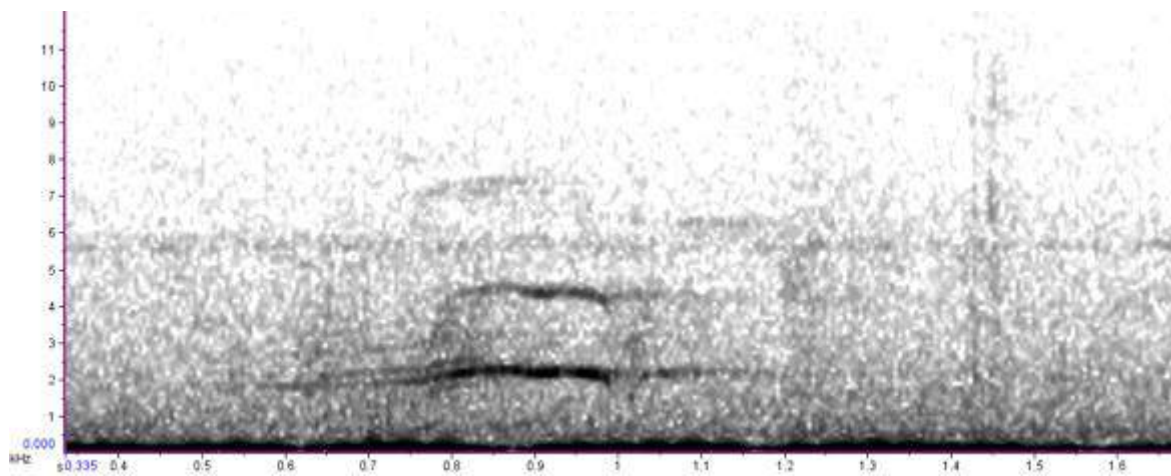


Figura 6- Espectrograma do chamado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

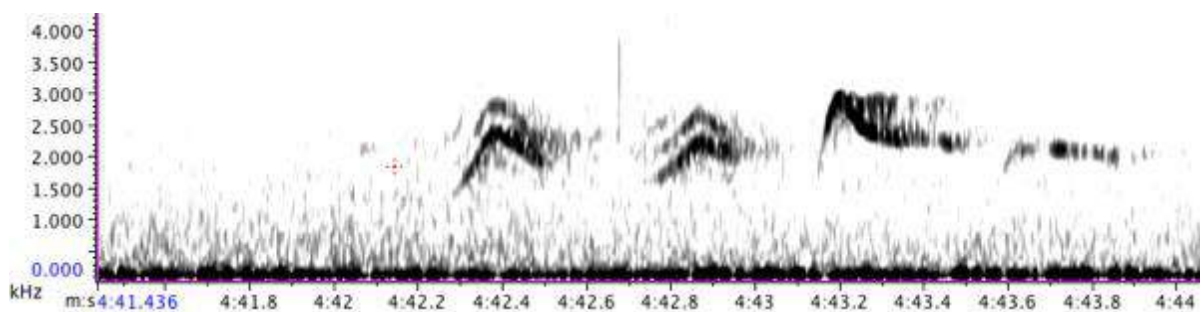


Figura 7- Espectrograma do assobio dobrado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

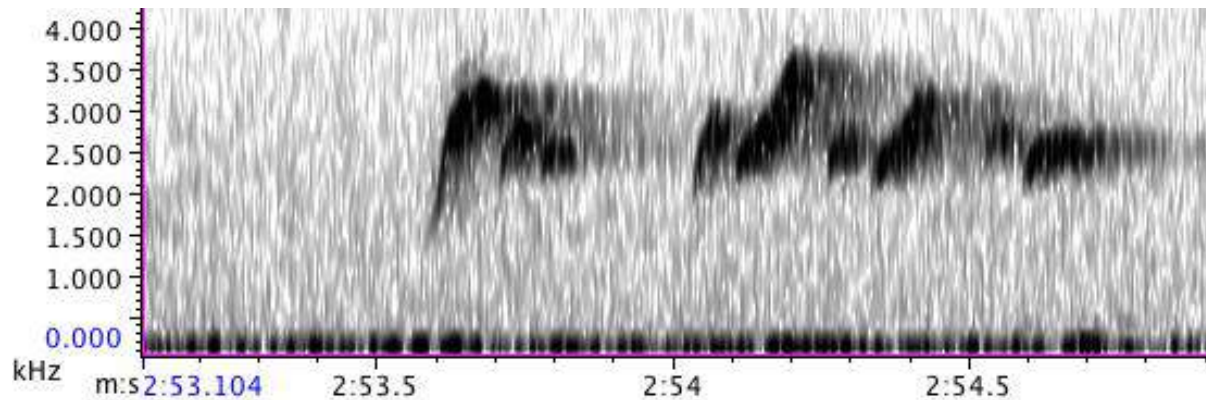


Figura 8- Espectrograma do canto dobrado de um indivíduo macho adulto de *Antilophia bokermanni*.

PATERNIDADE

Realizamos análises de paternidade para 60 machos adultos (machos que produziram filhotes, tendo ou não defendido território). Os resultados mostraram que 43 machos produziram um total de 57 ninhegos. Destes 43 machos, 28 não defenderam territórios reprodutivos e seus filhotes se encontravam em ninhos de outros machos, enquanto que 14 defenderam territórios reprodutivos e produziram filhotes, porém, não necessariamente dentro dos seus próprios territórios. Tivemos ainda 17 machos que possuíam territórios e ninhos, mas não produziram nenhum filhote. Ou seja, estes foram pais sociais mas perderam a paternidade genética nos seus próprios ninhos e não tiveram filhotes em ninhos alheios.

HIPÓTESE 1: O ÍNDICE DE CONDIÇÃO CORPORAL ESTÁ ASSOCIADO À CONDIÇÃO IMUNOLÓGICA?

Imunologia

Foi realizada uma análise de correlação entre os diferentes tipos de células do sistema imune com o índice de condição corporal (ICC) dos machos. Foi encontrada uma correlação positiva entre a quantidade de linfócitos e o ICC ($r = 0,465$; $p = 0,01$) (Figura 9)

e uma correlação negativa entre a quantidade de heterófilos e o ICC ($r = -0,47$; $p = 0,01$) (Figura 10). A quantidade de monócitos não está correlacionada com o ICC ($r = -0,03$; $p = 0,85$). Estes resultados indicam a existência de uma relação entre a condição corporal do macho, ou seja, peso proporcional ao tamanho esquelético do indivíduo, e seu perfil imunológico.

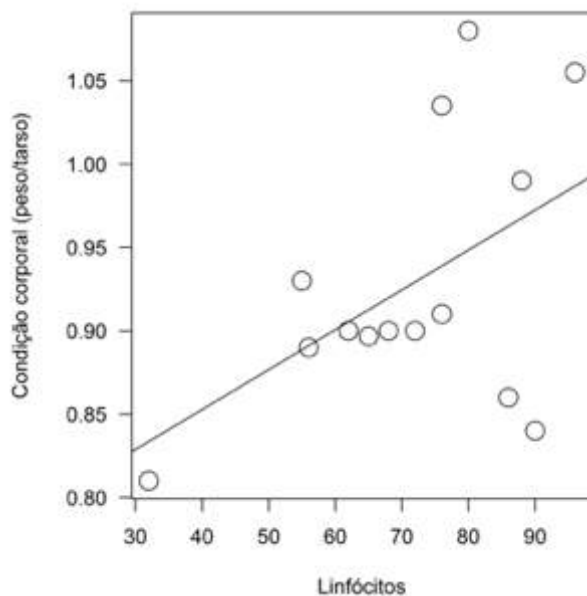


Figura 9 - Correlação entre o índice de condição corporal e a frequência de linfócitos em machos de *Antilopha bokermanni*.

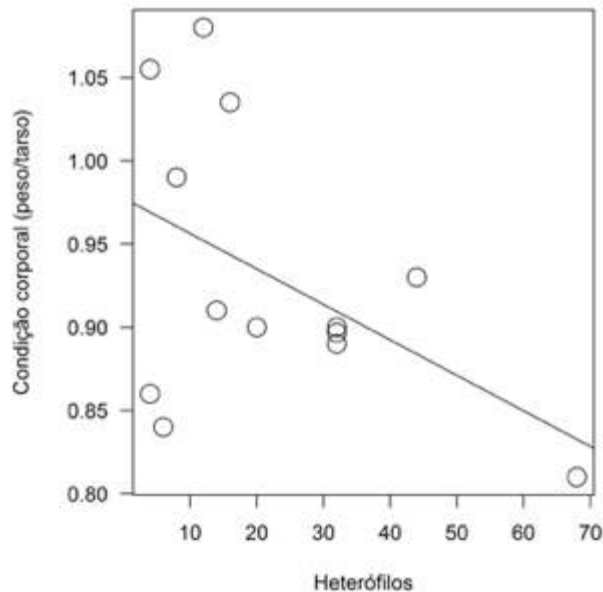


Figura 10 - Correlação entre o índice de condição corporal e a frequência de heterófilos em machos de *Antilophia bokermanni*.

HIPÓTESE 2: A QUALIDADE DO MACHO (ICC E CONDIÇÃO IMUNOLÓGICA) ESTÁ REFLETIDA NOS CARACTERES SEXUAIS SECUNDÁRIOS?

PLUMAGEM

Foi encontrada uma correlação positiva entre a reflectância de UV das penas brancas do dorso dos machos de *A. bokermanni* e o índice de condição corporal ($r = 0,71$; $p < 0,05$), indicando que machos com maiores reservas lipídicas para seus tamanhos refletem mais UV nas penas do dorso (Figura 11). Não foi encontrada correlação entre as outras medidas de coloração da plumagem e o índice de condição corporal dos machos. Nenhuma correlação foi encontrada entre as medidas de coloração das penas de machos adultos de *A. bokermanni* e o tamanho do território (para machos que estabeleceram território). Igualmente, nenhuma correlação foi encontrada entre plumagem e os diferentes tipos de células do sistema imune.

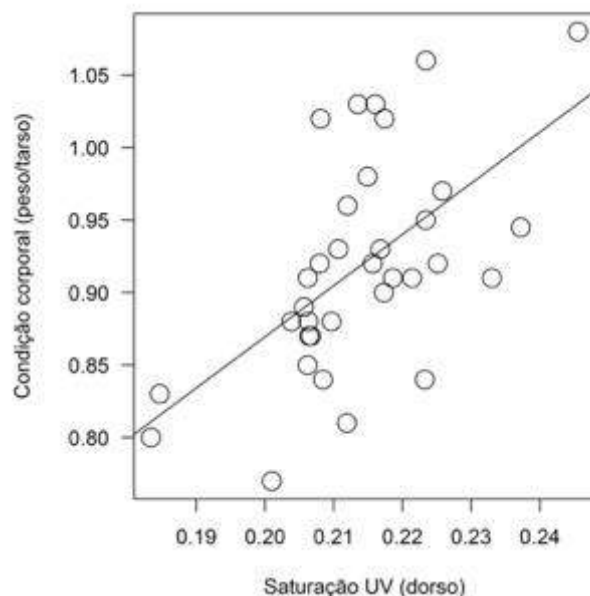


Figura 11 - Correlação entre o índice de condição corporal e a reflectância de ultravioleta (UV) na plumagem branca do dorso dos machos de *Antilophia bokermanni*.

CANTO (COMPLEXIDADE E MEDIDAS ACÚSTICAS)

Nenhuma correlação foi encontrada entre as medidas acústicas e de complexidade do canto de *A. bokermanni* com índices de condição corporal. Curiosamente, foi encontrada uma correlação negativa entre uma característica do canto, o delta time, e o tamanho do território, para machos que estabeleceram território ($r = -0,62$; $p = 0,01$). Ou seja, machos com cantos mais longos possuíam menores territórios. Também foi encontrado que o número de assobios duplos está positivamente correlacionado com a quantidade de heterófilos ($r = 0,9$; $p = 0,04$) e negativamente correlacionado com a quantidade de linfócitos ($r = -0,92$; $p = 0,03$). No entanto, devido ao baixo tamanho amostral ($N=5$) de machos que possuíam dados de canto e quantificação do sistema imune, estes resultados devem ser avaliados com cautela.

TAMANHO DO TERRITÓRIO

O tamanho do território não está correlacionado com o índice de condição corporal dos machos de *A. bokermanni* ($r = -0,1$; $p = 0,58$), nem com nenhum dos tipos de células do sistema imune.

HIPÓTESE 3: MACHOS DE MAIOR QUALIDADE (NA CONDIÇÃO CORPORAL, CARACTERES SEXUAIS SECUNDÁRIOS OU TERRITORIALIDADE) TEM MAIOR SUCESSO REPRODUTIVO?

Índice de Condição Corporal

Para os machos que foram observados defendendo território e que produziram filhotes, foi encontrada uma correlação positiva entre o sucesso reprodutivo e o índice de condição corporal, indicando que machos com melhores condições corporais apresentaram uma maior probabilidade de produzir filhotes ($\chi^2 = 5,38$, $p = 0,02$; $\beta = 1,08 \pm 0,54$) (Figura 12). Ainda para estes machos, o sucesso reprodutivo tendeu a ser positivamente correlacionado com o tamanho do território defendido ($\chi^2 = 3,12$, $p = 0,08$; $\beta = 0,72 \pm 0,44$), ou seja, machos com território maiores tendem a ter uma maior probabilidade de deixar descendentes (Figura 13).

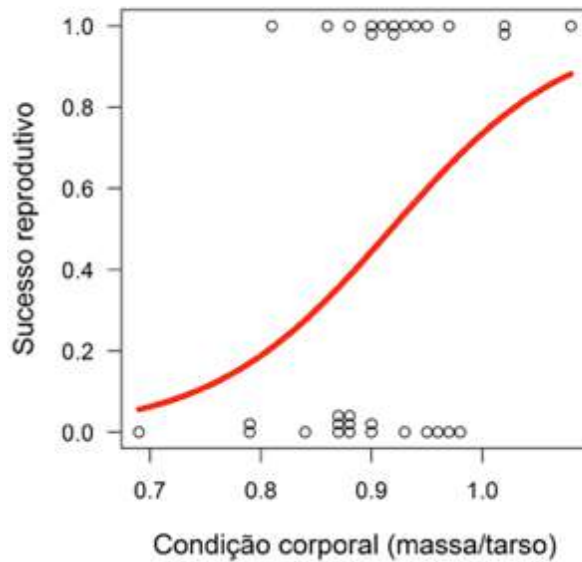


Figura 12 - Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e o índice de condição corporal dos machos de *Antilophia bokermanni* que defenderam território. A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.

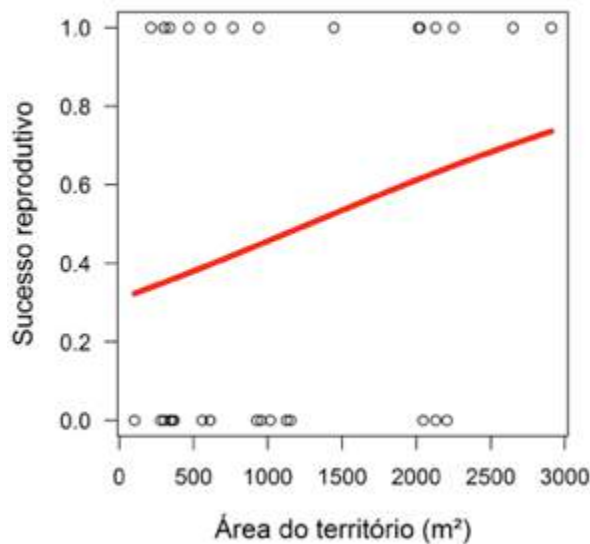


Figura 13 - Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e o tamanho do território defendido por machos de *Antilophia bokermanni*. A reta em vermelho representa o modelo previsto por regressão linear simples.

Quando analisados todos os machos (com e sem territórios) também foi encontrada uma correlação positiva entre o sucesso reprodutivo e o índice de condição corporal ($\chi^2 = 7,03$, $p = 0,008$; $\beta = 0,88 \pm 0,37$) (Figura 14), mais uma vez demonstrando que o índice de condição corporal pode ser uma medida de qualidade dos machos de *A. bokermanni*.

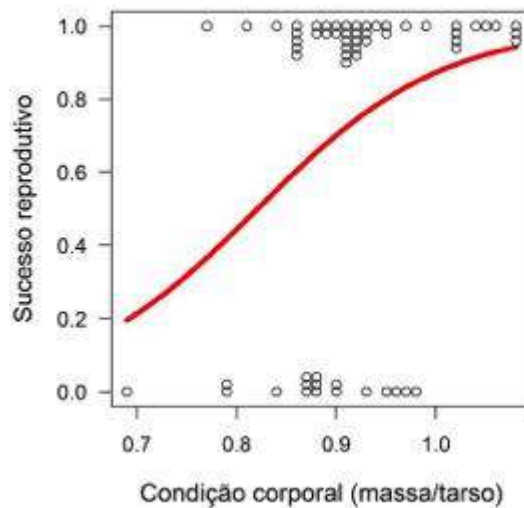


Figura 14 - Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e a condição corporal dos machos (com e sem território) de *Antilophia bokermanni*. A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.

Canto: Complexidade e Acústica

A probabilidade de um macho produzir filhotes também variou com a complexidade do canto (PC1, $p > 0,30$; PC2, $\chi^2 = 5,89$, $p = 0,015$; $\beta = -1,93 \pm 1,05$) (Figura 15). Note que na figura, os escores negativos se relacionam com um maior número de assobios, assobios duplos e cantos dobrados, enquanto os escores positivos se relacionam com número de cantos incompletos (ver tabela 4 nos métodos para scores da PCA). Desta forma, o número de assobios, o número de assobios duplos e o número de cantos dobrados foram

positivamente relacionados com o sucesso reprodutivo, enquanto que o número de cantos incompletos foi negativamente relacionado com o sucesso reprodutivo dos machos (tabela 4). As propriedades acústicas dos cantos completos dos machos não estão relacionadas com a probabilidade de um macho produzir filhotes (PC1, $\chi^2 = 2,24$, $p = 0,13$; PC2, $\chi^2 = 0,78$, $p = 0,38$). No entanto, após a seleção de modelos regressiva passo-a-passo, resultados mostram que a probabilidade de um macho possuir um filhote genético tende a ser positivamente relacionada com o primeiro componente (PC1, $\chi^2 = 3,60$, $p = 0,058$; $\beta = 1,23 \pm 0,83$) (Figura 16). Isso sugere que possivelmente o sucesso reprodutivo é maior em machos com cantos completos mais curtos (ou mais rápidos) e de baixa frequência (considerando a banda de frequência, frequência dominante, mínima e máxima) (tabela 5).

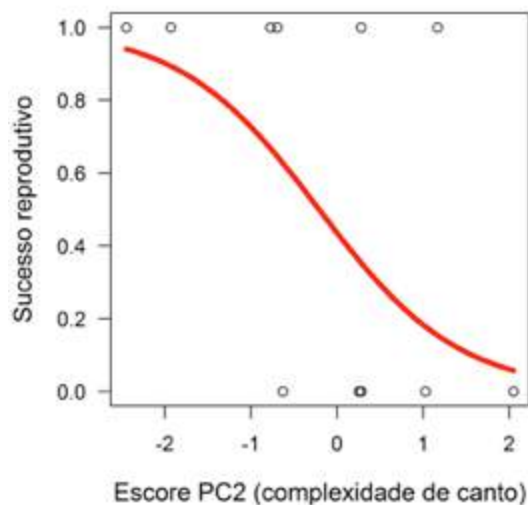


Figura 15 - Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e a complexidade do canto (tamanho do repertório) dos machos de *Antilophia bokermanni*. A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.

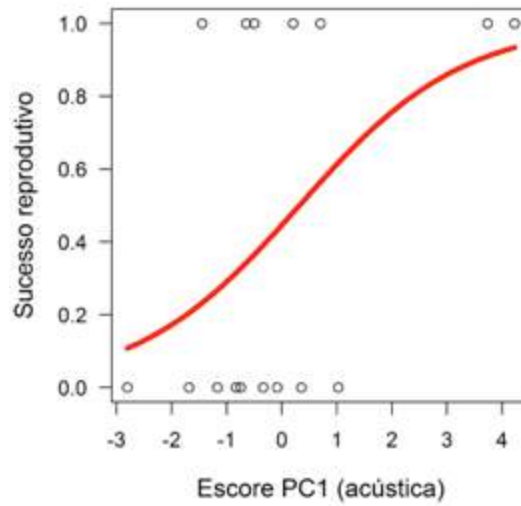


Figura 16 - Correlação entre o sucesso reprodutivo (probabilidade de um macho em produzir prole biológica) e as propriedades acústicas do canto dos machos de *Antilophia bokermanni*. A curva em vermelho representa o modelo previsto por regressão logística simples.

Coloração da Plumagem

O sucesso reprodutivo dos machos não variou com as medidas de coloração da plumagem do dorso: tanto para machos com território (PC1, $\chi^2 = 1,52$, $p = 0,22$; PC2, $\chi^2 = 1,22$, $p = 0,27$) quanto para todos os machos (PC1, $\chi^2 = 1,93$, $p = 0,16$; PC2, $\chi^2 = 2,37$, $p = 0,12$). O sucesso reprodutivo também não variou em relação à coloração do manto dos machos com território (PC1, $\chi^2 = 0,36$, $p = 0,55$; PC2, $\chi^2 = 1,05$, $p = 0,30$) ou quando analisados todos os machos (PC1, $\chi^2 = 0,04$, $p = 0,85$; PC2, $\chi^2 = 0,16$, $p = 0,69$). Quando analisados todos os machos, o sucesso reprodutivo não foi relacionado com a plumagem do ventre (PC1, $\chi^2 = 0,007$, $p = 0,93$; PC2, $\chi^2 = 0,48$, $p = 0,49$) (tabela 6). No entanto, quando analisados apenas os machos que defenderam território, pode-se observar uma tendência dos machos com plumagens do ventre menos brilhantes e menos saturadas no UV obterem

maior sucesso reprodutivo (PC1, $\chi^2 = 0,62$, $p = 0,43$; PC2, $\chi^2 = 3,83$, $p = 0,0502$. $\beta = -1,83 \pm 1,28$) (tabela 7).

Tabela 7. Resultados dos dois primeiros componentes (Comp.1 e Comp.2), das análises de componentes principais (PCA), para as variáveis da plumagem do ventre de machos de *Antilophia bokermanni* que defenderam território.

Variáveis	Comp.1	Comp.2
ventre.B2	0.556	0.466
ventre.Uvchroma	-0.435	0.528
ventre.S6	0.672	0.183
ventre.H2	-0.223	0.686

DISCUSSÃO

Segundo o princípio de *handicap*, apenas machos mais vigorosos e saudáveis seriam capazes de exibir ornamentos mais extravagantes, devido ao custo energético da produção e manutenção desses ornamentos, sendo estes então, indicadores honestos da qualidade dos machos (Zahavi 1975, Hamilton & Zuk 1982, Andersson 1994). Possivelmente, fêmeas teriam maior interesse por machos de maior qualidade, tanto pela possibilidade da herança genética de bons genes para seus filhotes quanto no que se refere ao investimento possível na defesa de recursos e cuidado parental (Lande 1981, Kirkpatrick 1982, Bailey & Moore 2012). Os resultados do presente estudo subsidiam tais possibilidades de forma bastante clara em vários aspectos.

Nossa primeira hipótese foi de que machos com melhores condições corporais, representadas aqui através de um índice que reflete o peso relativo ao tamanho esquelético, teriam um perfil imunológico melhor. Nossos resultados apontam que machos com maiores índices corporais tem uma quantidade maior de linfócitos e uma quantidade menor de heterófilos. Ou seja, existe uma relação entre condição corporal e perfil imunológico de

machos de *A. bokermanni*. Como se sabe, linfócitos são importantes células de defesa presentes em aves e possuem uma alta frequência em condições normais de saúde (20-50%) (Miesle 2011). Já a baixa frequência de linfócitos no sangue de aves está associada a infecções virais (Gross & Siegel 1983, VanCampen et al. 1989, Miesle 2011). Assim, a correlação positiva de abundância de linfócitos com o ICC dos machos de *A. bokermanni* sugere que este índice pode ser utilizado como uma medida indicativa de saúde imunológica dos machos. Além disso, a correlação negativa entre heterófilos e o ICC reforça a confiabilidade desse índice, visto que um dos primeiros sinais de doenças severas em aves é o grande aumento na frequência de heterófilos, podendo inclusive levar indivíduos à morte devido ao aumento da toxicidade no sangue que este tipo de célula ocasiona (Harmon 1998, Miesle 2011). A falta de correlação entre monócitos e ICC pode ser explicada pela baixa frequência dessa célula de defesa no sangue das aves (0-3%). No entanto, uma frequência maior que 10%, como apresentaram alguns indivíduos, pode ser um forte indicativo de doenças crônicas (Miesle 2011), podendo explicar o baixo ICC (valores abaixo da média) para a maioria desses indivíduos.

As predições intrínsecas à nossa segunda hipótese eram de que machos com melhores condições corporais e/ou de saúde imunológica exibiriam caracteres sexuais secundários de plumagem e vocalização mais extravagantes. Também consideramos a possibilidade destes machos terem maiores territórios. Os dados indicam que alguns caracteres sexuais secundários dos machos de *A. bokermanni* estão relacionados com o índice de condição corporal (ICC) e condição imunológica dos mesmos. Encontramos que a saturação de UV na plumagem branca do dorso tem relação positiva com o ICC dos machos, indicando que essa medida corporal pode estar associada positivamente tanto com

alguns ornamentos quanto com a saúde imunológica. Outros estudos com aves também mostram que a condição corporal de machos reflete aspectos de saúde, por exemplo, presença de parasitas, e pode refletir a qualidade de ornamentos tais como tamanho do repertório de canto, displays e plumagem (Nowicki et al. 2000, Doucet & Montgomerie 2003, Macedo et al 2012, Magalhães et al. 2014, Manica et al. 2016). Nossos resultados, portanto, também sustentam a premissa de que a condição corporal, aqui estimada pelo ICC, pode ser utilizada como um indicador da qualidade de alguns ornamentos e saúde dos machos da espécie estudada.

Enfatizamos o achado referente à reflectância de ultravioleta (UV) da plumagem do dorso de *A. bokermanni* estar positivamente correlacionada com o ICC. O ultravioleta é amplamente conhecido por ser um importante espectro de cor para aves, tanto na busca por alimentos (Burkhardt 1982, Probst et al. 2002, Rajchard 2009) quanto no contexto da seleção sexual (Bennett et al. 1996; 1997, Andersson & Amundsen 1997, Andersson et al. 1998, Johnsen et al. 1998, Hunt et al. 1998, 1999, Cuthill et al. 2000, Pearn et al. 2001, Arnold et al. 2002, Doucet et al. 2005). Inúmeros estudos com aves têm demonstrado a relação da reflexão de UV com a qualidade dos indivíduos (Keyser & Hill 1999, Siitari & Huhta 2002, Alonso-Alvarez et al. 2004, Doucet et al. 2005). Além disso, a presença de UV na plumagem pode ser custosa, com consequências negativas na sobrevivência dos indivíduos, uma vez que muitos predadores também podem visualizar tal espectro de luz (Andersson 1999). Assim, nossos resultados sugerem que machos em melhores condições podem produzir e manter plumagem com maiores graus de UV. Ou seja, o UV da plumagem do dorso pode ser um sinal honesto da qualidade de machos de *A. bokermanni*.

Os resultados discutidos acima mostram, portanto, que existe uma relação integrada entre condição corporal, saúde imunológica e produção de caracteres sexuais secundários, dessa forma em grande parte apoiando as propostas teóricas de vários pesquisadores (Hamilton & Zuk 1982, Møller & Pomiankowski 1993, Andersson 1994). No entanto, a teoria da seleção sexual e *runway*, predizem que para que tais caracteres sexuais se fixem na população, estes devem ser favorecidos pelas fêmeas no acasalamento, ou seja, machos com diferentes variações nos seus ornamentos, tamanho ou comportamento devem apresentar diferenças no sucesso reprodutivo (Fisher 1915, 1930, Donald 1973, Lande 1981, Kirkpatrick 1982). Nossa terceira hipótese reflete exatamente tais premissas, e prevê que machos em melhores condições corporais ou com caracteres sexuais secundários mais extravagantes, ou ainda que defendem maiores territórios, efetivamente teriam maior sucesso reprodutivo. Nossos dados subsidiam essa hipótese, pois encontramos que para *A. bokermanni* o maior sucesso reprodutivo dos machos pode ser predito pelo seu índice de condição corporal, tamanho de território e alguns elementos do canto, particularmente sua complexidade. E ainda, que tal sucesso reprodutivo está negativamente relacionado com a produção de cantos incompletos.

Existe uma relação entre complexidade do canto de algumas espécies de aves e a capacidade de aprendizado dos indivíduos, portanto de alta qualidade (McGregor et al. 1981, Baker et al. 1986, Boogert et al. 2008). Tal relação talvez seja um fator importante no processo seletivo de fêmeas de *A. bokermanni*, que favoreceriam machos com cantos mais complexos (maior número de assobios, maior número de assobios duplos e cantos dobrados). Para algumas espécies cantos mais complexos são mais atrativos para fêmeas do que a qualidade do território dos machos, devido possivelmente à sua relação com a

capacidade de aprendizado dos machos (Potvin et al. 2015). Adicionalmente, a complexidade do canto pode ser reduzida com a presença de parasitas, como demonstrado para canários (Spencer et al. 2005).

Outro indicativo da importância da complexidade e qualidade do repertório acústico para o sucesso dos machos de *A. bokermanni* é a relação negativa entre o sucesso reprodutivo dos machos e o número de cantos incompletos, que poderia resultar de uma aprendizagem deficiente. Para algumas espécies de aves existem evidências de que a aprendizagem deficiente do canto pode resultar de uma baixa diversidade genética produzida por endogamia, por exemplo. Tais machos não seriam atrativos para fêmeas, que usariam cantos deficientes como indicativos de genótipos de baixa qualidade (Brown 1997, Boer et al. 2016). Por se tratar de uma população pequena, isolada e com baixa diversidade genética (Rêgo et al. 2010, IUCN 2015), a perda de heterozigossidade ocorre mais rapidamente (Ellstrand & Elam 1993). Assim, evitar endocruzamento pode ser crucial para a produção de uma prole saudável e tem como consequência a manutenção da diversidade genética da espécie.

Além da complexidade, cantos completos com frequência acústica mais baixa e de menor duração, também se relacionaram com um maior sucesso reprodutivo. Cantos com baixa frequência podem transpor mais obstáculos em ambientes de mata densa ou de relevo montanhoso e alcançar maiores distâncias (Wiley & Richards 1982, Wiley 1991, Slabbekoorn & Smith 2002). A população de *A. bokermanni* estudada ocorre justamente em tal contexto ambiental de mata fechada e paisagem acidentada. Podemos supor, portanto, que machos com cantos com frequências mais baixas podem atrair um maior número de fêmeas, uma vez que estes podem ser escutados a maiores distâncias. Como

consequência, machos com cantos de menor frequência possuem maior chance de acasalamento (por atrair mais fêmeas), resultando em um maior sucesso reprodutivo.

Ainda, o tamanho do território também refletiu um maior sucesso reprodutivo dos machos de *A. bokermanni*. Para muitas espécies de aves o tamanho do território defendido por machos está ligado à qualidade tanto do território quanto do macho que o defende, uma vez que para defender uma grande área um maior gasto de energia é demandado (Andersson 1994, Candolin & Voigt 2001). Em alguns casos, o tamanho do território pode indicar a qualidade genética do macho residente, como no caso de *Monias benchi*, para a qual demonstrou-se uma relação positiva entre tamanho do território e heterozigidade genética (Seddon et al. 2004). Assim, machos com maiores territórios podem ser melhores parceiros reprodutivos, conseqüentemente terem maior sucesso reprodutivo (Brooker & Rowley 1995). No caso de *A. bokermanni*, a relação entre tamanho territorial e sucesso reprodutivo pode também estar associada a uma outra variável, que seria o isolamento do território. Na população de estudo, territórios maiores foram os mais isolados (ver figura de distribuição dos territórios no capítulo 1), ou seja, seus donos não disputavam bordas, como no caso de territórios menores. Assim, o isolamento dessas áreas pode resultar em um maior sucesso dos machos simplesmente pela falta de competição intrasexual, devido a ausência de outros machos nos arredores do território. Porém, vale ressaltar que devido ao tamanho das áreas amostradas, fêmeas tem a possibilidade de visitar todos os territórios em uma determinada área, durante uma mesma estação, sendo tal capacidade confirmada pelos dados de recaptura e observações.

CONCLUSÕES

Antilophia bokermanni é atualmente descrita como uma espécie de Pipridae que não executa displays ou se acasala em leks, além de ser descrita como monogâmica, diferente das demais espécies da família Pipridae. No entanto, nossos dados indicam que *A. bokermanni* está sujeita a uma forte pressão de seleção sexual. Os dados de paternidade indicam grande variabilidade na produção de filhotes, com alguns machos sendo excluídos do cenário reprodutivo. Além disso, ficou evidenciado o fato de diferentes elementos acústicos predizerem o sucesso reprodutivo dos machos. Apesar de não terem sido encontradas relações diretas entre características da plumagem e o sucesso reprodutivo dos machos, a relação entre o ICC e a reflectância de UV da plumagem e produção de células de defesa, sugerem fortemente que a plumagem pode desempenhar um papel importante na escolha das fêmeas, explicando o acentuado dimorfismo sexual da espécie.

Por se tratar de uma espécie criticamente ameaçada e inserida em um ambiente com pouca proteção onde em muitos fragmentos existe a constante presença de poluição sonora, a importância do canto para o sucesso reprodutivo dos machos, aqui demonstrada, reforça a urgência de ações de manejo, uma vez que cantos com baixa frequência tendem a perder sua potência na presença de poluição sonora (Halfwerk et al. 2011). Os resultados obtidos neste estudo, corroboram com importantes teorias que tentam explicar a evolução de caracteres sexuais secundários em machos, sendo uma importante adição à literatura, uma vez que apesar de bastante discutido, poucos estudos demonstraram tais corroborações quando estudados em condições naturais.

REFERÊNCIAS

- Alonso-Alvarez C, Doutrelant C, Sorci G. 2004. Ultraviolet reflectance affects male–male interactions in the blue tit (*Parus caeruleus ultramarinus*). *Behav. Ecol.* 15: 805–809
- Anciães M, Prum RO. 2008. Manakin display and visiting behaviour: A comparative test of sensory drive. *Anim Behav.* 75: 783–790.
- Andersson S, Amundsen T. 1997. Ultraviolet colour vision and ornamentation in bluethroats. *Proc. R. Soc. London Ser. B: Biol Sci.* 264: 1587–1591.
- Andersson S, Ornborg J, Andersson, M. 1998. Ultraviolet sexual dimorphism and assortative mating in blue tits. *Proc. R. Soc. London Ser. B: Biol Sci.* 265: 445–450.
- Andersson, S. 1999. Morphology of UV reflectance in a Whistling-Thrush: Implications for the study of structural colour signalling in birds. *J of Avian Biol.* 30: 193–204.
- Andersson, M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press. 599 p.
- Andersson S., Amundsen T. 1997. Ultraviolet colour vision and ornamentation in bluethroats. - *Proc. R. Soc. Lond. B.* 264: 1587-1591.
- Arnold KE, Owens IPF, Marshall NJ. 2002. Fluorescent signaling in parrots. *Science* 295: 92–92.
- Bailey NW, Moore AJ. 2012. Runaway sexual selection without genetic correlations: social environments and flexible mate choice initiate and enhance the Fisher process. *Evolution.* 66: 2674–2684.

- Baker MC, Bjerke TK, Lampe H, Espmark Y. 1986. Sexual response of female great tits to variation in size of males' song repertoires. *Am Nat.* 128: 491–498.
- Bennett, ATD., Cuthill, IC., Partridge, JC. & Lanan, K. 1997 Ultra-violet colours predict mate preferences in starlings. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA* 94: 8618-8621.
- Bennett, ATD., Cuthill, IC., Partridge, JC. and Maier, EJ. 1996. Ultraviolet vision and mate choice in Zebra Finches. *Nature* 380: 433-435.
- Bioacoustics Research Program. 2011. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven>.
- Boer RA de, Eens M, Müller W. 2016. 'Out of tune': Consequences of inbreeding on bird song. *Proc. R. Soc. B.* 283: 1142.
- Boogert NJ, Giraldeau L-A, Lefebvre L. 2008. Song complexity correlates with learning ability in Zebra Finch males. *An Behav.* 76: 1735–1741.
- Borgia G, Collis K. 1989. Female choice for parasite-free male Satin Bowerbirds and the evolution of bright male plumage. *Behav Ecol Sociobiol.* 25: 445–453.
- Brooker M, Rowley I. 1995. The significance of territory size and quality in the mating strategy of the Splendid Fairy-Wren. *J of An Ecol.* 64: 614–627.
- Brown JL. 1997. A theory of mate choice based on heterozygosity. *Behav Ecol.* 8: 60–65.
- Burkhardt D. Birds, berries and UV. *Naturwissenschaften.* 69: 153–157.

- Candolin U., Voigt, HR. 2001 Correlation between male size and territory quality: Consequence of male competition or predation susceptibility? *Oikos*. 95: 225–230.
- Carvalho CB V, Macedo RH, Graves JA. 2007. Breeding Strategies of a Socially Monogamous Neotropical Passerine: Extra-Pair fertilizations, behavior, and morphology. *Condor*. 108: 579–590.
- Chandler CH, Ofria C, Dworkin I. 2013. Runaway Sexual Selection Leads to Good Genes. *Evolution*. 67: 110–119.
- Clayton, DH. 1991. The influence of parasites on host sexual selection. *Paras Today*. 7: 329–334.
- Coelho G, Silva WAG. 1998. A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia - Brazilian Journal of Ornithology* 6: 81-84.
- Costa, FJV, Macedo RH. 2005. Coccidian oocyst parasitism in the Blue-Black Grassquit: influence on secondary sex ornaments and body condition. *Anim Behav*. 70: 1401-1409.
- Cuthill IC, Partridge JC, Bennett ATD, Church SC, Hart NS, Hunt S. 2000. Ultraviolet Vision in Birds. In: Peter J.B. Slater JSR Charles T Snowdon and Timothy J Roper, editor. *Adv in the Study of Beh*. 29: 159–214.
- Darwin, C. 1871. Principle of Sexual Selection. In: *Descent of man and Selection in Relation to sex*. 58 p.

- Donald, PO. 1973. Frequency-dependent Sexual Selection as a Result of variations in fitness at breeding time. *Heredity (Edinb)*. 30: 351–368.
- Doucet SM, Mennill DJ, Montgomerie R, Boag PT, Ratcliffe LM. 2005. Achromatic plumage reflectance predicts reproductive success in male Black-capped chickadees. *Behav Ecol*. 16: 218–222.
- Doucet SM, Montgomerie R. 2003. Multiple sexual ornaments in satin bowerbirds: ultraviolet plumage and bowers signal different aspects of male quality. *Behav Ecol*. 14: 503–509.
- Drury JP. 2010. Immunity and mate choice: A new outlook. *Anim Behav*. 79: 539–545.
- Duval EH, Carter KL, Kempnaers B. 2007. Isolation and characterization of novel microsatellite loci for parentage assessment in the lance-tailed manakin (*Chiroxiphia lanceolata*). *Mol Ecol Notes*. 7: 1111–1113.
- Ellstrand NC, Elam DR. 1993. Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. *Ann Rev of Ecol and Syst*. 24: 217-242.
- Endler J, Lyles A. 1989. Bright ideas about parasites. *Trends Ecol Evol*. 4: 246-248.
- Fisher RA. 1915. The evolution of sexual preference. *Eugen Rev*. 7: 184–92.
- Fisher RA. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford: Clarendon Press. 265 pp.
- Folstad I, Karter A. 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence Handicap. *Am Nat*. 139: 603–622.

- Francisco MR, Galetti PM, Gibbs HL. 2004. Isolation and characterization of microsatellite loci in the blue manakin, *Chiroxiphia caudata* (Aves, Pipridae). *Mol Ecol Notes*. 4: 758–760.
- Frazer SR, Masly JP. 2015. Multiple sexual selection pressures drive the rapid evolution of complex morphology in a male secondary genital structure. *Ecol. Evol.* 5: 4437–4450.
- Garamszegi, LZ. 2004. Extrapair paternity and the evolution of bird song. *Behav Ecol*. 15: 508–519.
- Gil D, Slater PJB, Graves JA. 2007. Extra-pair paternity and song characteristics in the Willow Warbler *Phylloscopus trochilus*. *J Avian Biol*. 38: 291–297.
- Girão W, Souto A. 2005. Breeding period of Araripe Manakin *Antilophia bokermanni* inferred from vocalization activity. *Cotinga* 24: 35–37.
- Gordon SP, Reznick D, Arendt JD, Roughton A, Hernandez MNO, Bentzen P, López-Sepulcre A. 2015. Selection analysis on the rapid evolution of a secondary sexual trait. *Proc. R. Soc. B*. 282: 1244.
- Grafen, A. 1990. Sexual selection unhandicapped by the Fisher process. *J Theor Biol*. 144: 473–516.
- Gross WB, Siegel HS. 1983. Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens. *Av Dis.* 27: 972-979.

- Halfwerk, W., Bot S., Buikx J., Van der Velde M., Komdeur J., Ten Cate C., et al. 2011. Low-frequency songs lose their potency in noisy urban conditions. *Proc of the Nat Acad of Scien of the United States of America*. 108: 14549-14554.
- Hamilton W, Poulin R. 1997. The Hamilton and Zuk hypothesis revisited: A meta-analytical approach. *Behaviour*. 134: 299–320.
- Hamilton WD, Zuk M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218: 384-387.
- Harmon, BG. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Science* 77: 972–977.
- Hodges-Simeon CR, Gurven M, Puts DA, Gaulin SJC. 2014. Vocal fundamental and formant frequencies are honest signals of threat potential in peripubertal males. *Behav Ecol*. 25: 984-988.
- Hunt S, Cuthill IC, Bennett ATD, Griffiths R. 1999. Preferences for ultraviolet partners in the blue tit. *Anim Behav*. 58: 809–815.
- Hunt, S., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C. & Griffiths, R. 1998. Blue tits are ultraviolet tits. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 451–455.
- IUCN 2015. The Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <http://www.iucnredlist.org/>.
- Johnsen A, Andersson S, Örnborg J, Lifjeld JT. 1998. Ultraviolet plumage ornamentation affects social mate choice and sperm competition in bluethroats (*Aves: Luscinia s.*

- svecica*): a field experiment. Proc of the Royal Soc of London B: Biol Sci. 265: 1313–1318.
- Kaiser, H.F. 1960. The application of electronic computers to factor analysis. *Educ and Psychol Measur.* 20: 141-151.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* **16**: 1099-1106. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294x.2007.03089.x>
- Kearse, M., Moir R., Wilson A., Stones-Havas S., Cheung M., Sturrock S., Buxton S., Cooper A., Markowitz S., Duran C., Thierer T., Ashton B., Mentjies P., & Drummond A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28: 1647-1649.
- Keyser AJ, Hill GE. 1999. Condition–dependent variation in the blue–ultraviolet coloration of a structurally based plumage ornament. Proc of the Royal Soc of London B: Biol Sci. 266: 771–777.
- Kirkpatrick M. 1982. Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution* (NY). 36: 1–12.
- Kirkpatrick M. 1986. The Handicap mechanism of sexual selection does not work. *Am Nat.* 127: 222–240.

- Lande R. 1981. Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. PNAS 78: 3721–3725.
- Macedo RH, Manica L, Dias RI. 2012. Conspicuous sexual signals in a socially monogamous passerine: the case of neotropical Blue-black Grassquits. J of Ornithol. 153: 15–22.
- Magalhães RB, Diniz P, Macedo RH. 2014. Plumage Coverage is Related to Body Condition and Ectoparasitism in Blue-black Grassquits. The Wilson J of Ornithol. 126: 581–584.
- Magalhães RB, Diniz P, Macedo RH. 2014. Plumage Coverage is Related to Body Condition and Ectoparasitism in Blue-black Grassquits. The Wilson Journal of Ornithology 126:581–584.
- Manica LT, Graves JA, Podos J, Macedo RH. 2016. Multimodal flight display of a neotropical songbird predicts social pairing but not extrapair mating success. Behav Ecol and Sociob. 1-14.
- Marini MÂ, Cavalcanti RB. 1992. Mating System of the Helmeted Manakin (*Antilophia galeata*) in Central Brazil. The Auk 109: 911–913.
- Marzal A, Reviriego M, Hermosell IG, Balbontín J, Bensch S, Relinque C, Rodríguez L, Garcia-Longoria L, de Lope F. 2013. Malaria infection and feather growth rate predict reproductive success in House Martins. Oecologia. 171: 853–61.
- McGregor, P. K., J. R. Krebs, and C. M. Perrins. 1981. Song repertoires and lifetime reproductive success in the great tit (*Parus major*). Am. Nat. 118: 149-159.

- Miesle J. 2011. Demystifying the Avian CBC: The Complete Blood Count.
<https://www.beautyofbirds.com/aviancbc.html>
- Møller, AP. 1990. Parasites and sexual selection: Current status of the Hamilton and Zuk Hypothesis. *J Evol Biol.* 3: 319–328.
- Molnár O, Bajer K, Mészáros B, Török J, Herczeg G. 2013. Negative correlation between nuptial throat colour and blood parasite load in male European green lizards supports the Hamilton-Zuk hypothesis. *Naturwissenschaften.* 100: 551–558.
- Moore FR, Cīrule D, Kivleniece I, Vrublevska J, Rantala MJ, Sild E, Sepp T, Hõrak P, Krama T, Krams I. 2015. Investment in a sexual signal results in reduced survival under extreme conditions in the male great tit (*Parus major*). *Behav Ecol Sociobiol* 69: 151–158.
- Nowicki S, Searcy W, Peters S. 2002. Brain development, song learning and mate choice in birds: a review and experimental test of the ‘nutritional stress hypothesis’. *J Comp Physiol A* 188: 1003–1014.
- Pearn SM., Bennett, ATD., Cuthill, IC. 2001 Ultraviolet vision, fluorescence and mate choice in a parrot, the budgerigar *Melopsittacus undulates*. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268: 2273–2279.
- Peig J., Green AJ. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos.* 118:1883–1891.
- Piertney SB, Shorey L, Höglund J. 2002. Characterization of microsatellite DNA markers in the white-bearded manakin (*Manacus manacus*). *Mol Ecol Notes* 2: 504–505.

- Pölkki M, Kortet R, Hedrick A, Rantala MJ. 2012. Dominance is not always an honest signal of male quality, but females may be able to detect the dishonesty. *Biol Lett.* 9: 1–5.
- Pomiankowski A. 1987. Sexual Selection: The Handicap Principle Does Work -- Sometimes. *Proc R Soc B Biol Sci.* 231: 123-145.
- Potvin DA, Crawford PW, MacDougall-Shackleton SA, MacDougall-Shackleton EA. 2015. Song repertoire size, not territory location, predicts reproductive success and territory tenure in a migratory songbird. *Can. J. Zool.* 93: 627–633.
- Poulin R, Vickery WL. 1996. Parasite-mediated sexual selection: Just how choosy are parasitized females? *Behav Ecol Sociobiol.* 38: 43–49.
- Probst R, Pavlicev M, Viitala J. 2002. UV reflecting vole scent marks attract a passerine, the great grey shrike *Lanius excubitor*. *J of Av Biol.* 33: 437–440.
- Pröhl H, Eulenburg J, Meuche I, Bolaños F. 2013. Parasite infection has little effect on sexual signals and reproductive behaviour in Strawberry Poison Frogs. *Evol Ecol.* 27: 675–692.
- Prum, RO. 1994. Phylogenetic analysis of the evolution of alternative social behavior in the manakins (Aves: Pipridae). *Evolution* 48: 1657.
- Prum, RO. 1998. Sexual selection and the evolution of mechanical sound production in manakins (Aves: Pipridae). *Animal Behaviour* 55:977–994.

- R Development CoreTeam. 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 .
- Rajchard J, others. 2009. Ultraviolet (UV) light perception by birds: a review. *Vet Med.* 54: 351–359.
- Rêgo PS, Araripe J, Silva WAG, Albano C, Thieres P, Campos A, Vallinoto M, Sampaio I, Schneider H. 2010. Population Genetic Studies of Mitochondrial Pseudo-Control Region in the Endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *Auk.* 127: 335–342.
- Seddon N, Amos W, Mulder RA, Tobias JA. 2004. Male heterozygosity predicts territory size, song structure and reproductive success in a cooperatively breeding bird. *Proc R Soc B Biol Sci.* 271: 1823–1829.
- Shutler D, Weatherhead PJ. 1990. Targets of Sexual Selection: Song and Plumage of Wood Warblers. *Soc Study Evol.* 44: 1967–1977.
- Siitari H, Huhta E. 2002. Individual color variation and male quality in pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*): A role of ultraviolet reflectance. *Behav Ecol.* 13: 737–741.
- Slabbekoorn H, Smith TB. 2002. Bird song, ecology and speciation. *Philos Trans of the R Soc B: Bioll Sci.* 357: 493–503.
- Smith, JM. 1976. Sexual Selection and Handicap Principle. *J Theor Biol.* 57: 239–242.
- Smith, JM. 1985. Sexual selection, Handicaps and True fitness. *J Theor Biol.* 115: 1–8.

- Smith TB, Harrigan RJ, Kirschel ANG, Buermann W, Saatchi S, Blumstein DT, de Kort SR, Slabbekoorn H. 2013. Predicting bird song from space. *Evol Appl.* 6: 865–874.
- Souza TO, Luna LW, Melo MAD, Araripe J, Rêgo PS. In prep. Development and characterization of microsatellite markers for the threatened species *Antilophia bokermanni* (Pipridae) and their transferability to *Antilophia galeata* species.
- Spencer KA, Buchanan KL, Leitner S, Goldsmith AR, Catchpole CK. 2005. Parasites affect song complexity and neural development in a songbird. . *Proc R Soc B Biol Sci.* 272: 2037–2043.
- Van Campen H, Easterday BC, Hinshaw VS. 1989. Destruction of lymphocytes by a virulent avian influenza A virus. *Jl of Gen Virol.* 70: 467–472.
- Vas Z, Lefebvre L, Johnson KP, Reiczigel J, Rózsa L. 2011. Clever birds are lousy: co-variation between avian innovation and the taxonomic richness of their Amblyceran lice. *Int J Parasitol.* 41: 1295–300.
- Von Schantz T, Wittzell H, Göransson G, Grahn M, Persson K. 1996. MHC genotype and male ornamentation: genetic evidence for the Hamilton-Zuk model. . *Proc R Soc B Biol Sci.* 263: 265–71.
- Wallace, A. 1895. *Natural selection and tropical nature.* Macmillan
- Weatherhead PJ, Bennett GF, Hutler D. 1991. Sexual Selection and Parasites in Wood-Warblers. *Auk.* 108: 147–152.
- Wiley, RH. 1991. Associations of song properties with habitats for territorial Oscine birds of eastern north america. *The Americ Nat.* 138: 973–993.

Wiley, R. H., and D. G. Richards. 1982. Adaptations for acoustic communication in birds: sound transmission and signal detection. 131-181pp. In: D. E. Kroodsma and E. H. Miller, eds. Acoustic communication in birds. Vol. 1. Academic Press, New York.

Yang C, Wang J, Fang Y, Sun Y-H. 2013. Is Sexual Ornamentation an Honest Signal of Male Quality in the Chinese Grouse (*Tetrastes sewerzowi*)? Plos one 8: 82972.

Zahavi, A. 1975. Mate selection-a selection for a Handicap. J Theor Biol. 53: 205-14.

ANEXO 1- Frequência (em %) de células do sistema imune nos esfregaços sanguíneos de machos de *Antilopha bokermanni*.

ID macho	Heterófilo	Linfócitos	Monócitos
E127477	4	92	4
E150489	6	82	12
E127439	14	76	10
E123439	12	86	2
E150111	8	88	4
E150481	45	55	0
E150123	16	82	2
E150500	12	80	8
E127427	4	96	0
E127453	4	94	2
E150470	20	72	8
E127446	52	40	8
E127485	12	80	8
E150473	24	72	4
E150481	32	56	12
E150497	6	90	4
E127441	52	44	4
E127431	24	72	4
E150141	8	92	0
E150494	24	76	0
E127431	20	80	0
E127485	12	88	0
E150191	32	64	4
E127434	16	68	16
E150489	20	76	4
E150491	36	64	0
E150487	28	48	24
E150159	68	32	0
E127444	32	68	0
E150159	52	44	4
E127446	44	55	1
E127494	32	65	3
E127453	28	67	5
E150487	47	48	5
E150483	36	56	8
E127462	28	60	12

ANEXO 2- Valores médios (a partir das 3 medidas de conjuntos de penas), para cada macho de *Antilophia bokermanni* por parte do corpo de onde a pena foi coletada e as variáveis: brilho (B2), croma (S1.UV para penas brancas e S1.Red para as vermelhas), contraste (S6) e matiz (H2).

Macho ID	Parte do corpo	B2	S1.UV	S1.violet	S1.red	S6	H2
E127427	dorso	39,1947	0,2456	0,2842	0,2386	16,5593	352
E127427	manto	5,3711	0,0424	0,0565	0,7622	24,0136	353
E127427	ventre	47,5730	0,2281	0,2670	0,2444	26,7610	477
E127427	topete	7,6833	0,0910	0,1076	0,6820	27,3419	319
E127430	dorso	57,7670	0,2173	0,2561	0,2492	36,7321	668
E127430	manto	5,8076	0,0782	0,0967	0,6549	20,4506	323
E127430	ventre	40,7432	0,2336	0,2722	0,2425	20,4972	549
E127430	topete	3,1868	0,0059	0,0122	0,8470	16,5468	548
E127431	dorso	23,9847	0,2372	0,2763	0,2389	12,1001	611
E127431	manto	4,5097	0,0624	0,0817	0,6553	16,7332	343
E127431	topete	3,6525	0,0242	0,0372	0,7685	16,4291	498
E127432	dorso	45,8342	0,2120	0,2509	0,2511	33,5455	665
E127432	manto	12,3630	0,1511	0,1738	0,5392	28,3684	316
E127432	ventre	44,6961	0,2152	0,2540	0,2497	31,6444	490
E127432	topete	7,0970	0,1321	0,1564	0,5287	17,1278	316
E127434	dorso	55,3210	0,2135	0,2519	0,2525	37,6301	658
E127434	manto	5,2199	0,0589	0,0755	0,6945	19,9124	315
E127434	ventre	51,7262	0,2337	0,2718	0,2453	27,1733	667
E127439	dorso	41,1962	0,2186	0,2576	0,2487	27,4682	477
E127439	manto	6,3426	0,0351	0,0469	0,7945	29,6138	348
E127439	ventre	44,6482	0,2327	0,2713	0,2448	23,7138	477
E127444	manto	3,3317	0,0530	0,0766	0,6087	11,8947	498
E127446	dorso	35,7923	0,2330	0,2713	0,2453	19,2212	693
E127446	manto	3,5718	0,1190	0,1190	0,8804	19,4284	328
E127446	ventre	59,8409	0,2285	0,2663	0,2499	33,1692	477
E127447	dorso	42,0859	0,2063	0,2452	0,2524	30,8085	687
E127447	ventre	57,6530	0,2194	0,2581	0,2492	37,0900	666
E127447	topete	3,7088	0,0265	0,0383	0,8002	17,0642	494
E127450	dorso	40,2748	0,2161	0,2554	0,2464	28,2506	665
E127450	manto	7,8979	0,1054	0,1261	0,6075	23,9254	317
E127450	topete	3,6461	0,0613	0,0830	0,6285	12,6878	498
E127457	topete	3,3558	0,0209	0,0362	0,7168	13,8949	498

Macho ID	Parte do corpo	B2	S1.UV	S1.violet	S1.red	S6	H2
E127459	dorso	35,9372	0,2258	0,2638	0,2492	18,6597	666
E127459	manto	6,7395	0,0567	0,0720	0,7175	27,7904	315
E127459	topete	3,6130	0,0444	0,0624	0,6649	13,1734	498
E127460	dorso	23,0022	0,2097	0,2486	0,2506	16,6872	665
E127460	manto	5,8851	0,1094	0,1360	0,4890	14,0104	318
E127460	ventre	31,2512	0,2280	0,2672	0,2434	18,0901	689
E127460	topete	9,1655	0,0777	0,0931	0,6865	31,8535	315
E127464	dorso	51,4721	0,1847	0,2218	0,2697	44,0532	617
E127464	manto	6,1107	0,0260	0,0388	0,7635	25,9900	548
E127464	topete	3,1939	0,0064	0,0154	0,7899	14,4374	548
E127466	manto	5,3303	0,0560	0,0749	0,6437	18,3136	548
E127467	dorso	30,2901	0,2107	0,2500	0,2487	22,6924	548
E127467	topete	5,1091	0,0372	0,0505	0,7377	20,1558	466
E127471	dorso	52,5995	0,2080	0,2469	0,2535	39,0145	477
E127471	manto	9,3814	0,1201	0,1433	0,5501	24,2919	316
E127471	ventre	40,3876	0,2267	0,2658	0,2449	25,1045	689
E127471	topete	2,6937	0,0044	0,0102	0,8355	13,3792	548
E127475	dorso	32,9117	0,2010	0,2389	0,2594	24,8433	548
E127475	manto	5,5676	0,0363	0,0494	0,7541	23,0937	368
E127475	topete	6,5915	0,1136	0,1372	0,5231	15,7698	317
E127480	dorso	38,1772	0,2081	0,2460	0,2557	26,2809	665
E127480	manto	5,9145	0,0529	0,0700	0,6922	22,7315	303
E127480	ventre	21,3834	0,2067	0,2467	0,2465	16,9730	639
E127480	topete	5,5868	0,0575	0,0732	0,7000	19,7917	312
E127485	manto	9,9032	0,1478	0,1724	0,5173	23,3430	318
E127485	ventre	28,6262	0,1890	0,2245	0,2639	23,8370	400
E127486	manto	9,2805	0,1069	0,1273	0,6069	28,4472	316
E127486	ventre	50,7398	0,2065	0,2449	0,2553	36,3524	476
E127488	dorso	23,7547	0,2157	0,2552	0,2469	15,9993	663
E127488	manto	7,9616	0,0828	0,1011	0,6577	28,0460	316
E127488	ventre	42,3771	0,2175	0,2558	0,2516	27,9176	610
E127488	topete	3,0636	0,0774	0,1055	0,5269	9,0705	498
E127491	dorso	43,4822	0,2174	0,2554	0,2527	27,2202	666
E127491	manto	6,9523	0,0328	0,0447	0,7843	31,7897	368
E127491	topete	2,2457	0,0110	0,0206	0,7874	10,5125	498
E127493	dorso	35,2014	0,2084	0,2473	0,2520	24,6366	657
E127493	manto	7,4853	0,1029	0,1168	0,6942	25,6906	315
E127493	topete	8,6098	0,1810	0,2000	0,5646	22,5508	337
E127494	dorso	45,1875	0,2038	0,2431	0,2548	31,8007	446

Macho ID	Parte do corpo	B2	S1.UV	S1.violet	S1.red	S6	H2
E127494	manto	5,8033	0,0467	0,0612	0,7366	23,9008	467
E127494	ventre	29,6408	0,2404	0,2792	0,2406	12,1775	665
E127494	topete	3,4613	0,0513	0,0737	0,6139	11,8440	498
E127496	manto	5,5222	0,0307	0,0443	0,7492	24,2802	497
E127496	ventre	45,1249	0,2123	0,2512	0,2493	31,0989	665
E127496	topete	4,8089	0,0476	0,0639	0,7021	17,8983	548
E127498	dorso	41,2617	0,2063	0,2449	0,2535	30,2747	686
E127498	manto	8,5532	0,1006	0,1205	0,6185	27,0801	317
E127498	ventre	45,0661	0,2234	0,2622	0,2461	29,5072	549
E127498	topete	4,6512	0,0654	0,0841	0,6563	15,8073	498
E127499	manto	7,7499	0,0686	0,0863	0,6643	27,6514	318
E127499	ventre	25,5297	0,2083	0,2478	0,2474	18,3141	548
E127500	ventre	34,1449	0,2288	0,2677	0,2426	20,1280	693
E150101	topete	2,4134	0,0258	0,0431	0,6682	9,1018	498
E150106	dorso	30,6487	0,2251	0,2641	0,2444	17,3779	665
E150106	manto	10,3456	0,1466	0,1671	0,5782	26,1657	317
E150106	topete	3,6464	0,1083	0,1257	0,6580	12,3245	317
E150109	topete	6,7769	0,0857	0,1059	0,5880	19,5977	318
E150114	dorso	41,3634	0,2057	0,2446	0,2522	30,8985	644
E150114	manto	9,3816	0,0692	0,0871	0,6713	32,8994	316
E150114	ventre	42,0922	0,1978	0,2365	0,2561	33,4679	687
E150114	topete	2,5052	0,0000	0,0007	0,8500	11,5950	548
E150115	manto	5,8051	0,0352	0,0470	0,7883	26,2009	343
E150115	ventre	34,1159	0,2156	0,2547	0,2487	22,6423	686
E150116	dorso	36,2009	0,2234	0,2626	0,2446	20,9948	666
E150116	manto	3,9834	0,0496	0,0666	0,7061	16,0796	548
E150116	ventre	48,1876	0,2061	0,2449	0,2531	36,6194	666
E150116	topete	6,2052	0,0408	0,0525	0,7772	26,7396	350
E150120	topete	3,6531	0,0174	0,0288	0,7467	14,7082	549
E150123	manto	7,6026	0,1120	0,1283	0,6634	25,7210	314
E150123	ventre	44,7366	0,2299	0,2686	0,2440	25,6761	581
E150123	topete	2,5789	0,0118	0,0189	0,8452	12,9856	498
E150125	dorso	50,1642	0,2168	0,2554	0,2500	32,4880	665
E150125	manto	7,4242	0,0724	0,0886	0,6819	27,0978	316
E150126	manto	5,4969	0,1102	0,1360	0,5314	14,7226	316
E150126	ventre	33,2351	0,2151	0,2543	0,2485	23,5003	687
E150130	dorso	37,9644	0,2214	0,2601	0,2469	24,3596	665
E150130	manto	8,0560	0,0621	0,0780	0,6996	31,6801	316
E150145	dorso	32,1079	0,2149	0,2545	0,2473	21,7815	667

Macho ID	Parte do corpo	B2	S1.UV	S1.violet	S1.red	S6	H2
E150145	manto	6,8862	0,1185	0,1431	0,5369	17,8741	318
E150145	ventre	46,4585	0,2295	0,2685	0,2436	26,0707	671
E150145	topete	6,6424	0,0814	0,1016	0,6387	23,0313	316
E150150	ventre	28,9962	0,2110	0,2503	0,2481	21,0044	610
E150150	topete	4,8223	0,0544	0,0717	0,6939	17,8427	666
E150151	dorso	43,0359	0,2062	0,2453	0,2524	31,2535	687
E150151	manto	5,4771	0,0859	0,1058	0,6366	18,1325	304
E150159	dorso	32,3722	0,2119	0,2500	0,2520	22,1189	547
E150159	manto	15,1362	0,1661	0,1899	0,5169	33,3245	547
E150159	ventre	25,7709	0,2310	0,2702	0,2419	13,9505	547
E150159	topete	6,6559	0,1863	0,2094	0,5316	16,4954	322
E150161	dorso	46,5380	0,2067	0,2459	0,2517	34,7785	686
E150161	manto	15,0343	0,1487	0,1723	0,5263	34,0889	318
E150161	ventre	43,9536	0,2112	0,2501	0,2510	31,7308	477
E150161	topete	8,0654	0,0459	0,0587	0,7610	33,6268	498
E150162	dorso	2,8262	0,0764	0,1070	0,3377	4,7715	548
E150162	topete	5,0126	0,0814	0,1038	0,5644	14,3874	315
E150162	manto	5,3199	0,0556	0,0730	0,6898	20,4230	498
E150162	ventre	30,6392	0,2101	0,2499	0,2460	22,0253	666
E150163	manto	7,7880	0,0795	0,0979	0,6669	28,7800	317
E150163	ventre	39,7840	0,2108	0,2499	0,2508	28,3291	667
E150165	manto	4,0895	0,0317	0,0435	0,7944	18,5398	498
E150165	ventre	41,9256	0,2213	0,2602	0,2485	26,7672	476
E150168	dorso	38,9065	0,2235	0,2625	0,2453	24,3568	667
E150168	manto	8,7564	0,1386	0,1631	0,5181	19,5459	317
E150168	topete	2,6468	0,0039	0,0100	0,8407	13,2075	548
E150191	dorso	38,0778	0,2064	0,2447	0,2573	29,0603	605
E150191	manto	5,0788	0,0397	0,0546	0,7266	20,4317	549
E150191	ventre	44,2834	0,2325	0,2711	0,2443	22,9889	477
E150453	dorso	45,2432	0,1834	0,2220	0,2607	40,6293	665
E150453	manto	6,5620	0,0608	0,0789	0,6762	24,1531	333
E150453	ventre	48,1316	0,2055	0,2443	0,2534	36,4971	647
E150453	topete	2,0658	0,0241	0,0408	0,6919	7,7802	665
E150491	dorso	42,8692	0,2233	0,2615	0,2491	23,7286	666
E150491	manto	5,5382	0,0264	0,0376	0,7977	25,7561	368
E150491	ventre	51,5856	0,2228	0,2611	0,2486	30,0528	665

Capítulo 4

Sistema de acasalamento social e genético de *Antilophia bokermanni* (Aves: Pipridae)

INTRODUÇÃO

Darwin (1871) foi o primeiro a discutir sistemas de acasalamento em termos evolutivos. No entanto, apenas no início do século XX estudos focados em sistemas de acasalamento sociais, formação de casais e comportamentos de acasalamento, ganharam maior atenção (Hingston 1933, Nice 1938, Skutch 1940). Lack, em 1940, ainda argumentava a persistente ignorância a respeito de sistemas de acasalamento sociais, mais especificamente em aves, sendo que por muitos anos acreditou-se que a monogâmia prevalecia em 93% das espécies de aves (Lack 1968). Ao mesmo tempo, espécies que apresentavam sistemas poligâmicos intrigavam pesquisadores, que começaram a questionar também o efeito da seleção sexual em espécies monogâmicas que apresentam acentuado dimorfismo sexual (Verner 1963, Wilson & Pianka 1963, Selander 1965). Desta forma iniciou-se, na década de 60, a busca por explicações não apenas comportamentais, mas também genéticas, para o esclarecimento das ambiguidades encontradas em tais espécies.

Desde então, além de estudos ecológicos e comportamentais, os avanços tecnológicos embasados em ferramentas moleculares, principalmente no campo da genética, permitiram um melhor entendimento sobre como evoluíram e como funcionam os diferentes sistemas de acasalamento (Freeman-Gallant et al. 2006, Kleven et al. 2008, Griffith & Immler 2009, Wan et al. 2013). Sistemas de acasalamento são determinados pela capacidade de um sexo (geralmente os machos) em monopolizar parceiros do sexo oposto (Emlen & Oring 1977, Danchin et al. 2005, Alcock 2009). Além disso, o conceito de sistema de acasalamento define a forma como os indivíduos de uma espécie acessam seus parceiros, com quantos parceiros irão interagir durante um determinado período, a duração dessa interação e o envolvimento de cada sexo no cuidado parental (Reynolds 1996).

As divergências entre as estratégias reprodutivas de cada sexo, ou conflito sexual, ocorrem a partir da anisogamia (produção de gametas diferenciados), onde fêmeas investem mais do que machos na produção de gametas (Trivers 1972). Como consequência, machos conseguem aumentar o seu sucesso reprodutivo ao aumentarem o número de parceiras reprodutivas, enquanto fêmeas obtém maior sucesso buscando parceiros que aumentem a chance de sobrevivência dos seus ninhos (Trivers 1972, Emlen & Oring 1977). Assim, o conflito sexual tem um papel fundamental na evolução de estratégias reprodutivas de diferentes espécies, sendo cópulas extra-par (CEP) uma estratégia bastante comum (Westneat & Stewart 2003). Tais cópulas extra-par definem-se pelo acesso reprodutivo a um parceiro outro que o parceiro com o qual o indivíduo encontra-se socialmente vinculado (parceiro social ou intra-par) (Emlen & Oring 1977, Westneat & Stewart 2003).

Para machos, é clara a razão pela qual buscariam o maior número de parceiras férteis (Trivers 1972). Mas, para as fêmeas os benefícios não são tão óbvios, principalmente porque o sucesso reprodutivo das fêmeas não aumenta linearmente com o número de parceiros com os quais copulam (Bateman 1948, Trivers 1972). Além disso, para as fêmeas as cópulas extra-par resultam em um alto risco de contágio de doenças sexualmente transmissíveis (Zuk 1990, Sheldon 1993), maior exposição à predação (Pomiankowski 1987) e retaliação por parte do parceiro social, arriscando assim a perda do cuidado parental (Cezilly & Nager 1995). Apesar disso, fêmeas de muitas espécies em grupos taxonômicos diversos buscam parceiros extra-par (PEP), e os estudos de paternidade confirmam altas taxas de fertilização extra-par (FEP), mesmo em espécies

socialmente monogâmicas (Owens & Hartley 1998, Griffith et al. 2002, Macedo et al. 2008, Wan et al. 2013, Manica et al. 2016).

Devido a essa aparente falta de vantagens para as fêmeas, foram levantadas hipóteses sobre os benefícios diretos e indiretos possivelmente gerados por tal comportamento, como por exemplo, aumento da sobrevivência e/ou fecundidade da fêmea (Zahavi 1975) e melhor qualidade da prole (Alatalo et al. 1986, Andersson 1994). Desde então, muitos estudos tentam confirmar os benefícios de FEP para as fêmeas (Cezilly & Nager 1995, Jennions & Petrie 2000, Griffith et al. 2002; 2003, Westneat & Stewart 2003, Cohan et al. 2007, Forsman et al. 2008, Rosivall et al. 2009, Griffith & Immler 2009), na tentativa de explicar os altos valores de FEP encontrados em muitas espécies (Gelter & Tegelström 1992, Barber et al. 1996, Bjørnstad & Lifjeld 1997, Rowe et al. 2001, Hoffman et al. 2010). A frequência média de paternidade extra-par em aves é de 11,1% da prole e pelo menos 25% das espécies de passeriformes possuem taxas de FEP acima de 25% (revisão em Griffith et al. 2002). Esses valores sugerem que fêmeas buscam por CEP, e essa iniciativa seria um forte indício de que haja algum tipo de benefício para a fêmea e/ou para sua prole (Birkhead & Møller 1993).

Assim, resumidamente, os benefícios que as CEP trariam para as fêmeas são agrupados em três categorias: materiais (Burke et al. 1989, Bensch & Hasselquist 1991, Gibson 1992, Gray 1997, Forstmeier et al. 2002, Westneat & Stewart 2003), fisiológicos (Sheldon 1994, Krokene et al. 1998) e genéticos (Petrie et al. 1998, Eshel et al. 2000, Brommer et al. 2002, Griffith et al. 2002, Tarvin et al. 2005, Freeman-Gallant et al. 2006, Kokko & Jennions 2008, Griffith & Immler 2009, Wetzel & Westneat 2009). No entanto,

ainda é muito discutido se esses fatores justificam tal comportamento (Westneat 1990, Birkhead & Møller 1993).

De acordo com vários estudos, a principal evidência de que fêmeas buscam benefícios genéticos (seja por maior compatibilidade genética ou maior aptidão para os ninhegos), seria estabelecer que machos extra-par tem uma melhor qualidade do que machos intra-par (Kempnaers et al. 1992, Dyrce et al. 2005, Tarvin et al. 2005, Gerlach et al. 2012). Os caracteres sexuais secundários dos machos, originados através da seleção sexual, são muitas vezes sinais honestos de sua saúde e vigor (e.g. Andersson 1994), permitindo que fêmeas tenham como julgar a qualidade dos machos e avaliar qual parceiro seria o mais adequado. Além das características dos machos (como plumagem brilhante, cantos complexos, exibições elaboradas), a qualidade da fêmea na sua escolha por parceiros também tem sido discutida (Cotton et al. 2006). Assim, a preferência da fêmea deve refletir também a sua condição, por razões similares às dos ornamentos dos machos. E se isso de fato ocorre, a ornamentação dos machos será favorecida pela seleção sexual não apenas por atrair as fêmeas, mas também porque um traço mais extravagante do macho poderá atrair uma fêmea de melhor qualidade, principalmente se a condição da fêmea estiver ligada à sua fertilidade (Cotton et al. 2006). Desta forma, vislumbra-se um processo de retroalimentação que envolve as características ornamentais exuberantes dos machos, a capacidade de escolha e qualidade das fêmeas.

Muitos trabalhos tem demonstrado relação entre a qualidade da fêmea e sua preferência, onde fêmeas em melhores condições são mais exigentes quanto ao parceiro do que fêmeas em condições inferiores (Holveck & Riebel 2010, Riebel et al. 2010). Esses autores destacam a importância de levar em conta a capacidade de discriminação da fêmea

quanto à sua própria qualidade e a qualidade do macho. Discute-se ainda que nem sempre a maior qualidade de um indivíduo significaria que este seja mais atrativo para o indivíduo do sexo oposto, sendo também necessária uma investigação a respeito do que é atrativo e se estes caracteres indicam qualidade (Basolo 2004, Bel-Venner et al. 2008).

Uma das principais evidências da seleção sexual nas aves é o dimorfismo sexual e extravagância na ornamentação dos machos de várias espécies (e.g. Darwin 1871, Fisher 1915, Zahavi 1975). A família Pipridae é conhecida por possuir espécies sexualmente dicromáticas e polígamas, com complexos displays por parte dos machos e formação de *lek* (McDonald 1989, McDonald & Potts 1994, Prum 1994; 1997). No entanto, piprídeos das únicas duas espécies do gênero *Antilophia* (*A. galeata* e *A. bokermanni*) são conhecidos por não possuírem um sistema de acasalamento de poligamia com *lek*, ou seja, e sim por serem monogâmicas, apesar de seu acentuado dicromatismo sexual (Marini & Cavalcanti 1992, Prum 1994). Para *A. galeata*, espécie que ocorre no Cerrado, o sistema de acasalamento verificado foi de monogamia social, onde machos defendem territórios reprodutivos nos quais as parceiras sociais nidificam e aparentemente, é encontrado apenas um casal por território (Marini & Cavalcante 1992). Com relação a *A. bokermanni*, espécie endêmica das matas de encostas da Chapada do Araripe no Ceará e criticamente ameaçada, pouco se sabe sobre seus hábitos e comportamentos. No entanto, devido à classificação da espécie irmã (*A. galeata*) como socialmente monogâmica, assumiu-se e divulga-se que *A. bokermanni* também apresente um sistema de acasalamento com formação de casais do tipo monogâmico (Coelho & Silva 1998, Aquasis 2006, Rêgo et al. 2010). Um maior detalhamento sobre a espécie é dado na seção “espécie de estudo” no início desta tese.

Em um estudo realizado por Prum (1994), é sugerido que *Antilophia* possa ter perdido o comportamento de lek devido a características ambientais, como a sua restrição a zonas ripárias do Cerrado. No entanto, espécies filogeneticamente próximas, como *Chiroxiphia caudata*, também são restritas a essas mesmas áreas, portanto sofreriam as mesmas pressões seletivas, mas ainda assim exibem complexos displays e sistema de acasalamento promíscuo (Foster 1981). Para ambas as espécies de *Antilophia* não existem, na literatura, dados de paternidade genética, registros sobre a realização de *display* do macho ou mesmo indícios de cuidado paternal, ou ainda da relação entre a distinta coloração do macho e sua biologia reprodutiva.

Além das questões teóricas que surgem sobre as diferenças do gênero *Antilophia* no contexto evolutivo da Família Pipridae, informações sobre o sistema de acasalamento de *A. bokermanni*, assim como outros dados de sua biologia e comportamento, são cruciais para a elaboração de planos de manejo mais efetivos. Desta forma, o presente trabalho visa primariamente descrever o sistema de acasalamento social e genético de *A. bokermanni*, constatando se estes são compatíveis. Para isso, o estudo averiguou a existência de cópulas extra-par, estimando taxas de FEP e fertilização intra-par (FIP). Além desses dados descritivos, testamos as seguintes hipóteses: (1) o acasalamento na espécie é assortativo, ou seja, existe uma correlação positiva entre machos e fêmeas acasalados, bem como entre ninhegos e seus pais (pai e mãe), no que se refere à condição corporal (estimada através de um índice de condição corporal, ICC); (2) machos com maiores territórios apresentam maior sucesso de pareamento (i.e, com fêmeas nidificando em seu território) e maior índice de condição corporal (ICC) e o sucesso de pareamento está relacionado ao ICC; (3) machos extra-par possuem maiores índices de condição corporal (ICC), são geneticamente mais

dissimilares com relação às fêmeas e possuem maior heterozigosidade do que os machos socialmente acasalados; e (4) ninhegos oriundos de cópulas extra-par exibem melhores condições corporais e maior heterozigosidade do que ninhegos intra-par.

MÉTODOS

O capítulo 1 descreve as seguintes metodologias, utilizadas também neste capítulo:

Captura e marcação dos indivíduos

Coleta de sangue dos ninhegos

Procura e monitoramento dos ninhos

Territórios reprodutivos

O capítulo 3 descreve as seguintes metodologias, utilizadas também neste capítulo:

Morfometria

Coleta e análise da plumagem

Gravação e análise do canto

Extração de DNA e análises moleculares de paternidade

Sucesso reprodutivo

ÍNDICE DE CONDIÇÃO CORPORAL (ICC) DAS FÊMEAS E NINHEGOS

A condição corporal das fêmeas e ninhegos foi determinada da mesma forma que para os machos (métodos Capítulo 3), através da razão entre medidas do peso e tarso. Para os ninhegos foi calculado o índice de condição corporal após a eclosão (1 a 2 dias), sendo ninhos que foram encontrados já com ninhegos com mais de dois dias desconsiderados nas análises.

SUCESSO DE PAREAMENTO

O sucesso de pareamento foi calculado através do número de vezes em que um macho foi registrado nidificando com uma fêmea em pelo menos uma tentativa reprodutiva, ou seja, quando pelo menos um ninho ativo daquele macho foi encontrado dentro do seu território.

DETERMINAÇÃO DA PATERNIDADE GENÉTICA

Em adição ao descrito no capítulo 3 sobre as análises genéticas de paternidade, trago aqui um melhor esclarecimento sobre o protocolo de determinação de paternidade biológica dos filhotes de *A. bokermanni*. Um macho só foi confirmado como pai biológico de um filhote quando: (1) o valor do LOD score (chance de um determinado indivíduo ser aparentado) para o trio (mãe, filhote e pai) fosse maior que 6,45 (acima dos 95% de confiança determinado pelo programa Cervus, Kalinowski et al. 2007), quando a mãe não era conhecida e o valor do LOD score fosse maior que 4,32 quando a mãe foi confirmada; (2) O número de alelos incompatíveis (*mismatches*) entre o filhote e o pai fosse menor que 2; e (3) foi levado em consideração o local de anilhamento ou recaptura do macho em questão e a área onde o ninho foi encontrado. Ainda, geramos figuras utilizando valor do *trio LOD score* para os machos sociais (figura 1) e para os pais biológicos (figura 2), para melhor visualizar a comparação dos valores (score) e *mismatches* entre estes machos, facilitando a tomada de decisões sobre a paternidade biológica dos machos, levando em consideração as características genéticas das mães.

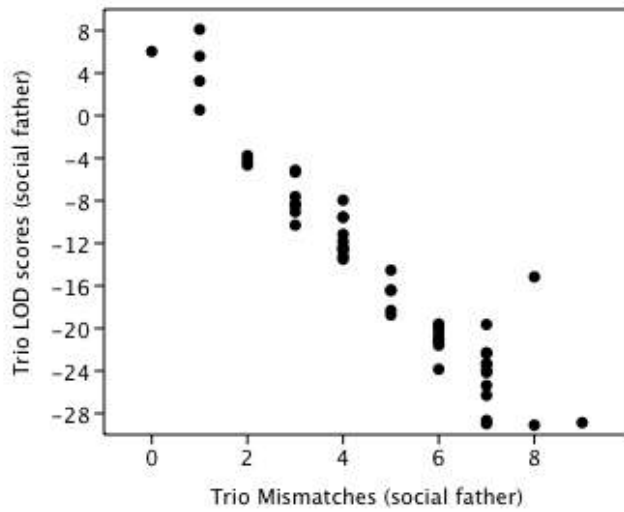


Figura 1- Número de alelos incompatíveis (*Trio mismatches*) entre pais sociais e seus filhotes e a possibilidade dos machos sociais serem os pais biológicos dos filhotes, levando em consideração as características genéticas das mães (*Trio LOD score*).

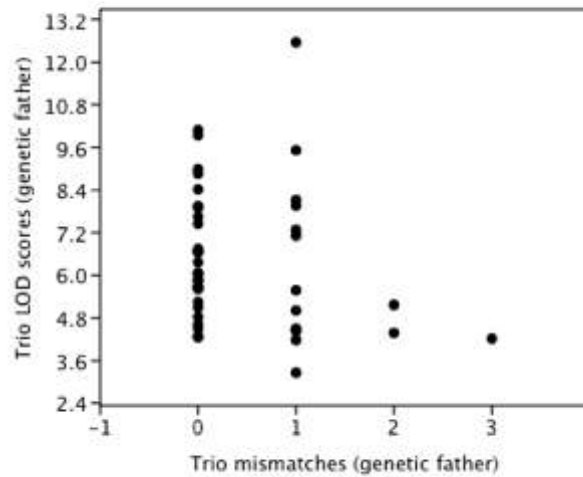


Figura 2- Número de alelos incompatíveis (*Trio mismatches*) entre pais confirmados (*genetic father*) e seus filhotes e a possibilidade destes machos serem os pais biológicos dos filhotes, levando em consideração as características genéticas das mães (*Trio LOD score*).

SIMILARIDADE GENÉTICA (PARENTESCO) E HETEROZIGOSIDADE

Foi calculada a relação de parentesco entre fêmeas e seus parceiros sociais e extra-par, utilizando-se o coeficiente de parentesco “r” de Queller e Goodnight (1989) no programa SPAGEDI v. 1.5 (Hardy & Vekemans 2002). O método utiliza a proporção de alelos compartilhados entre dois indivíduos levando em conta a frequência de cada alelo na população amostrada. Foi utilizada toda a população amostrada nas análises de parentesco, e então identificadas as fêmeas (mães) e seus respectivos parceiros sociais e extra-par. Subsequentemente utilizamos o teste t de Student no programa PAST 3.13 (Hammer et al. 2001) para averiguar se pais sociais são mais aparentados com as fêmeas do que seus parceiros extra-par.

A heteroziguidade, ou nível de endogamia, foi calculada por meio do método proposto por Aparicio et al. (2006), que leva em consideração a variabilidade alélica de um locus em comparação à heteroziguidade esperada para este locus e a presença ou ausência de heterozigose deste locus, em um determinado indivíduo. O índice de homoziguidade (HL) varia de 0 a 1, sendo que valores mais próximos de 1 indicam indivíduos com menor diversidade genética (HL=1 corresponde a um indivíduo com todos os loci homozigóticos).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para analisar se existe correlação entre o índice de condição corporal (ICC) das fêmeas e o ICC dos seus respectivos machos sociais e filhotes utilizamos uma análise de correlação de Spearman, assim como para avaliar se existe correlação entre o ICC dos filhotes e o de seus pais biológicos. Utilizamos correlações de Spearman também para verificar se o sucesso de pareamento dos machos é associado ao tamanho territorial, seu ICC e ainda se o ICC dos machos que defenderam territórios reprodutivos, está relacionado com o tamanho destas áreas.

Para testar se existe diferença entre o ICC e heterozigosidade de machos sociais em comparação a machos extra-par utilizamos testes t pareados e para avaliar se machos sociais são mais aparentados geneticamente às fêmeas que machos extra-par, utilizamos o teste U de Mann-Whitney. Finalmente, para averiguar se filhotes intra-par diferem de filhotes extra-par quanto a seus ICCs e sua heterozigosidade, utilizamos testes t pareados e o teste U de Mann-Whitney, respectivamente. Ainda, utilizamos correlação de Pearson para verificar se o ICC dos filhotes está relacionado com o nível de heterozigosidade destes. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico PAST 3.13 (Hammer et al. 2001).

RESULTADOS

Foram monitorados 101 ninhos durante as três estações reprodutivas (2013/2014, 2014/2015, 2015/2016). Destes, foi possível a identificação das mães em 41 ninhos (N= 37 fêmeas) e de pais sociais (macho defendendo território) de 63 ninhos (N= 28 machos), sendo que para 30 ninhos tanto a mãe quanto o pai social foram identificados. Dentre os casais identificados, 25 produziram pelo menos um ninhego. Ainda, durante as observações de campo foram registradas múltiplas fêmeas (2 a 3) nidificando simultaneamente no território de um único macho, em pelo menos quatro ocasiões (quatro territórios, de quatro machos distintos), indicando que nestes casos um único macho possuiu mais de uma parceira social.

Através das análises genéticas de paternidade identificamos pais biológicos para 57 ninhegos (N= 43 pais) e a maternidade foi confirmada para 76 ninhegos (N= 37 fêmeas). Encontramos que dentre os ninhegos analisados, 53 foram provenientes de cópulas extra-par (de um macho diferente do que defendia o território onde o ninho se encontrava) e

apenas 4 ninhegos (N= 4 ninhos) foram derivados de cópulas intra-par, ou seja, o pai biológico defendia o território onde o ninho se encontrava. Desta forma, a taxa de fertilização extra-par (FEP) é de 94,21% para ninhegos (90,91% por ninho) e a taxa de fertilização intra-par (FIP) é de 5,79% (9,09% por ninho) apenas, para *A. bokermanni*. No entanto, alguns ninhegos (N= 10) tiveram a paternidade biológica confirmada para um dos machos amostrados, porém o macho social não foi identificado, não sendo possível afirmar portanto se esses ninhegos foram provenientes de cópulas intra ou extra-par, sendo então desconsiderados nos cálculos das taxas de FEP e FIP. Ainda, para outros cinco ninhos, com dois filhotes cada, os irmãos tiveram um mesmo pai, porém em quatro destes ninhos o pai social não era o pai biológico dos ninhegos, e no quinto ninho o pai social não foi amostrado.

Entre os machos que tiveram a paternidade biológica confirmada para pelo menos um filhote (intra ou extra-par), apenas 52% eram adultos (plumagem sem penas verdes) enquanto que 48% (N=21) se encontravam com a plumagem sub-adulta (presença de penas verdes pelo corpo). Estes sub-adultos não foram observados defendendo territórios reprodutivos ou mesmo vocalizando, durante a estação reprodutiva em que produziram filhotes. Entretanto, 45% dos machos (N=14) que defenderam algum território reprodutivo, ou seja, que foram pais sociais de algum ninho, tiveram a paternidade confirmada para algum filhote, mesmo que este tenha sido extra-par. A figura 3 ilustra a localização dos territórios que alguns desses machos defenderam e os territórios onde estes produziram filhotes extra-par, indicados pelas setas. Ainda, quatro dentre os 14 machos territorialistas mencionados, tiveram a paternidade biológica confirmada para filhotes em ninhos de outras áreas amostradas (diferentes da área onde defendia território). Porém, em todos os quatro

casos, se tratavam de áreas vizinhas, próximas umas das outras, indicando que as fêmeas copularam com tais machos em uma determinada área amostrada (e.g. Grangeiro), porém nidificaram em outra área (e.g. Advogados).



Figura 3- Distribuição dos territórios de cinco machos que perderam a paternidade em seus ninhos, mas foram pais extra-par em outros ninhos (indicados pelas setas), na área Grangeiro.

O PAREAMENTO NA ESPÉCIE É ASSORTATIVO? OU SEJA, FÊMEAS COM MELHORES CONDIÇÕES CORPORAIS PAREAM-SE SOCIALMENTE COM MACHOS EQUIVALENTES? E O ICC DOS FILHOTES ESTÁ RELACIONADO COM O ICC DE SEUS PAIS? (H1)

O índice de condição corporal (ICC) médio das fêmeas e machos foi bastante similar: $0,92 \pm 0,01$ (N=110) e $0,91 \pm 0,006$ (N=119), respectivamente. Para os ninhegos com até dois dias de idade a média do ICC foi de $0,45 \pm 0,01$ (N=120). Não foi encontrada correlação do ICC das fêmeas com ninhos com o ICC de seus respectivos machos sociais (machos que foram observados defendendo o território onde a fêmea nidificou; $r = 0,31$; $p = 0,09$, N= 30). Também não foi encontrada correlação entre o ICC das mães e seus

respectivos filhotes (N=44; $r = -0,08$; $p = 0,60$), nem entre o ICC dos pais biológicos e seus filhotes (N=54; $r = -0,22$; $p = 0,10$).

MACHOS COM MAIORES TERRITÓRIOS APRESENTAM MAIOR SUCESSO DE PAREAMENTO E ICC ? E SEU SUCESSO DE PAREAMENTO ESTÁ RELACIONADO COM O ICC? (H2)

Dentre os machos que foram capturados e anilhados, 28 foram observados defendendo territórios reprodutivos e se parearam com pelo menos uma fêmea em pelo menos uma das estações reprodutivas amostradas. Todos os 28 machos chegaram a ter ninho nos seus territórios em algum momento durante a estação reprodutiva, mas apenas 25 possuíram ninhos com ninhegos em seus territórios (foram pais sociais). O macho que obteve o maior sucesso de pareamento foi o indivíduo E150116, que parou-se sete vezes durante as três estações reprodutivas amostradas, seguido pelos indivíduos E150150 e E150163 que parearam-se cinco vezes cada. Onze machos parearam-se apenas uma vez, sete machos parearam-se duas vezes e sete machos parearam-se três vezes durante os períodos amostrados.

O território reprodutivo foi mensurado para 26 machos que tiveram sucesso em parar-se com pelo menos uma fêmea. O tamanho do território dos machos não se correlacionou com o sucesso de pareamento ($r = -0,15$; $p = 0,43$), nem com seu índice de condição corporal ($r = -0,05$; $p = 0,7$). O sucesso de pareamento destes machos também não esteve correlacionado com seu ICC ($r = -0,31$; $p = 0,50$).

MACHOS EXTRA-PAR POSSUEM MAIORES ÍNDICES DE CONDIÇÃO CORPORAL (ICC), SÃO MENOS RELACIONADOS GENETICAMENTE COM AS FÊMEAS E POSSUEM MAIOR HETEROSIGOSIDADE (HL) DO QUE MACHOS SOCIAIS? (H3)

Quando comparado o ICC de machos sociais que perderam a paternidade dos seus filhotes com o ICC dos machos extra-par (pais biológicos), houve uma tendência do ICC dos machos extra-par ser ligeiramente maior ($t = -1,79$; $p = 0,07$), não chegando porém a ser significativa estatisticamente. Com relação à semelhança genética entre machos e fêmeas que acasalaram, não foi encontrada diferença no coeficiente de parentesco “r” das fêmeas com machos sociais ($r_{\text{social}} = -0,01 \pm 0,03$) e com pais biológicos ($r_{\text{genético}} = -0,08 \pm 0,03$) (Mann-Whitney $U = 378$; $p = 0,29$). Ou seja, machos extra-par não são menos aparentados geneticamente às fêmeas quando comparados com os machos sociais das mesmas. A heterosiguidade média de machos sociais (HL = $0,384 \pm 0,013$) e machos extra-par (HL = $0,380 \pm 0,016$) foi quase idêntica, não havendo diferença estatística entre os dois índices ($t = 0,87$; $p = 0,38$).

NINHEGOS DE CÓPULAS EXTRA-PAR POSSUEM MELHORES CONDIÇÕES CORPORAIS E SÃO MAIS HETEROZIGÓTICOS (HL) QUE NINHEGOS INTRA-PAR? (H4)

O índice de condição corporal (ICC) médio para os filhotes de *A. bokermanni* analisados foi de $0,46 \pm 0,02$ e a média do nível de heterosiguidade (HL) foi de $0,36 \pm 0,01$ (N= 98 filhotes). A média de heterosiguidade para a espécie em geral (considerando todos os indivíduos amostrados: machos, fêmeas e ninhegos) foi de $0,37 \pm 0,007$. Não foi encontrada correlação entre o HL e o ICC dos filhotes em geral ($r = 0,01$; $p = 0,91$).

Como dito anteriormente, apenas quatro ninhegos foram produzidos por machos que defendiam os territórios onde os ninhos foram encontrados. Todos os quatro ninhos possuíam dois filhotes, mas a paternidade intra-par foi encontrada apenas para um dos filhotes em cada um dos ninhos (N= 4), ou seja, os machos sociais perderam a paternidade de um dos filhotes em todos os quatro casos. Comparamos os filhotes destes ninhos e não

encontramos diferenças no ICC ($t = -0,05$; $p = 0,95$) ou nível de endogamia ou heterosiguidade (Mann-Whitney $U = 6$; $p = 0,66$) entre os filhotes intra-par e extra-par.

DISCUSSÃO

O conceito de sistema de acasalamento refere-se às estratégias comportamentais de uma espécie para o acesso a parceiros reprodutivos, incorporando diferentes parâmetros que incluem: o número de parceiros adquiridos, a forma de aquisição de parceiros, a presença e características de formação de casais, e os padrões do cuidado parental fornecido por cada sexo (Emlen & Oring 1977). Assim, sistemas socialmente monogâmicos, na sua vasta maioria, apresentam defesa territorial tipicamente realizada por machos ou ambos os sexos, formação de um vínculo social entre os parceiros (um macho e uma fêmea) e cuidado parental realizado por ambos os sexos (Lack 1968, Emlen & Oring 1977).

Até o presente momento, o sistema de acasalamento de *Antilophia* tem sido definido como monogâmico (Marini & Cavalcanti 1992, Prum 1994). Tal definição baseia-se sobre a aparente defesa territorial realizada pelos machos e a presença de ninhos nessas áreas. Além disso, prevaleceu a ausência de conhecimento sobre a realização de *displays* pelo macho assim como a falta de informações sobre paternidade de prole. No presente estudo, encontramos que para *A. bokermanni*, não ocorreu cuidado parental do macho em nenhuma fase reprodutiva (construção do ninho, incubação dos ovos) ou de desenvolvimento dos filhotes pós-eclosão (ver resultados capítulo 1). Além desse fato, registramos outras evidências que fogem à definição clássica da monogamia social: mais de uma fêmea nidificando em território de um mesmo macho em algumas ocasiões; ausência de defesa de parceiros reprodutivos; e principalmente, uma elevadíssima taxa de paternidade “extra-

par”. Tais observações indicam que o sistema social de *A. bokermanni* não se encaixa na definição de uma monogamia clássica.

Como constatado até o momento, a média de cópulas extra-par para aves consideradas socialmente monogâmicas é de 11% (Griffith et al. 2002). No entanto, alguns estudos encontraram que espécies socialmente monogâmicas podem possuir taxas de cópula extra-par que alcançam valores maiores que a média, podendo ultrapassar 50% (Yezerinac et al. 1995, Barber et al. 1996, Carvalho et al. 2006, Manica et al. 2016). Porém, para tais espécies, o sistema social se encaixa na definição de monogamia no que tange ao vínculo social e cuidado parental realizado por ambos os sexos (Dunn & Hannon 1992, Lozano & Lemon 1995, Diniz et al. 2015), características ausentes em *A. bokermanni*. Além disso, nenhum estudo onde espécies socialmente monogâmicas tiveram seu sistema de acasalamento genético analisado, registrou valores superiores a 90% na taxa de FEP, como encontramos no presente estudo. Desta forma, propomos que o sistema de acasalamento social de *A. bokermanni* não possa ser classificado como monogâmico.

Sugerimos que a aparente defesa territorial dos machos possa ser considerada como uma forma de *display*, onde o canto possui a principal função de atrair as fêmeas e não tenha funcionalidade quanto à defesa de uma área, no sentido de excluir outros machos. Podemos encontrar suporte para essa proposta nos resultados encontrados no capítulo 3, onde elementos do canto mostraram-se importantes para o sucesso reprodutivo dos machos, sendo um forte indicativo de qualidade dos mesmos e possivelmente a principal forma da fêmea avaliar a qualidade do macho. Ainda, o fato de fêmeas nidificarem dentro das áreas defendidas por machos pode ser resultado da baixa disponibilidade de áreas adequadas para

a nidificação, não estando associada à formação de pares, o que explicaria a presença de mais de um ninho em um mesmo território.

Também foram observados em algumas ocasiões, machos em vôos circulares onde perseguiam sem agressividade um ao outro, emitindo sons mecânicos, produzidos provavelmente pelas asas durante o vôo, e encerravam pousando um ao lado do outro. Infelizmente tal comportamento não foi quantificado, porém em todas as ocasiões observadas (mais de 6 vezes), foi registrada a presença de pelo menos uma fêmea aparentente observando os machos. Ainda, tal comportamento não ocorreu dentro das áreas defendidas pelos machos, mas sim em áreas neutras (onde não havia machos defendendo território), e frequentemente em uma mesma área. Tais características se assemelham às arenas utilizadas por machos para exibições de lek, como descrito para a grande maioria dos piprídeos (Lill 1974, Anciães & Prum 2008, Durães et al. 2008, Cestari & Pizo 2012). Este comportamento de vôos circulares também foi observado por Marini (1992), para a espécie irmã *A. galeata*, no entanto tal comportamento nunca foi detalhado ou teve sua função investigada.

Constatamos ainda que muitos machos sub-adultos ou jovens, e que não defenderam territórios reprodutivos, produziram filhotes biológicos. Em diversas espécies de Pipridae os machos apresentam um grande atraso na mudança para a plumagem adulta completa (Foster 1987, DuVal 2005, McDonald 2009), mesmo tendo maturidade sexual, ou seja, capazes de produzir filhotes (Foster 1987, Marini 1992). Aparentemente, a mudança da plumagem juvenil para adulta em piprídeos não é dependente da quantidade de hormônios como a testosterona (Day et al. 2006, Fusani et al. 2014). É possível que o atraso na muda seja uma estratégia de machos para acesso às fêmeas sem competirem ou serem agredidos

por outros machos, pois a presença de grande quantidade de penas verdes torna tais machos parecidos com fêmeas, possivelmente não sendo identificados por outros machos como competidores intra-sexuais (Rohwer et al. 1980, Flood 1984). É plausível, portanto, que tais machos forcem a cópula com as fêmeas, uma vez que estas também não os identificariam como machos, o que explicaria a produção de filhotes por estes machos. No entanto, é necessário averiguar se machos de *A. bokermanni* seriam menos agressivos em relação a indivíduos verdes do que com machos que possuem plumagem adulta. Além disso, a vantagem e a função do atraso da mudança da plumagem de aves podem variar entre espécies (Lyon & Montgomerie 1986).

Nossos resultados não corroboraram a hipótese de que fêmeas com melhores condições corporais paream-se com machos equivalentes, além de não ter sido encontrada correlação entre o ICC dos filhotes e mães ou seus respectivos pais biológicos. Também não encontramos suporte para a hipótese de que o sucesso de pareamento dos machos estaria relacionado ao tamanho do seu território, indicando assim que fêmeas não se beneficiam diretamente em parar-se com determinados machos. No entanto, a disponibilidade de alimento em cada território não foi medida. Apesar disso, diferente de outras áreas, a encosta da Chapada do Araripe apresenta uma vegetação bastante homogênea (Silva-Neto 2013), sendo bastante provável que a variação na distribuição de plantas e frutos entre os territórios seja baixa.

Encontramos que em comparação com filhotes intra-par, filhotes provenientes de cópulas extra-par não possuem maiores ICC, ou maior heterozigidade. Também verificamos que machos extra-par não possuem maior diversidade genética e ICC, quando comparados com machos sociais. Assim, não encontramos suporte para a teoria de que

fêmeas recebem benefícios indiretos em cópulas com parceiros extra-par. Outros estudos também não tem encontrado evidências que apoiam tal contexto teórico (Hill et al. 2011, Manica et al. 2016). De modo geral, estudos tem indicado que a presença de benefício indireto para fêmeas que buscam cópulas extra-par diverge bastante entre diferentes espécies (Forsman et al. 2008, Schmoll et al. 2009, Forstmeier et al. 2014, Hsu et al. 2015, Whittingham & Dunn 2016). No caso de *A. bokermanni* isso pode ser um indicativo de que a endogamia possui baixa influência para a escolha de parceiros pelas fêmeas, pouco afetando a qualidade genética dos filhotes.

Os nossos resultados ainda sugerem que os níveis de endogamia são altos quando comparados com outras espécies de aves (Bates 2000, Ortego et al. 2007, Manica et al. 2016) ou mesmo outras espécies da família Pipridae (Ryder et al. 2009). Enquanto que para aves, de modo geral, o coeficiente de endogamia varia de 0 a 14% (Bates 2000, Shad et al. 2013), para *A. bokermanni* o valor médio foi de 37%, lembrando que valores mais altos indicam menor heterozigosidade. A baixa variação entre indivíduos (ou seja, baixa heterozigose) e a baixa influência da endogamia na escolha de parceiros e conseqüentemente entre filhotes, podem ser resultado de altos níveis de endogamia, uma vez que para ocorrer seleção de machos mais heterozigóticos, a diferença entre os indivíduos deve ser mais evidente. Altos níveis de endogamia são esperados para espécies com pequenas populações isoladas (Frankham 1996), como é o caso de *A. bokermanni*. Esse cenário é bastante preocupante uma vez que a perda de alelos ocasiona diversas conseqüências negativas para a espécie como: baixa resistência a doenças, alelos deletérios, alta mortalidade, baixo sucesso de eclosão e sobrevivência de ninhos, podendo ocasionalmente levar à extinção da espécie (Ralls et al. 1979, Milss & Smouse 1994,

Frankham 1995, Hendrick & Kalinowski 2000, Brekke et al. 2010). Deste modo, os resultados encontrados no presente estudo servem de alerta para a urgência de tomada de decisões sobre a conservação da área de ocorrência da espécie.

Vale ainda ressaltar, que as hipóteses testadas no presente estudo foram baseadas no conceito de que existem machos intra-par, ou seja, parceiros sociais, uma vez que o sistema social da espécie era considerado até o momento como monogâmico. No entanto, nossos resultados, inclusive a ausência de benefícios para a fêmea e filhotes na busca de parceiros “extra-par”, sugerem que o sistema social de *A. bokermanni* não inclui o conceito de machos sociais, assemelhando-se assim com todas as outras espécies da família Pipridae nesse quesito (Foster 1987, McDonald & Potts 1994, Prum 1994, Shorey 2002, DuVal 2007, Anciães & Prum 2008, Durães et al. 2008). Portanto, a alta taxa de paternidade extra-par pode ser um indicativo de que de fato a definição de intra e extra-par não cabe para a espécie, tornando a comparação entre sistema social e genético pouco coerente, principalmente considerando-se o sistema social monogâmico. Acreditamos que seja necessária uma re-definição, buscando um enquadramento mais adequado para o sistema de acasalamento de *A. bokermanni* dentro do vasto e complexo espectro de diferentes tipos de sistemas sociais.

Assim, propomos que o sistema de acasalamento social e genético que melhor se encaixa com os dados obtidos para *A. bokermanni* seria o de lek solitário poligínico. De acordo com alguns pesquisadores, tal sistema pode evoluir tanto por razões demográficas, devido à baixa densidade de indivíduos (Olsen & McDowell 1983), quanto sociais, devido à baixa tolerância de machos quanto a presença de outros machos (Prum et al. 1996). O sistema de lek solitário poligínico é encontrado em outros membros da família, como

algumas espécies do gênero *Heterocercus*, *Xenopipo* e *Machaeropterus* (Sick 1959; 1967, Prum et al. 1996). A definição deste sistema prediz que: (1) o lek solitário é possivelmente derivado do lek tradicional, com classes agregadas de territorialidade; e (2) compartilha a característica mais importante do lek tradicional ou lek agregado: machos defendem territórios, não baseados na defesa de recursos, mas para efetuarem “*display*” poligínico (*polyginous advertisement*) (Prum 1994, Prum et al. 1996). Tais características descrevem de forma adequada o encontrado para *A. bokermanni* no presente estudo, explicando assim a função da defesa de territórios pelos machos, apesar das altas taxas de FEP.

A divergência entre as espécies dos gêneros acima citados e *Antilophia bokermanni* em relação fato de que os ninhos de tais espécies não se encontrarem necessariamente dentro dos territórios defendidos pelos machos, pode ser uma consequência da redução da área de vida e restrição das fêmeas quanto à locais de nidificação. No entanto, as populações da espécie irmã *A. galeata*, não se encontram reduzidas, além de possuírem uma distribuição abrangente (Sick 1997) mas fêmeas parecem também nidificar dentro dos territórios dos machos. Porém, para quase todas as espécies mencionadas, poucos estudos foram realizados no que diz respeito aos locais de nidificação em relação aos territórios defendidos pelos machos, para *Heterocercus flavivertex* por exemplo, apenas um ninho foi encontrado durante o estudo de Prum et al. (1996) e *A. galeata* apenas dois ninhos (Marini 1992). Assim, é preciso ter cautela quanto a conclusões em relação à inserção dos ninhos dentro dos territórios dos machos ou não, bem como acerca das razões ecológicas e comportamentais para o que observamos no presente estudo quando comparado com outras espécies de lek solitário.

REFERÊNCIAS

- Alatalo RV, Lundberg A, Glynn C, 1986. Female pied flycatchers choose territory quality and not male characteristics. *Nature*. 323: 152 -153.
- Alcock, J. 2009. *Comportamento Animal: Uma abordagem evolutiva*. 9ª ed. Artmed. Porto Alegre, RS. 606 p.
- Anciães M, Prum RO. 2008. Manakin display and visiting behaviour: A comparative test of sensory drive. *An Behav*. 75: 783–790.
- Andersson, M. 1994. *Sexual selection*. Princeton University Press. 599 p.
- Aparicio, JM., Ortego J., Cordero PJ. 2006 What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? *Mol. Ecol*. 15, 4659–4665.
- Aquasis. 2006. Plano de conservação do ,oldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*). 1–36.
- Barber CA, Robertson RJ, Boag PT. 1996. The high frequency of extra-pair paternity in tree Swallows is not an artifact of nestboxes. *Behav Ecol Sociobiol*. 38: 425–430.
- Basolo, AL. 2004. Variation between and within the sexes in body size preferences. *Anim Behav*. 68: 75–82.
- Bateman, AJ. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity (Edinb)*. 2: 349–368.
- Bates, JM. 2000. Allozymic genetic structure and natural habitat fragmentation: Data for five species of Amazonian forest birds. *The Condor* 102: 770–783.

- Bel-Venner MC, Dray S, Allainé D, Menu F, Venner S. 2008. Unexpected male choosiness for mates in a spider. *Proc R Soc B Biol Sci.* 275: 77–82.
- Bensch S, Hasselquist D. 1991. Territory infidelity in the polygynous great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus*: The effect of variation in territory attractiveness. *J Anim Ecol.* 60: 857–871.
- Birkhead T, Møller A. 1993. Female control of paternity. *TREE.* 8: 100–104.
- Bjørnstad G, Lifjeld J. 1997. High frequency of extra-pair paternity in a dense and synchronous population of willow warblers *Phylloscopus trochilus*. *J Avian Biol.* 28: 319–324.
- Brekke P, Bennett PM, Wang J, Pettorelli N, Ewen JG. 2010. Sensitive males: inbreeding depression in an endangered bird. . *Proc R Soc B Biol Sci.* 277: 3677–3684.
- Brommer JE, Meril J, Kokko H. 2002. Reproductive timing and individual fitness. *Ecol Lett.* 5: 802–810.
- Burke T, Davies NB, Bruford MW, Hatchwell BJ. 1989. Parental care mating behavior of polyandrous dunnocks *Prunella modularis* related to paternity by DNA fingerprinting. *Nature.* 338: 249–252.
- Carvalho CB V, Macedo RH, Graves JA. 2006. Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: Extra-Pair fertilizations, behavior, and morphology. *Condor.* 108: 579–590.
- Cestari C, Pizo MA. 2012. The use of auxiliary courts by the lek-forming White-bearded Manakin *Manacus manacus* (Aves, Pipridae). *Act Ethol.* 15: 73–79.

- Cezilly F, Nager RG. 1995. Comparative evidence for a positive association between divorce and extra-pair paternity in birds. . Proc R Soc B Biol Sci. 262: 7–12.
- Coelho G, Silva WAG. 1998. A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. Revista Brasileira de Ornitologia - Braz J of Ornithol. 6: 81-814
- Cohas A, Bonenfant C, Gaillard JM, Allainé D. 2007. Are extra-pair young better than within-pair young? A comparison of survival and dominance in alpine marmot. J Anim Ecol. 76: 771–81.
- Cotton S, Small J, Pomiankowski A. 2006. Sexual selection and condition-dependent mate preferences. Curr Biol. 16: 755–765.
- Danchin É, Giraldeau LA, Cézilly F. 2005. Ecologia Comportamental. Instituto Piaget, Lisboa, Portugal.
- Darwin C. 1871. Principle of Sexual Selection. In: Descent of man and Selection in Relation to sex. 58 p.
- Day LB, McBroom JT, Schlinger BA. 2006. Testosterone increases display behaviors but does not stimulate growth of adult plumage in male golden-collared manakins (*Manacus vitellinus*). Horms and Behav. 49: 223–232.
- Diniz P, Ramos DM, Macedo RH. 2015. Attractive males are less than adequate dads in a multimodal signalling passerine. Anim Behav. 102: 109–117.
- Dunn PO, Hannon SJ. 1992. Effects of food abundance and male parental care on reproductive success and monogamy in Tree Swallows. The Auk. 109: 488-499.

- Durães R, Loiselle BA, Blake JG. 2008. Spatial and temporal dynamics at manakin leks: reconciling lek traditionality with male turnover. *Behav Ecol Sociobiol* 62: 1947–1957.
- DuVal, EH. 2005. Age-based plumage changes in the lance-tailed manakin: A two-year delay in plumage maturation. *The Condor* 107: 915–920.
- DuVal, EH. 2007. Social organization and variation in cooperative alliances among male lance-tailed manakins. *Anim Behav.* 73: 391–401.
- Dyrce A, Wink M, Kruszewicz A, Leisler B, Warbler A, Paludicola A. 2005. Male Reproductive Success is correlated with blood parasite levels and body condition in the promiscuous aquatic Warbler (*Acrocephalus paludicola*). *Auk*. 122: 558–565.
- Emlen ST, Oring LW. 1977. Ecology, sexual selection and the evolution of mating systems. *Science*. 197: 215–223.
- Eshel I, Volovik I, Sansone E. 2000. On Fisher – Zahavi’s handicapped sexy son. *Evol Ecol Res.* 2: 509–523.
- Fisher, RA. 1915. The evolution of sexual preference. *Eugen Rev.* 7: 184–92.
- Flood, NJ. 1984. Adaptive Significance of Delayed Plumage Maturation in Male Northern Orioles. *Evolution*. 38: 267-279.
- Forsman AM, Vogel LA, Sakaluk SK, Johnson BG, Masters BS, Johnson LS, Thompson CF. 2008. Female house wrens (*Troglodytes aedon*) increase the size, but not immunocompetence, of their offspring through extra-pair mating. *Mol Ecol.* 17: 3697–3706.

- Forstmeier W, Kempenaers B, Meyer A, Leisler B. 2002. A novel song parameter correlates with extra-pair paternity and reflects male longevity. *Proc R Soc B Biol Sci.* 269: 1479–1485.
- Forstmeier W, Nakagawa S, Griffith SC, Kempenaers B. 2014. Female extra-pair mating: adaptation or genetic constraint? *TREE.* 29: 456–464.
- Foster MS. 1981. Cooperative behavior and social organization of the Swallow-tailed Manakin (*Chiroxiphia caudata*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 9: 167- 177.
- Foster MS. 1987. Delayed Maturation, neoteny, and social system differences in two manakins of the genus *Chiroxiphia*. *Evolution* 41: 547-558.
- Frankham R. 1995. Conservation Genetics. *Annu. Rev. Genetics.* 29: 305-327.
- Frankham R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conserv Biol* 10: 1500–1508.
- Freeman-Gallant CR, Taff CC, Morin DF, Dunn PO, Whittingham LA, Tsang SM. 2009. Sexual selection, multiple male ornaments, and age- and condition-dependent signaling in the common Yellowthroat . *Evolution.* 64: 1007–1017.
- Freeman-Gallant CR, Wheelwright NT, Meiklejohn KE, Sollecito SV. 2006. Genetic similarity, extrapair paternity, and offspring quality in Savannah sparrows (*Passerculus sandwichensis*). *Behav Ecol.* 17: 952–958.
- Fusani L, Barske J, Day LD, Fuxjager MJ, Schlinger BA. 2014. Physiological control of elaborate male courtship: Female choice for neuromuscular systems. *Neurosci Biobehav Rev.* 46: 534–546.

- Gelter H, Tegelström H. 1992. High frequency of extra-pair paternity in Swedish pied flycatchers revealed by allozyme electrophoresis and DNA fingerprinting. *Behav Ecol Sociobiol.* 31: 1–7.
- Gerlach NM, McGlothlin JW, Parker PG, Ketterson ED. 2012. Promiscuous mating produces offspring with higher lifetime fitness. *Proc R Soc B Biol Sci.* 279: 60–66.
- Gibson, RM. 1992. Lek formation in sage grouse: The effect of female choice on male territory settlement. *Anim Behav.* 43: 443–450.
- Gray, EM. 1997. Female red-winged blackbirds accrue material benefits from copulating with extra-pair males. *Anim Behav.* 53: 625–639.
- Griffith SC, Immler S. 2009. Female infidelity and genetic compatibility in birds: The role of the genetically loaded raffle in understanding the function of extrapair paternity. *J Avian Biol.* 40: 97–101.
- Griffith SC, Montgomerie R, Küpper C, Cuthill IC, Kis J, Lanctot RB, Sandercock BK, Székely T, Wallander J, Kempenaers B, Chieffi A. 2003. Why do birds engage in extra-pair copulation? *Nature.* 422: 833–834.
- Griffith SC, Owens IPF, Thuman KA. 2002. Extra pair paternity in birds: A review of interspecific variation and adaptative function. *Mol Ecol.* 11: 2195–2212.
- Hammer O., Harper DAT., Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological Statistic Software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4: 9–9.
- Hardy OJ, Vekemans X. 2002. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Notes* 2: 618–620.

- Hendrick PW, Kalinowski S. 2000. Inbreeding depression in Conservation Biology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31: 139-162
- Hill CE, Akcay C, Campbell SE, Beecher MD. 2011. Extrapair paternity, song, and genetic quality in song sparrows. *Behavioral Ecology* 22: 73–81.
- Hingston, RWG. 1933. *The meaning of animal colour and adornment* (London, E. Arnold & Co.), 411 pp.
- Hoffman JI, Munro KAT, Kilner RM, Amos W. 2010. High rates of infidelity in the Grey Fantail *Rhipidura albiscapa* suggest that testis size may be a better correlate of extra-pair paternity than sexual dimorphism. *Ibis* (Lond 1859). 152: 378–385.
- Holveck M-J, Riebel K. 2010. Low-quality females prefer low-quality males when choosing a mate. *Proc R Soc B Biol Sci.* 277: 153–60.
- Hsu Y-H., Schroeder J, Winney I., Burke T., Nakagawa S. 2015. Are extra-pair males different from cuckolded males? A case study and a meta-analytic examination. *Mol Ecol.* 24: 1558–1571.
- Jennions MD, Petrie M. 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 75: 21–64.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol.* 16: 1099-1106.

- Kempnaers B, Verheyen GR, Broeck M Van den, Burke T, Broeckhoven C Van, Dhondt AA. 1992. Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature*. 357: 494–496.
- Kleven O, Bjerke B-A, Lifjeld JT. 2008. Genetic monogamy in the Common Crossbill (*Loxia curvirostra*). *J Ornithol*. 149: 651–654.
- Kokko H, Jennions MD. 2008. Parental investment, sexual selection and sex ratios. *J Evol Biol*. 21: 919–48.
- Krokene C, Rigstad E, Dale M, Lifjeld JT. 1998. The function of extrapair paternity in blue tits and great tits: Good genes or fertility insurance ? *Behav Ecol*. 9: 649–656.
- Lack D. 1940. Pair-Formation in Birds. *The Condor*. 42: 269–286.
- Lack D. 1968. Ecological adaptations for breeding in birds. Methuen, London.
- Lill, A. 1974. Sexual Behavior of the Lek-forming White-bearded Manakin (*Manacus manacus trinitatis*, Hartert). *Zeitsch für Tierpsychol*. 36: 1–36.
- Lozano GA, Lemon RE. 1995. Food abundance and parental care in yellow warblers (*Dendroica petechia*). *Behav Ecol Sociobiol*. 37: 45–50.
- Lyon BE, Montgomerie RD. 1986. Delayed Plumage Maturation in Passerine Birds: Reliable Signaling by Subordinate Males? *Evolution* 40: 605-615.
- Macedo RH, Karubian J, Webster MS. 2008. Extrapair paternity and sexual selection in socially monogamous birds: Are tropical birds different? *The Auk*. 125: 769–777.

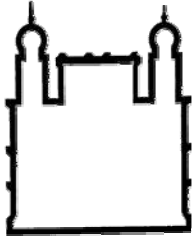
- Manica LT, Graves JA, Podos J, Macedo RH. 2016. Multimodal flight display of a neotropical songbird predicts social pairing but not extrapair mating success. *Behav Ecol and Sociob.* 1-14.
- Marini MÂ, Cavalcanti RB. 1992. Mating system of the Helmeted Manakin (*Antilophia galeata*) in Central Brazil. *The Auk.* 109: 911–913.
- Marini MÂ. 1992. Notes on the Breeding and Reproductive Biology of the Helmeted Manakin. *Wilson Bull.* 104: 168–173.
- McDonald DB, Potts WK. 1994. Cooperative display and relatedness among males in a lek-mating bird. *Science.* 266: 941–1128.
- McDonald, DB. 1989. Correlates of male mating success in a lekking bird with male-male cooperation. *Anim Behav.* 37: 1007–1022.
- McDonald, DB. 2009. Young-boy networks without kin clusters in a lek-mating manakin. *Behav Ecol Sociobiol.* 63:1029–1034.
- Milss LS., Smouse PE. 1994. Demographic consequences of inbreeding in remnant populations. *The Amer Natur.* 144: 412-431.
- Nice, MM. 1938. Territory and mating with the song-sparrow. *Proc. Eighth Int. Orn. Cong.* 1934: 324- 338.
- Olsen DH., McDowell MK. 1983. A comparison of White-bearded manakin (*Manacus manacus*) populations and lek systems in Suriname and Trinidad. *The Auk.* 100: 739-742.

- Ortego J, Aparicio JM, Calabuig G, Cordero PJ. 2007. Increase of heterozygosity in a growing population of lesser kestrels. *Biol Lett.* 3: 585–588.
- Owens IPF, Hartley IR. 1998. Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism? *Proc R Soc B Biol Sci.* 265: 397–407.
- Petrie M, Doums C, Moller AP. 1998. The degree of extra-pair paternity increases with genetic variability. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 9390–9395.
- Pomiankowski, A. 1987. Sexual Selection: The Handicap principle does work -- Sometimes. *Proc R Soc B Biol Sci.* 231: 123-145.
- Prum RO, Kaplan JD, Pierson JE. 1996. Display behavior and natural history of the Yellow-Crowned Manakin (*Heterocercus flavivertex*: Pipridae). *The Condor.* 98: 722–735.
- Prum, RO. 1994. Phylogenetic Analysis of the Evolution of Alternative Social Behavior in the Manakins (Aves: Pipridae). *Evolution.* 48: 1657–1675.
- Prum, RO. 1997. Phylogenetic tests of alternative intersexual selection mechanisms: Trait macroevolution in a polygynous clade (Aves: Pipridae). *Am Nat.* 149: 668–692.
- Queller D, Goodnight K. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution.* 43: 258–275
- Ralls K, Brugger K, Ballou J. 1979. Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science.* 206: 1101–1103.

- Rêgo PS, Araripe J, Silva WAG, Albano C, Thieres P, Campos A, Vallinoto M, Sampaio I, Schneider H. 2010. Population genetic studies of mitochondrial pseudo-control region in the endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*). *Auk*. 127: 335–342.
- Reynolds JD. 1996. Animal breeding systems. *Trends Ecol Evol*. 11: 68–72.
- Riebel K, Holveck M, Verhulst S, Fawcett TW. 2010. Are high-quality mates always attractive? State-dependent mate preferences in birds and humans. *Commun Integr Biol*. 3: 271–273.
- Rohwer S, Fretwell SD, Niles DM. 1980. Delayed Maturation in Passerine Plumages and the Deceptive Acquisition of Resources. *The Amer Natur*. 115: 400–437.
- Rosivall B, Szöllösi E, Hasselquist D, Török J. 2009. Effects of extrapair paternity and sex on nestling growth and condition in the Collared flycatcher, *Ficedula albicollis*. *Anim Behav*. 77: 611–617.
- Rowe D, Murphy M, Fleischer R, Wolf P. 2001. High frequency of extra-pair paternity in eastern kingbirds. *Condor*. 103: 845–851.
- Ryder TB, Tori WP, Blake JG, Loiselle BA, Parker PG. 2009. Mate choice for genetic quality: a test of the heterozygosity and compatibility hypotheses in a lek-breeding bird. *Behav Ecol* 21: 203–210.
- Schmoll T, Schurr FM, Winkel W, Epplen JT, Lubjuhn T. 2009. Lifespan, lifetime reproductive performance and paternity loss of within-pair and extra-pair offspring in the coal tit *Parus ater*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 276: 337–345
- Selander, RK. 1965. On mating systems and sexual selection. *Amer Nat*. 99: 129–141.

- Sheldon, BC. 1993. Sexually transmitted disease in birds: occurrence and evolutionary significance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 339: 491–7.
- Shorey, L. 2002. Mating success on white-bearded manakin (*Manacus manacus*) leks: male characteristics and relatedness. *Behav Ecol Sociobiol.* 52: 451–457.
- Sick, H. 1959. Die Balz der Schmuckvogel (Pipridae). *J. Ornithol.* 100: 269-302
- Sick, H. 1967. Courtshin behavior in manakins (Pipridae). A review. *Li&ng Bird* 615-22.
- Sick, H. 1997. *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Brazil.
- Silva-Neto, B. 2013. Perda da vegetação natural na Chapada do Araripe (1975/2007) no estado do Ceará. [accessed 2016 Jul 28]. <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/104464>.
- Skutch, AF. 1940. Social and sleeping habits of Central American wrens. *The Auk:* 57: 293-312.
- Tarvin KA, Webster MS, Tuttle EM, Pruett-Jones S. 2005. Genetic similarity of social mates predicts the level of extrapair paternity in Splendid fairy-wrens. *Anim Behav.* 70: 945–955.
- Trivers, RL. 1972. Parental Investment and Sexual Selection. In: B. Campbell (Ed.), *Sexual selection and the descent of man, 1871-1971*, p. 136–179. Chicago, IL Aldine.
- Verner, J. 1964. Evolution of Polygamy in the Long-Billed Marsh Wren. *Evolution.* 18: 252-261.

- Wan D, Chang P, Yin J. 2013. Causes of extra-pair paternity and its inter-specific variation in socially monogamous birds. *Acta Ecol Sin.* 33: 158–166.
- Westneat, D. 1990. Genetic parentage in the indigo bunting: A study using DNA fingerprinting. *Behav Ecol Sociobiol.* 1: 67–76.
- Westneat DF, Stewart IRK. 2003. Extra-Pair Paternity in Birds: Causes, Correlates, and Conflict. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 34: 365–396.
- Wetzel DP, Westneat DF. 2009. Heterozygosity and extra-pair paternity: biased tests result from the use of shared markers. *Mol Ecol.* 18: 2010–21.
- Whittingham LA, Dunn PO. 2016. Experimental evidence that brighter males sire more extra-pair young in Tree Swallows. *Mol Ecol* 25: 3706–3715.
- Wilson MF., Pianka ER. 1963. Sexual Selection, Sex ratio and Mating System. *The Amer Natur.* 97: 405-407.
- Yezerinac SM, Weatherhead PJ, Boag PT. 1995. Extra-pair paternity and the opportunity for sexual selection in a socially monogamous bird (*Dendroica petechia*). *Behav Ecol Sociobiol.* 37: 179–188.
- Zahavi, A. 1975. Mate selection-a selection for a Handicap. *J Theor Biol.* 53: 205–14.
- Zuk, M. 1990. Reproductive strategies and disease susceptibility: An evolutionary viewpoint. *Parasitol Today.* 6: 231–233.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

CENTRO DE PESQUISA RENÉ RACHOU

Mestrado em Ciências da Saúde

Doenças Infecciosas e Parasitárias

**ECOLOGIA DE *Rhodnius nasutus* STÅL, 1859
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE) EM
PALMEIRAS DA CHAPADA DO ARARIPE,
CEARÁ, BRASIL.**

por

Fernando Braga Stehling Dias

Belo Horizonte

Fevereiro/2007

**ECOLOGIA DE *Rhodnius nasutus* STÅL, 1859
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE) EM
PALMEIRAS DA CHAPADA DO ARARIPE,
CEARÁ, BRASIL.**

por

Fernando Braga Stehling Dias

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Pesquisa René Rachou como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências na área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Dra. Liléia Diotaiuti

Belo Horizonte
Fevereiro/2007

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

D541e Dias, Fernando Braga Stehling.
2007

Ecologia de *Rhodnius nasutus* Stål 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) em palmeiras da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil / Fernando Braga Stehling Dias. – Belo Horizonte, 2007.

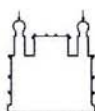
xix, 101 f.: il.; 210 x 297 mm.

Bibliografia: f. 94 – 105

Dissertação (mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. *Rhodnius* 2. Ecologia 3. Doença de Chagas I. Título. II. Diotaiuti, Liléia (Orientação).

CDD – 22. ed. – 616.936 3



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz


Centro de Pesquisa René Rachou

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Ata da trigésima segunda defesa de dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, do aluno Fernando Braga Stehling Dias, sob a orientação da Dra. Liléia Diotaiuti.

Aos vinte sete dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e sete, às nove horas, realizou-se no auditório do Centro de Pesquisa René Rachou, o exame da trigésima segunda dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias. A dissertação do aluno Fernando Braga Stehling Dias intitula-se "Ecologia de *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) nas Palmeiras da Chapada do Araripe, Ceará-Brasil". A banca examinadora foi constituída pelos professores: Dra. Liléia Diotaiuti CPqRR/FIOCRUZ (orientadora e presidente da banca), Dr. Fernando Abad-Franch - ILM/D/Fiocruz(membro titular), Dr. João Carlos Pinto Dias - CPqRR/Fiocruz(membro titular) e Dr. Marcos Horácio Pereira UFMG (membro suplente). Após argüir o aluno e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização na apresentação dos dados, a Banca Examinadora assim se pronunciou: De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, o aluno foi considerado aprovado. Uma vez encerrado o exame, eu, Liléia Diotaiuti, presidente da Banca, assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora. Belo Horizonte, vinte e sete de fevereiro de dois mil e sete.


Dra. Liléia Diotaiuti


Dr. Fernando Abad-Franch


Dr. João Carlos Pinto Dias

A presente dissertação foi desenvolvida no laboratório da 20^a Regional da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, no Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas do Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ, sob a orientação da Dra. Liléia Diotaiuti, e no Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ, com as colaborações do Dr. Alvaro José Romanha e Dr. Evandro Marques de Menezes Machado, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ.

“Faça da interrupção um novo caminho, da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro...Não pague sua vida nem sua carreira pelo dinheiro. Ame seu ofício com todo o coração. Persiga fazer o melhor. Seja fascinado pelo realizar, que o dinheiro virá como consequência. Pense no seu país, porque principalmente hoje pensar em todos é a melhor maneira de pensar em si...Fomos criados para construir pirâmides e versos, descobrir continentes e mundos e caminhar sempre com um saco de interrogações na mão e uma caixa de possibilidades na outra... Trabalhe em algo que você realmente goste e você nunca precisará trabalhar na vida”.

Nilzan Guanaes

**Aos meus pais,
Marco Aurélio e Maria Helena.**

AGRADECIMENTOS

À Dra. Liléia Diotaiuti, a grande idealizadora deste projeto, pela orientação, amizade, confiança e constantes ensinamentos. Uma guerreira nos trabalhos de campo e acima de tudo, pela paciência comigo!

Ao Dr. Evandro Marques de Menezes Machado pelos ensinamentos em todas as etapas em que trabalhamos com *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*, e principalmente, pelo exemplo de profissionalismo.

À Cláudia Mendonça Bezerra pelos bons momentos que passamos juntos no Ceará e por todo o apoio e esforço conseguido para mim junto a Secretaria de Saúde do Ceará.

Ao Dr. Alvaro José Romanha por ter aberto as portas do Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular do CPqRR, permitindo a caracterização das cepas de tripanosomatídeos, e por nos ceder às cepas padrões.

Ao Dr. João Carlos Pinto Dias pelo exemplo de vida e dedicação a doença de Chagas. Pelas boas conversas, conselhos, agradável convívio e sugestões na revisão desta dissertação.

Ao Dr. Fernando Abad-Franch pela belíssima discussão, sugestões e críticas, o que enriqueceu muito esta dissertação.

Ao Dr. Marcos Horácio Pereira e Dr. Edelberto dos Santos Dias, pelas valiosas críticas e sugestões em minha qualificação.

Ao Dr. Nicolás Jaramillo pelas ajudas nas análises morfométricas.

À SUCEN-SP e ao Cláudio Casanova pela colaboração nos estudos de precipitina.

A todos os moradores das localidades trabalhadas que permitiram a execução deste trabalho em suas propriedades. Pela gentileza, receptividade, simplicidade e pelos almoços diários.

Aos senhores Bonifácio, Bosco, Galego e José que mostraram ser fortes e guerreiros no manuseio da moto-serra e dissecação das palmeiras.

Ao Azevedo Quirino de Souza e Antônio Pereira. Dois grandes amigos que estiveram junto a mim durante quase todos os dias no campo. Por me socorrer nos momentos difíceis e pela agradável companhia nos finais de semana, sempre acompanhada de uma “Brahma” gelada.

Ao “grande” Antônio Lemos e ao Francisco Chagas pela ajuda árdua e diária nas coletas dos “procotós”.

A todos os funcionários da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará dos municípios de Crato e Juazeiro do Norte, pela agradável convivência durante três semanas que estive morando no alojamento da Secretaria.

Aos motoristas da Secretaria da Saúde do Ceará que estiveram longe de suas famílias permitindo a realização deste trabalho.

Ao IBAMA-ARARIPE em nome do prof. Jackson Antero, pelo apoio, dicas dos locais de coletas e constantes ajudas.

À Maria Inês Mascarenhas pela eficiência nas infinitas ajudas dos serviços de secretaria e formatação deste trabalho.

À Grasi e Thessa pela amizade e por ceder espaço do seu valioso tempo cuidando das minhas colônias nos períodos em que estive ausente.

Aos amigos do Laboratório de Triatomíneos: Ademilson, Alessandra, Alexandre Silva, Ana Vitta, Angélica, Auffy, Carlota, Denise, Diogo, Gina, Ivan, JP, Kelly,

Letícia, Marcelo, Marcos, D. Maria, Raquel, Rita, Sílvia Basques, Sílvia Ermelinda, Theo e Violeta pelo convívio diário, amizade.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Médica: Ana Bahia, Carol's, Bruno, Gustavo, Lili, Lú, Nágila, Paulo, Rafa e Tati pela amizade e pela companhia nas “cervejadas” durante a semana.

À Pós-Graduação do CPqRR, especialmente à Cris, Neyde, Andréa, Dra. Virgínia Schall e Dra. Cristiana Brito

À Ana Carolina Lustosa pelas ajudas nas análises estatísticas.

Aos meus pais, Marco Aurélio e Maria Helena, e irmãos, Maurício, Rodrigo e Cristiane, por tudo!

À vovó Inhá, pelas constantes orações.

À FAPEMIG, CNPq e CPqRR, pelo apoio financeiro.

E a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho.

Muito obrigado!!

FERNANDO BRAGA

RESUMO

Considera-se que *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 seja um triatomíneo restrito ao domínio da caatinga. Entretanto, seus limites não estão bem reconhecidos. O objetivo do presente trabalho foi identificar qual espécie de triatomíneo ocorre ao sul do estado do Ceará, nas palmeiras da Chapada do Araripe, Brasil e sua importância na transmissão local pelo *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*. Embora esteja incluída no contexto da caatinga, esta região é considerada uma área com vegetação mista de cerrado e Mata Atlântica. Sendo as diversas espécies de palmeiras relatadas como ecótopo para triatomíneos do gênero *Rhodnius*, foram trabalhadas cinco espécies de palmeiras, num total de 10 exemplares para cada espécie, a saber: babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), carnaúba (*Copernicia prunifera*), catolé (*Syagrus oleracea*) e macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*). A única espécie de triatomíneo encontrada foi *R. nasutus*, e o índice de infestação global foi de 86%. No Ceará, esta espécie tem sido encontrada freqüentemente no peridomicílio e intradomicílio, demonstrando significativa importância na DC. O índice de infecção encontrado pelo *Trypanosoma cruzi* foi de 16,8% e, pela primeira vez na literatura, relatamos a ocorrência do *Trypanosoma rangeli* no estado do Ceará, com índice de infecção natural de 7,7%, nos insetos analisados. Os tripanosomatídeos foram caracterizados molecularmente, confirmando os achados microscópicos, sendo as cepas de *T. cruzi* pertencentes ao grupo I, característico de cepas circulantes do ambiente silvestre. Estudos da reação de precipitina sugerem que as principais fontes alimentares do *R. nasutus* são ave e gambá. As árvores UPGMA geradas pela análise morfométrica apontam o grupo de insetos dos buritis como o mais distante geneticamente, o que pode estar relacionado ao isolamento geográfico deste grupo de insetos aos demais. Nossos resultados associados aos enormes palmeirais encontrados na região da Chapada do Araripe fazem desta uma importante região endêmica da tripanosomíase americana silvestre.

ABSTRACT

Rhodnius nasutus Stål, 1859 is considered a triatomine restricted to “caatinga” regions. However, their occurrence restrictions are still unknown. The purpose of this work was to identify which triatomine species occurs in the south of Ceará state, in palm trees of Chapada do Araripe, Brazil and its importance in the local transmission of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. In spite of being included in the “caatinga” environment, this region is considered an area with a mixed vegetation of “cerrado” and “Mata Atlântica” (Atlantic Forest). As the most diverse species of palm trees are reported as ecotopes for triatomines from the genus *Rhodnius*, were studied five species of palm trees, with a total of 10 specimens of each species, as follows: “babaçu” (*Attalea speciosa*), “buriti” (*Mauritia flexuosa*), “carnaúba” (*Copernicia prunifera*), “catolé” (*Syagrus oleracea*) and “macaúba-barriguda” (*Acrocomia intumescens*). The only triatomine species found was *R. nasutus*, and a global infestation rate was 86%. In Ceará, this species has often been found in the peridomicile and intradomicile, playing a significant role in Chagas disease. *Trypanosoma cruzi*'s infection rate was 16.8% and, for the first time in the literature, *Trypanosoma rangeli* was reported to occur in the state of Ceará, with a natural infection rate of 7.7%, in the insects analyzed. Trypanosomatids were molecularly characterized, corroborating microscopic findings, with *T. cruzi* strains belonging to group I, characteristic of circulating strains from a sylvatic environment. Studies on precipitin reaction suggest that the most important food resources of *R. nasutus* are birds and opossums. UPGMA trees generated by morphometric analysis point to a group of insects of “buriti” as the most distant ones, which may be related to the geographic isolation of this group of insects compared to the other ones. Our results associated with large areas of palm trees found in the region of Chapada do Araripe make this an important endemic region of sylvatic American trypanosomiasis.

LISTA DE ABREVIATURAS

APA – Área de Preservação Ambiental
°C – Grau Celsius
cm - centímetro
DC – doença de Chagas
DNA – Ácido desoxiribonucleico
dNTP – Deoxinucleotídeos trifosfatos
FLONA – Floresta Nacional
g – força da gravidade
M – moles
mM - milimolar
μl – microlitro
GPS – Global Positioning System
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Nacionais Renováveis
KCl – Cloreto de Potássio
LIT – Liver infusion tryptose
MgCl₂ – Cloreto de Magnésio
min - minuto
NaOH – Hidróxido de Sódio
nm - nanômetro
pb – pares de bases
PCDCh – Programa de Controle da Doença de Chagas
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
RAPD - Random amplified polymorphic DNA
seg - segundo
Taq – *Thermus aquaticus*
Tris – Tris (hidroximetil) amino metano
U - unidade
UR – umidade relativa
V – volt
v/v – volume por volume

LISTA DE FIGURAS

1.	Distribuição geográfica dos países endêmicos para a doença de Chagas	22
2.	Mapas com a distribuição de triatomíneos no Brasil	28
3.	Localização das bacias hidrográficas brasileiras	32
4.	Mapas de distribuição de espécies de palmeiras	33
5.	Carnaúba (<i>Copernicia prunifera</i>)	34
6.	Macaúba-barriguda (<i>Acrocomia intumescens</i>)	35
7.	Babaçu (<i>Attalea speciosa</i>)	35
8.	Buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>)	36
9.	Catolé (<i>Syagrus oleracea</i>)	36
10.	Mapa político do estado do Ceará	42
11.	Mapa esquemático da região da Chapada do Araripe	43
12.	Vista dorsal da asa de um triatomíneo adulto mostrando os pontos de referência utilizados na morfometria	53
13.	Fêmeas de <i>R. nasutus</i> procedentes das palmeiras da Chapada do Araripe	58
14.	Gráfico da densidade populacional de triatomíneos por estágio evolutivo e espécie de palmeira	60
15.	Gráfico da densidade populacional de triatomíneos por espécie de palmeira	60
16.	Amplificação via PCR para caracterização das cepas de <i>T. cruzi</i> e <i>T. rangeli</i>	64
17.	Formas evolutivas de <i>Trypanosoma. cruzi</i> e <i>T. rangeli</i> em meio de cultura LIT	65
18.	Gráfico representativo da temperatura na axila foliar das cinco espécies de palmeiras e temperatura do ambiente	70
19.	Fauna associada as palmeiras da Chapada do Araripe, Brasil	72
20.	Distribuição dos <i>R. nasutus</i> analisados em relação ao Tamanho Centróide	73
21.	Mapa fatorial da análise discriminante	75
22.	Árvore UPGMA obtida a partir das distâncias de Mahalanobis	76
23.	Árvore UPGMA obtida a partir das distâncias Euclidianas	76

LISTA DE TABELAS

1.	Condições estabelecidas para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) nos estudos da variabilidade do gene de mini-exon do <i>Trypanosoma cruzi</i>	49
2.	Condições estabelecidas para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) nos estudos da variabilidade do gene de mini-exon do <i>Trypanosoma rangeli</i>	50
3.	Dados de infestação de triatomíneos por espécie de palmeira	57
4.	Quantidade de triatomíneos coletados de acordo com estágio evolutivo e espécie de palmeira	59
5.	Diferenças estatísticas encontradas entre as cinco espécies de palmeiras pesquisadas com relação à densidade triatomínica	61
6.	Número de palmeiras infestadas, triatomíneos capturados, examinados, infectados com tripanosomatídeos, e percentual de infecção, por espécie de palmeira	62
7.	Origem e caracterização molecular das cepas isoladas de <i>T. cruzi</i> e de <i>T. rangeli</i>	66
8.	Fonte alimentar identificada pela reação de precipitina em <i>Rhodnius nasutus</i>	68
9.	Dados microclimáticos das palmeiras da Chapada do Araripe e do ambiente	69
10.	Frequência das fontes alimentares observadas nas diferentes espécies de palmeiras	73
11.	Diferenças estatísticas encontradas em relação ao tamanho centróide nas análises morfométricas.	78

ÍNDICE

Lista de Abrevaturas	xv
Lista de Figuras	xvi
Lista de Tabelas	xviii
1-Introdução	21
1.1 – Doença de Chagas	22
1.2 – Vetores da doença de Chagas	24
1.2.1 – Sistemática e Evolução	24
1.2.2 – Ecótopos de <i>Rhodnius</i>	25
1.2.3 – <i>Trypanosoma rangeli</i> e linhagens de <i>Trypanosoma cruzi</i>	25
1.2.4 – Taxonomia de <i>Rhodnius</i>	26
1.2.5 – Ecologia de <i>Rhodnius nasutus</i> e <i>Rhodnius neglectus</i>	27
1.3 – Área de estudo	31
2-Objetivos	38
2.1 – Objetivo geral	39
2.2 – Objetivos específicos	39
3-Metodologia	40
3.1 – Procedência e coleta dos triatomíneos	41
3.2 – Manutenção das colônias	45
3.3 – Exame dos triatomíneos	46
3.4 – Cultivo de tripanosomatídeos	47
3.5 – Caracterização molecular das cepas de tripanosomatídeos	48
3.6 – Reação de Precipitina	51
3.7 – Caracterização microclimática das palmeiras	52
3.8 – Morfometria geométrica	53
3.9 – Análises estatísticas	55
4 – Resultados	56

4.1 – Infestação das Palmeiras	57
4.2 – Densidade Populacional	58
4.3 – Exame de triatomíneos / índice de infecção por tripanosomatídeos	62
4.4 – Caracterização molecular das cepas de tripanosomatídeos	63
4.5 – Reação de precipitina	67
4.6 – Microclima	69
4.7 – Fauna associada aos triatomíneos nas palmeiras	71
4.8 – Morfometria geométrica das asas	73
5 – Discussão	77
Doença de Chagas no Ceará	78
Métodos de coleta dos triatomíneos	79
Variação cromática em <i>R. nasutus</i>	80
Palmeiras como ecótopos para <i>R. nasutus</i>	81
Preferências alimentares dos triatomíneos	86
<i>T. cruzi</i> e <i>T. rangeli</i>	87
Morfometria	89
Consideração Epidemiológica	90
6 – Conclusões	91
7 – Referências Bibliográficas	94
9 – Anexos	107
9.1 – Autorização do IBAMA para derrubada das palmeiras	108
9.2 – Autorização do IBAMA para coleta e transporte de triatomíneos	109
9.3 – Ficha de campo utilizada na coleta dos triatomíneos	110
9.4 – Protocolo utilizado para a extração do DNA genômico dos tripanosomatídeos pela técnica de fenol-clorofórmio álcool-isoamílico	111
9.5 – Soluções utilizadas em géis de poliacrilamida	112
9.6 –Dados do PCDCh dos municípios trabalhados da Chapada do Araripe, Ceará.	113
9.7 – Manuscrito aceito para publicação	119

1. INTRODUÇÃO

1.1. DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas (DC), também conhecida como Tripanossomíase Americana, é considerada a mais importante infecção parasitária na América Latina em termos de impacto econômico e social (World Bank, 1993), e um dos principais problemas de saúde pública no continente Americano (WHO, 2003). Primitivamente, a DC era considerada uma enzootia, e a medida em que o homem entrou em contato com os focos naturais da doença e modificou o ambiente, passou a ser considerada uma zoonose (Barretto, 1979).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (2003), trata-se de uma doença tropical infecciosa que acomete cerca de 11 milhões de pessoas, e aproximadamente 100 milhões de pessoas vivem em área de risco, podendo se infectar com o agente etiológico da DC, o *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, um protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastidae e família Trypanosomatidae. No Brasil, estima-se que aproximadamente quatro milhões de pessoas estejam infectadas pelo protozoário (Dias, 2000). Esta doença possui uma ampla distribuição geográfica, sendo encontrados os seus vetores desde os Estados Unidos até o sul da Argentina (Lent & Wygodzinsky, 1979) (figura 1).



Figura 1: Distribuição geográfica dos países endêmicos para a doença de Chagas. Fonte: OMS, 1996.

A DC é caracterizada por um quadro clínico agudo sintomático ou assintomático que tende a evoluir ao quadro crônico. Na fase crônica da doença, indivíduos infectados podem continuar a apresentar a forma indeterminada (assintomática), ou desenvolver sintomas, caracterizando as formas cardíacas, digestivas (megacólon e/ou megaesôfago) ou até mesmo a forma nervosa. Dois ou mais tipos destas formas podem ocorrer em um mesmo indivíduo (Ferreira et al, 1997).

Vários são os mecanismos de transmissão da DC. A principal forma de transmissão é a vetorial, sendo responsável aproximadamente por 80% dos casos da doença de humanos (Dias, 1987; Schofield, 1994). Entretanto, outras vias de infecção são relatadas, como a transfusional, congênita, transplantes de órgãos, ingestão de substância infectada e acidentes laboratoriais (Moncayo, 1992; Schofield, 1994; Dias, 1987).

Ainda não há vacina nem tratamento específico e eficaz para a DC. Atualmente, o Benzonidazol (Rochagan[®]) e o Nifurtimox (Lampit[®]) são as drogas de escolha no tratamento da doença. Nos casos agudos da doença, estas drogas levam à cura parasitológica de mais de 80% dos pacientes tratados, entretanto, sua eficácia varia de acordo com a área geográfica, provavelmente, devido às diferenças de suscetibilidade das diferentes cepas de *T. cruzi* às drogas. Nos estágios crônicos da doença, no entanto, há uma limitação da eficácia destes medicamentos por possuírem elevados efeitos tóxicos ao paciente, o que pode acarretar a interrupção do tratamento. A suscetibilidade das diferentes cepas de *T. cruzi* a estas drogas também é apontada como um fator limitante para a cura da DC nos estágios crônicos (Urbina & Docampo, 2003).

1.2. VETORES DA DOENÇA DE CHAGAS

1.2.1 Sistemática / Evolução Triatominae

Os vetores da DC são insetos pertencentes à família Reduviidae, subfamília Triatominae. Até o momento, seis tribos e 138 espécies de triatomíneos foram catalogadas (Galvão et al, 2003; Forero et al, 2004; Poinar, 2005; Galvão & Angulo, 2006; Costa, Argolo, Felix, 2006; Costa & Felix, 2007). A grande maioria destas espécies ocorre nas Américas.

Os triatomíneos diferem dos demais insetos da família Reduviidae pelo seu hábito hematofágico obrigatório em todas as fases evolutivas, embora já tenha sido observado o exercício do canibalismo, do predatismo e do coprofagismo (Sherlock, 1979; Lent & Wygodzinsky, 1979; Salvatella et al, 1994). Evolutivamente, acredita-se que a hematofagia dos triatomíneos seja um evento recente e tenha se derivado a partir de diferentes reduviídeos predadores, através de uma série de mudanças morfológicas, fisiológicas, comportamentais e demográficas, sendo assim, um grupo polifilético. (Schofield, 1994). Lent & Wygodzinsky (1979) a partir de dados morfológicos comparados a outros hemípteros, propõem como monofilética a subfamília Triatominae. Estudo utilizando análise cladística de triatomíneos, Paula et al. (2005), analisando os fragmentos 16S de rDNA, concluem como polifilética a subfamília Triatominae, mas os autores chamam a atenção para a importância do grupo externo, que poderá definir e alterar o resultado da análise. Assim sendo, a sistemática filogenética da subfamília Triatominae ainda não foi totalmente esclarecida.

1.2.2. Ecótopos de *Rhodnius*

Três são os principais gêneros de triatomíneos de importância epidemiológica: *Triatoma* Laporte, 1832, *Panstrongylus* Berg, 1879 e *Rhodnius* Stål, 1859. Os triatomíneos abrigam os mais diversos ecótopos, como palmeiras, tocas de animais, ocos de árvores, fendas sob rochas, locas de pedras, ninhos de aves, bromélias epífitas, dentre outros (Lent & Wygodzinsky, 1979). No caso de *Rhodnius*, diversos autores (Gamboa, 1961; Pifano, 1973; Barretto, 1979; Lent & Wygodzinsky, 1979; Diotaiuti & Dias, 1984; Romaña et al., 1999; Teixeira et al., 2001; Abad-Franch et al., 2001; Gurgel-Gonçalves et al., 2004a; Gurgel-Gonçalves et al., 2004b) têm relatado as palmeiras como ecótopo natural destes triatomíneos. Estima-se que o microclima tenha papel importante para o estabelecimento de uma estável relação *Rhodnius* / palmeira (Lorenzo et al., 2003), talvez com relevante impacto no processo de adaptação das espécies deste gênero às diferentes palmeiras (Diotaiuti et al., 2005).

1.2.3. *Trypanosoma rangeli* e linhagens de *Trypanosoma cruzi*

Os triatomíneos também são vetores de um outro tripanosomatídeo, o *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, principalmente espécies pertencentes ao gênero *Rhodnius* (D'Alessandro & Hincapie, 1986). O único relato de infecção natural por *T. rangeli*, inclusive em glândulas salivares, por triatomíneos de outros gêneros foi em *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (D'Alessandro & Saraiva, 1992). Relatos sobre infecção natural de *Rhodnius* por *T. rangeli* já foram descritas em várias regiões do Brasil e outros países da América Latina (Barrett & Oliveira, 1977; D'Alessandro & Hincapie, 1986; Diotaiuti et al., 1992; Ramirez et al., 1998; Feliciangeli et al., 2002; Urrea et al., 2005; Calzada et al., 2006). No Brasil, *T. rangeli* foi descrito pela primeira vez por Deane (1958) em *Didelphis marsupialis*, no Estado do Pará. Sua ocorrência também já foi assinalada no Estado da Bahia, em *R. domesticus* Neiva & Pinto (1923); no Estado do Amazonas, Santa Catarina e Minas Gerais (Barrett & Oliveira, 1977; Miles et al., 1983; Steindel et al., 1991; Ramirez et al., 1998). O *T. rangeli* é

transmitido ao hospedeiro vertebrado através da saliva dos triatomíneos infectados, no momento do repasto sanguíneo. Nestes animais, o *T. rangeli* não é patogênico, apresentando parasitemia baixa e de curta duração. A distribuição do *T. rangeli* muitas vezes sobrepõe-se geograficamente com *T. cruzi*, permitindo a ocorrência de infecções simples ou mistas tanto em hospedeiros vertebrados, quanto nos triatomíneos (D'Alessandro, 1976). Em ensaios sorológicos, devido às semelhanças antigênicas entre *T. cruzi* e *T. rangeli*, podem apresentar reação cruzada (Grisard et al., 1999). Como diagnóstico diferencial, a técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) é recomendada devido a sua especificidade e sensibilidade (Grisard et al., 1999).

Utilizando a técnica da PCR a partir da análise do gene do mini-exon, Souto et al (1996) conseguiram separar duas principais linhagens filogenéticas de *T. cruzi* que posteriormente foram denominadas *T. cruzi* I, associada ao ciclo silvestre e *T. cruzi* II, associada ao ciclo doméstico (Anonymous, 1999).

1.2.4. Taxonomia de *Rhodnius*

Devido às grandes semelhanças morfológicas existentes entre espécies do gênero *Rhodnius*, a taxonomia deste gênero é bastante discutida por diversos autores, principalmente entre *R. prolixus* e *R. robustus* Larrousse, 1927, devido ao fato de ocorrer em áreas de simpatria e semelhança no padrão cromático. Este fato levou Barrett (1988) a agrupá-las, juntamente com *R. nasutus* e *R. neglectus*, em um complexo de espécies denominado “Complexo *R. prolixus*”.

No entanto, várias ferramentas têm sido empregadas com êxito na diferenciação das espécies deste complexo, como morfologia geral (Lent & Wygodzinsky, 1979), morfometria (Harry, 1994) morfologia da genitália masculina (Lent & Jurberg, 1969; Harry, 1993), estudo bioquímico de isoenzimas (Solano et al., 1996), estudo protéico da saliva (Soares et al., 2000), estudos citogenéticos (Schreiber et al., 1972; Perez et al., 1992; Panzera et al., 1996) e moleculares, como RAPD (Garcia et al., 1998). No entanto, a grande dificuldade taxonômica do grupo refere-se à diferenciação

entre *R. robustus* e *R. prolixus*. Isto é devido às grandes semelhanças cromáticas e sobreposição de áreas de distribuição geográfica, coincidentes com florestas tropicais e subtropicais úmidas, apesar de *R. prolixus* ocorrer nos limites mais ao norte e *R. robustus* estender-se para áreas amazônicas mais ao sul (Schofield & Dujardin, 1999). Monteiro et al. (2003) analisaram seqüências de DNA mitocondrial (mtDNA) de 12 populações de *R. prolixus* e 14 populações de *R. robustus*, inclusive espécimes de *R. robustus* procedentes das localidades muito próxima às localidades tipo (local de descrição da espécie por Larousse, na Amazônia brasileira, próximo a foz do rio Tefé, e na região de Cayenne, Guiana Francesa). Apesar da grande controvérsia taxonômica entre estas duas espécies, foi possível verificar que *R. prolixus* e *R. robustus* são espécies distintas. *R. prolixus* mostrou ser uma espécie monofilética enquanto os espécimes de *R. robustus* analisados da região Amazônica formaram três clados na árvore filogenética devido às diferenças nas seqüências do mDNA, constituindo um grupo parafilético (Monteiro et al, 2003).

1.2.5. Ecologia de *R. nasutus* e *R. neglectus*

Muitas espécies de aves que habitam palmeiras concomitantemente com os triatomíneos atuam como agentes dispersores de ovos, ninfas, e até mesmo o inseto adulto (Lent & Wygodzinsky, 1979). Espécies do gênero *Rhodnius* também podem ser capazes de colonizar o ambiente artificial. *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 é o principal vetor da doença de Chagas na Colômbia, Venezuela e alguns países da América Central (Schofield, 1994). Outras espécies de importância epidemiológica secundária (Silveira & Rezende, 1994), como o *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 e *R. neglectus* têm sua presença constante no ambiente artificial, especialmente no peridomicílio (Alencar, 1987).

Segundo Carcavallo et al (1998), Lent & Wygodzinsky (1979) e Schofield (1994), o *R. neglectus* é uma espécie com distribuição geográfica coincidente à área de cerrado no Brasil, e o *R. nasutus* à caatinga (figura 2).



Figura 2: Mapas mostrando a distribuição de triatomíneos no Brasil. (A) *R. nasutus*; (B) *R. neglectus*, segundo Carcavallo et al., 1998.

R. neglectus é uma espécie de triatomíneo com ampla distribuição geográfica, abrangendo no Brasil os Estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco e São Paulo (Galvão et al, 2003). Geralmente são encontrados em babaçus (*Attalea speciosa* Mart. ex. Spreng.), macaubeiras (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.), buritis (*Mauritia flexuosa* L.f.) e ariruris (*Attalea butyracea* Mutis ex L.f.) (Diotaiuti & Dias, 1984; Diotaiuti et al, dados não publicados). Às vezes estão associados a ninhos de aves (Barretto, 1979). É um importante vetor do *T. cruzi*, pois tem sido encontrado naturalmente infectado no ambiente silvestre, no peridomicílio e no intradomicílio (Lent & Wygodzinsky, 1979; Barretto, 1979; Diotaiuti & Dias, 1984; Teixeira et al., 2001; Gurgel-Gonçalves et al., 2004b).

No Estado do Maranhão, Teixeira et al. (2001) admitem a hipótese de *R. neglectus* deixarem as palmeiras à noite, atraídos pelas luzes dos domicílios, para exercerem a hematofagia e em seguida retornarem às palmeiras. Segundo estes mesmos autores, entretanto, esta observação necessita maiores investigações. Este comportamento dos triatomíneos já foi confirmado para *R. brethesi* Matta, 1919 na região amazônica por Coura et al (1994) e

parece também ser usual de *R. robustus* na Amazônia Equatoriana (Aguilar et al., 1999) e de *R. nasutus* no Ceará (Sarquis et al., 2004)

A infestação de palmeiras do cerrado por *R. neglectus* foi extensamente estudada por Barretto (1979) nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo, estando associada, principalmente, à palmeira babaçu, buriti, macaúba (*Acrocomia sclerocarpa* Mart.) e aricuris. Sua distribuição atinge limites ao norte de Tocantins (Diotaiuti, Silveira, Elias, 1984), alcançando Paço do Lumiar, situada na Ilha de São Luis, Maranhão (Teixeira et al., 2001), provavelmente seguindo a rota dos grandes palmeirais originados na região do Bico de Papagaio, Tocantins (Diotaiuti et al., 1985).

Recentemente, inserido no contexto da caatinga, mas a uma altitude de 500-800 metros, foi observada a infestação de *R. nasutus* em babaçus que ocorrem na Serra de Meruoca, norte do Ceará, região de maior umidade, considerada como remanescentes da Mata Atlântica do período que havia continuidade entre a mesma e a Amazônia (Cavalcante, 2005). Muito proximamente, e separada quase que apenas pela altitude, encontram-se a 90 metros de altitude grandes carnaubais da caatinga, também infestados pelo *R. nasutus*. Neste estudo, o impacto das características de cada palmeira sobre a população de triatomíneo ficou muito evidenciado pela diferença de tamanho dos insetos, muito maiores nos que procediam de babaçus (Diotaiuti et al., 2005). O cruzamento entre *R. nasutus* das carnaúbas e babaçus produziu indivíduos de tamanho intermediário, o que parece descartar que estas características tenham origem genética, mas sim, sejam influenciadas pelas condições ambientais (Dias et al., 2005).

Em estudo realizado no estado do Ceará, Alencar (1987) encontrou seis principais espécies de triatomíneos, estando o *R. nasutus* incluído nesta lista, com constante presença no peridomicílio, associados a galinhas (*Gallus gallus*) e gato (*Felis catus*), como revelam os resultados da reação de precipitina aplicada para identificação das fontes alimentares utilizadas pelo triatomíneo. Segundo este mesmo autor, *R. nasutus* foi considerada a quarta espécie mais capturada no Ceará, presente em 35,5% dos municípios pesquisados, totalizando sua ocorrência em 50 municípios cearenses, incluindo Crato e Barbalha, cidades inseridas na região da Chapada do Araripe, objeto de estudo

deste trabalho. Também foram encontrados espécimes naturalmente infectados pelo *T. cruzi*, demonstrando sua participação no ciclo de transmissão do parasito no ambiente artificial no Estado do Ceará. Ademais, não houve relato sobre a ocorrência de *R. neglectus* neste estudo.

Estudo realizado em Jaguaruana, Ceará, município situado em áreas planas, pertencente ao domínio da caatinga, a única espécie de triatomíneo encontrada por Sarquis et al (2004), associada à carnaúba (*Copernicia purnifera* (Mill.) H.E. Moore)), a única espécie de palmeira da região, foi o *R. nasutus*, com índice de infecção pelo *T. cruzi* de 25%. Esta espécie também relatada habitando o peri e intradomicílio com índices de infecção de 30,6% ($n = 62$) e 100% ($n = 2$), respectivamente. Esses dados reforçam ainda mais a associação entre o *R. nasutus* e a palmeira carnaúba, e importância deste vetor na transmissão da tripanosomíase americana.

1.3. ÁREA DE ESTUDO

A caatinga é um dos biomas brasileiros de que menos se dispõe de informações sobre os seus componentes e das relações entre eles (Nascimento & Nascimento, 1998). A Chapada do Araripe localiza-se entre os Estados do Ceará, Pernambuco e Piauí, região Nordeste brasileira. Trata-se de uma região morfogeográfica de aproximadamente 1.063.000 hectares, em continuidade com o Planalto Sertanejo e a Depressão Sertaneja. Grande parte de sua extensão é composta por área de preservação ambiental (APA), denominada APA-Araripe. É considerada uma região de transição cerrado/caatinga com vegetação arbórea aberta, apresentando elementos típicos de cerrado, Amazônia e Mata Atlântica. O uso das terras baseia-se na agricultura de subsistência, principalmente feijão, mandioca, milho e cana-de-açúcar. A Chapada do Araripe está localizada na Bacia Sedimentar do Araripe, um importante sítio paleontológico por apresentar registros fossilíferos do período Cretáceo (Bagnoli, 1998)

A Chapada do Araripe é um divisor de águas das três grandes bacias hidrográficas do nordeste: bacia Jaguaribe, bacia do Rio São Francisco e do Rio Parnaíba (figura 3). Em sua porção leste e separada da APA Araripe, encontra-se a Floresta Nacional do Araripe (FLONA Araripe) com 38.262 hectares de mata basicamente secundária, altitudes variando entre 840 e 920m e classificada em cinco diferentes fisionomias: transição floresta úmida/cerrado, cerrado, floresta úmida degradada pelo fogo, floresta úmida semi-perenifólia e carrasco. Possui cerca de 307 fontes ou nascentes de águas, o que justifica elevada umidade e diversidade vegetal na região (Bagnoli, 1998). O índice pluviométrico anual é aproximadamente de 920mm e a temperatura oscila entre 24°C e 26°C, com mínima no inverno (julho) entre 21°C e 23°C e máxima no verão (janeiro) entre 25°C e 27°C. A amplitude térmica anual é relativamente baixa na região. No município de Barbalha, a amplitude térmica anual é em torno de 3°C (Costa et al, 1998).

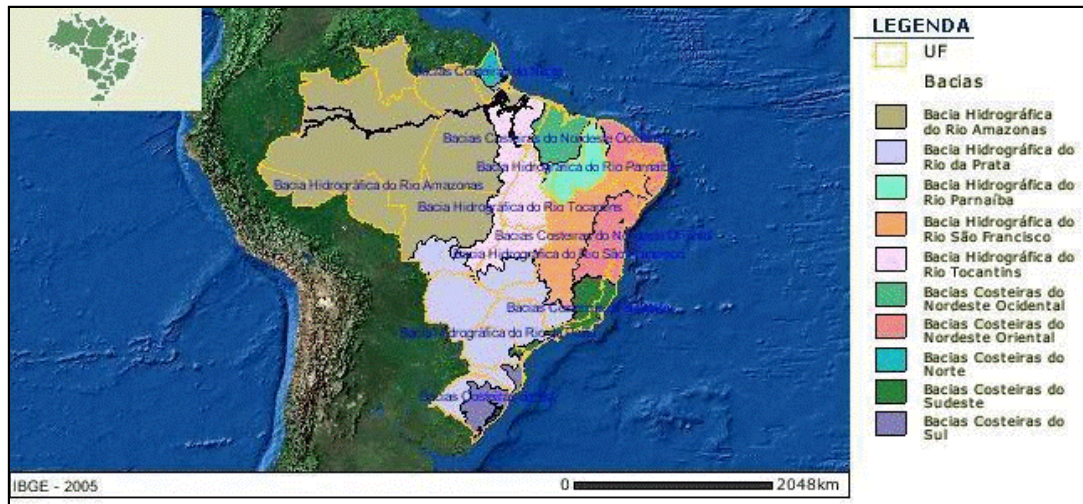


Figura 3: Localização das bacias hidrográficas brasileiras. Fonte: IBGE.

De acordo com Henderson, Galeano, Bernal (1995) e Lorenzi et al. (1996 e 2004) (figura 4) é provável encontrar na região da Chapada do Araripe as palmeiras macaúba, macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens* Drude), carnaúba, catolé ((*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.), buriti e babaçu, sendo a macaúba-barriguda desprovidas de qualquer informação referente a infestação por triatomíneos, na literatura. A região da Chapada do Araripe é formada por grandes palmeirais. Nas planícies aluviais, aliadas às altas temperaturas, encontra-se o habitat de preferência da carnaúba (figura 5). Entretanto, em altitudes mais elevadas (cerca de 700m) é constante a presença da macaúba-barriguda (figura 6), babaçu (figura 7), buriti (figura 8) e catolé (figura 9) sendo o catolé, uma palmeira indicadora de áreas mais secas, quando comparada às demais (Figueiredo et al, 1998).

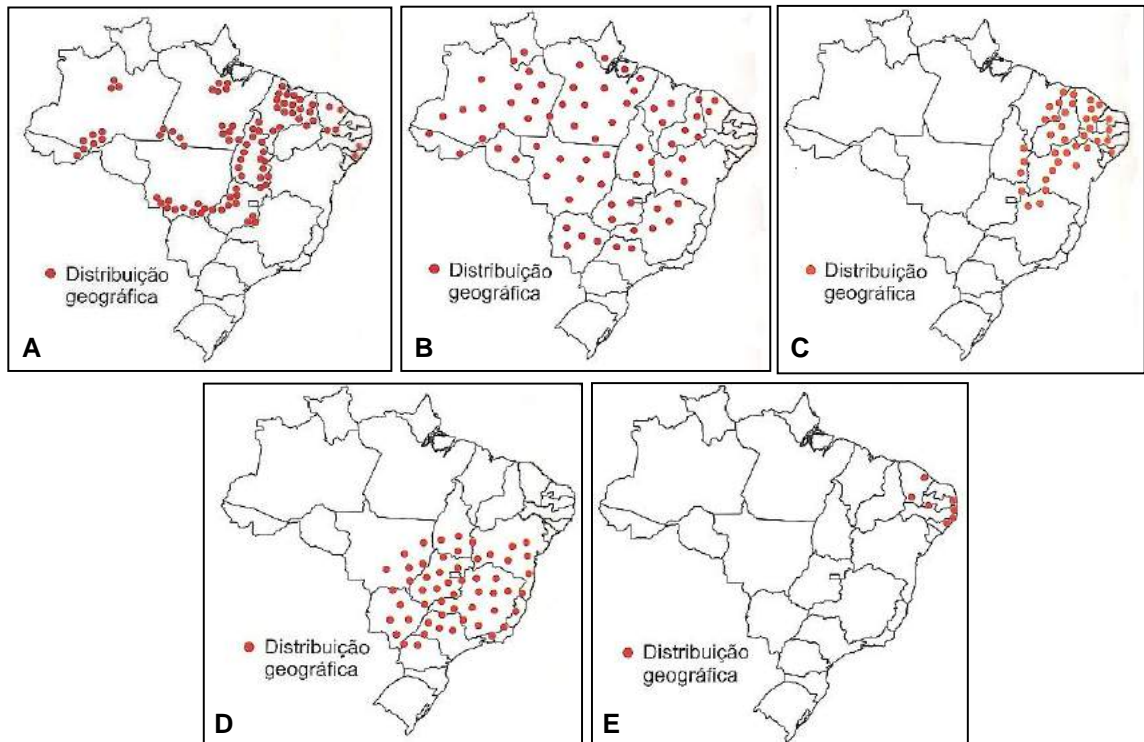


Figura 4: Mapas de distribuição de espécies de palmeiras, segundo Lorenzi et al. (2004). A) babaçu; B) buriti; C) carnaúba; D) catolé e E) macaúba-barriguda.



Figura 5: A) Grande concentração de carnaúbas (*Copernicia prunifera*) em regiões mais planas (aproximadamente 350m de altitude), município de Missão Velha-CE (foto do autor). B) Detalhe da axila foliar e das fibras da carnaúba mostrando a coloração avermelhada, semelhante à coloração do *R. nasutus*. No círculo, presença de ovos de triatomíneos. (foto: Francisco Cialdine Frota Carneiro).



Figura 6: Macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*), palmeira com distribuição em áreas mais serranas e sem dados sobre infestação por triatomíneos, município de Barbalha-CE (foto do autor).



Figura 7: Babaçu (*Attalea speciosa*), palmeira encontrada em regiões com altitude mais elevada, município de Barbalha-CE (foto do autor).



Figura 8: Buriti (*Mauritia flexuosa*), palmeira de regiões com elevadas altitudes e solos pantanosos no município de Santana do Cariri-CE (foto do autor).



Figura 9: Catolé (*Syagrus oleracea*), palmeira com distribuição em regiões com altitudes mais elevadas. Município de Crato-CE (foto do autor).

Os mapas de distribuição de *R. neglectus* e *R. nasutus* confeccionados por Carcavallo et al (1998), parecem ser complementares, cujos limites entre o sul do Ceará e Pernambuco, coincidem com a Chapada do Araripe. Muito pouco se conhece sobre os triatomíneos presentes na região, exceto pelas informações do Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh), que relatam o encontro de *Rhodnius* nas casas, identificado como *R. nasutus*. Seria realmente esta espécie presente na região, ou, devido às condições biogeográficas, existiria condições para a ocorrência de *R. neglectus*?

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Determinar as espécies de *Rhodnius* presentes em palmeiras na Chapada do Araripe, Brasil, e sua importância na transmissão silvestre do *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Identificar as espécies de triatomíneos existentes em cinco espécies palmeiras na região da Chapada do Araripe, Brasil;

2.2.2 Determinar a taxa de infestação por *Rhodnius* em cinco espécies de palmeiras;

2.2.3 Determinar a densidade populacional de *Rhodnius*, em cinco espécies de palmeira, na referida região;

2.2.4 Determinar a taxa de infecção natural dos triatomíneos capturados pelo *T. cruzi* e *T. rangeli*;

2.2.5 Caracterizar molecularmente as cepas de tripanosomatídeos isoladas dos triatomíneos infectados;

2.2.6 Determinar as fontes de alimentação dos triatomíneos e suas possíveis fontes de infecção pelo *T. cruzi*;

2.2.7 Determinar o microclima na axila foliar das palmeiras;

2.2.8 Determinar a variabilidade genética entre as diferentes populações de *Rhodnius* através da morfometria geométrica das asas.

3. METODOLOGIA

3.1. PROCEDÊNCIA E COLETA DOS TRIATOMÍNEOS

Os triatomíneos estudados neste projeto foram procedentes de regiões inseridas na Chapada do Araripe, que se localiza geograficamente a sul do Estado do Ceará, noroeste de Pernambuco, e englobando também uma pequena porção leste do estado do Piauí. (figura 11). As coletas localizaram-se no Estado do Ceará, abrangendo os municípios de Barbalha ($\phi 7^{\circ}18'S$ $\lambda 38^{\circ}55'W$), Crato ($\phi 7^{\circ}14'S$ $\lambda 39^{\circ}24'W$), Juazeiro do Norte ($\phi 7^{\circ}12'S$ $\lambda 39^{\circ}18'W$), Missão Velha ($\phi 7^{\circ}15'S$ $\lambda 39^{\circ}08'W$) e Santana do Cariri ($\phi 7^{\circ}11'S$ $\lambda 39^{\circ}44'W$) (figura 10) fazendo parte da micro-região do Cariri.

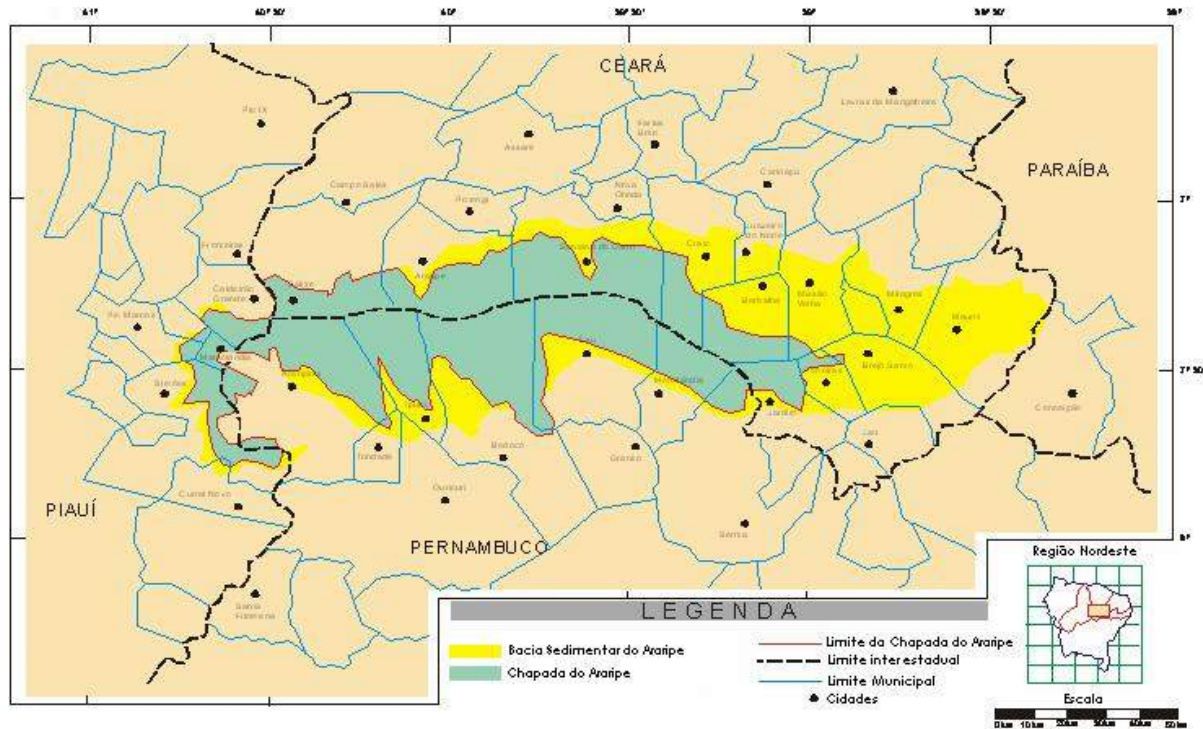


Figura 11: Mapa esquemático da região da Chapada do Araripe (área verde). Fonte: IBAMA-CE.

As coletas dos triatomíneos foram realizadas no período de 14 de março a 06 de abril de 2006 com a participação de agentes da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará (SESA-CE).

A seleção das áreas trabalhadas foi determinada junto ao IBAMA-Araripe, de acordo com a ocorrência das espécies de palmeiras existentes nos municípios da região da Chapada do Araripe. As palmeiras foram identificadas de acordo com Lorenzi et al (1996, 2004) e Henderson, Galeano, Bernal (1995). O critério para a escolha dos exemplares de palmeiras trabalhados foi aleatório, mas evitou-se dissecar palmeiras que estavam muito próximas uma das outras. O critério do tamanho amostral ($n = 50$) foi baseado na disponibilidade de tempo e dos recursos financeiros. Os triatomíneos foram coletados através da derrubada das palmeiras, de acordo com Diotaiuti & Dias (1984), após autorização do IBAMA (anexos I e II). Cada palmeira foi identificada com um código e preenchida uma ficha de campo (anexo III), com data e horário da derrubada, condição climática local, espécie e tamanho da palmeira, fauna associada à palmeira, temperatura na axila foliar. Logo após a derrubada, as palmeiras eram dissecadas cortando-se na base da bainha foliar.

Cada folha era retirada cuidadosamente e procurada minuciosamente a presença dos triatomíneos. Foram também realizadas buscas nas brácteas, cachos de cocos e caule. Todas as palmeiras foram referenciadas geograficamente com auxílio de um GPS (*Global Positioning System*).

No campo, os insetos coletados foram acondicionados em potes de plástico e identificados com o código da palmeira, contendo em seu interior um suporte de papel em forma de sanfona para facilitar a movimentação dos insetos. No laboratório, todos os triatomíneos foram contabilizados por estágio evolutivo e sexo, por palmeira, para cálculo da densidade, taxas de infestação e colonização. A identificação das espécies capturadas foi realizada através das chaves de classificação propostas por Lent & Wygodzinsky (1979).

Os triatomíneos capturados em cada espécie de palmeira constituíram uma colônia de estudo com um determinado código, totalizando cinco grupos.

Definiu-se como palmeira positiva àquela que tivesse no mínimo um exemplar de triatomíneo, presença de exúvia, ou mesmo somente ovos.

3.2. MANUTENÇÃO DE COLÔNIAS

A partir das coletas, foram estabelecidas cinco colônias de acordo com a espécie de palmeira, no Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas do Centro de Pesquisa René Rachou / FIOCRUZ (LATEC), em condições de temperatura e umidade semi-controladas ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; $60\% \pm 10\% \text{UR}$). Os barbeiros foram acondicionados em frasco de polietileno devidamente identificado (aproximadamente 15cm de diâmetro e 20cm de altura), tendo ao fundo duas folhas de papel de filtro para a absorção das fezes e da urina produzidas pelos insetos. Um papel cartolina foi dobrado em forma de sanfona até a altura do frasco a fim de facilitar a movimentação e alimentação dos mesmos. A superfície do frasco foi vedada com pano de malha fina envolvida por esparadrapo e elásticos (gominhas).

Cada colônia foi mantida separadamente por geração, e semanalmente, os triatomíneos eram alimentados em galinhas (*Gallus gallus*) imobilizadas. Da mesma forma, semanalmente, as colônias eram limpas para a retirada de exúvias e ovos, e separação das gerações.

Os insetos de campo que morreram foram montados em alfinetes entomológicos, identificados e guardados como insetos de referência para coleção de triatomíneos do LATEC.

3.3. EXAME DOS TRIATOMÍNEOS

Todos os triatomíneos coletados no campo e que chegaram vivos (n=26) no laboratório foram examinados quanto a presença de tripanosomatídeos. Este procedimento foi realizado através de exame parasitológico das fezes a fresco, através da técnica de compressão abdominal. As fezes dos triatomíneos foram diluídas em uma gota de solução salina 0,15M, colocadas sobre lâmina e lamínula e observadas em microscópio óptico de acordo com as objetivas disponíveis, sendo aumento de 400x, no laboratório da SESA-CE, e 160x, no LATEC. Esse procedimento foi realizado no laboratório da 20^a Regional da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, no município de Crato, e no LATEC.

Pelas limitações na estrutura do laboratório no Ceará, o exame da presença de *T. rangeli* na hemolinfa foi realizado somente no LATEC, pois o procedimento exige o isolamento imediato dos parasitos em meio de cultura e condições estéreis. Assim, somente os triatomíneos positivos ao exame do tubo digestivo e sobreviventes ao chegarem no LATEC, tiveram uma perna seccionada, e uma micro gota de hemolinfa (aproximadamente 10 μ l) foi colocada sobre lâmina e lamínula. O material foi visualizado em microscópio óptico, utilizando aumento de 160x. Os insetos com resultado negativo no tubo digestivo foram destinados à criação.

3.4. CULTIVO DE TRIPANOSOMATÍDEOS

Os tripanosomatídeos foram isolados retirando-se o tubo digestivo e cultivados em meio de cultura. Para isso, 26 insetos que foram positivos para *Trypanosoma*, no exame das fezes ou na hemolinfa, tiveram a superfície externa desinfetadas com álcool 70% (v/v), e em seguida dissecados em capela de fluxo laminar, removendo-se o tubo digestivo e as glândulas salivares com auxílio de pinças e tesoura de dissecação estéreis. O material proveniente de cada inseto foi adicionado, individualmente, a 1ml de meio de cultura LIT (*Liver Infusion Tryptose*) (Camargo, 1964), em tubos de vidro com tampa de rosca. Posteriormente, o tubo digestivo foi macerado e transferido para tubos contendo meio ágar-sangue+LIT. Os tubos foram mantidos em estufa incubadora a 27,5°C para multiplicação dos parasitos. Semanalmente, alíquotas das culturas foram examinadas em microscópio óptico (aumento 160x) e repicadas quando necessário.

As amostras que apresentavam aproximadamente 10^9 parasitos/ml foram submetidas à centrifugação (1500x g por 10 minutos a 4°C). O sobrenadante foi descartado e o “pellet” ressuspendido em solução salina 0,15M. Este processo foi repetido três vezes, sendo o sedimento obtido após a última centrifugação criopreservado a -70°C até a sua utilização para extração do DNA (Romanha, 1982).

Alíquotas das cepas isoladas foram criopreservadas em nitrogênio líquido (-196°C), de acordo com a técnica padronizada por Filardi & Brener (1975), utilizando como agente crioprotetor, o glicerol 10%, fazendo parte do banco de cepas do LATEC.

3.5. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS CEPAS DE TRIPANOSOMATÍDEOS

A tipagem molecular foi baseada na amplificação de parte da região intergênica do gene de mini-exon do *T. cruzi* (Souto et al, 1996) e do *T. rangeli* (Grisard et al 1999), por meio da técnica da PCR, realizada em Termociclador modelo PTC-100™ (MJ Research, Inc. – Watertown, USA).

O DNA dos parasitos foi extraído utilizando a técnica de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico, de acordo com Steindel et al (1993) (anexo IV). A concentração de DNA foi determinada por meio de espectrofotômetro (Eppendorf Biophotometer– Hamburg, Germany), a 260nm de comprimento de onda, sendo o grau de pureza das amostras determinado pela relação da absorbância 260/280nm.

Os produtos da PCR esperados apresentam 300pb para *T. cruzi* I, 350pb para *T. cruzi* II. Foram utilizados os iniciadores TCI - 5'-CCT GCA GGC ACA CGT GTG TGT G-3' (específico para *T. cruzi* I), TCII - 5'-GTG TCC GCC ACC TCC TCC GGC CC-3' (específico para *T. cruzi* II), TC - 5'-CCC CCC TCC CAG GCC ACA CTG-3' (comum aos dois grupos) (Souto et al, 1996). Para *T. rangeli* o produto esperado apresenta 360pb, com os seguintes iniciadores: TrINT-1 - 5'-CGC CCA TTC GTT TGT CC-3', TrINT-2 - 5'-TCC AGC GCC ATC ACT GAT C-3' e TrINT-3 - 5'-AAG ATG AGG CGT GGC TCT G-3' (Grisard et al, 1999). Todos iniciadores foram sintetizados pelo laboratório Alpha DNA (Montreal, Quebec, Canadá). Os reagentes usados na PCR foram: tampão de PCR (20mM Tris-HCl pH 8,4; 50mM KCl; 0,75mM MgCl₂), 200μM dNTP, 2pmoles de cada iniciador e 0,5U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e 1μl de DNA molde, perfazendo volume total de 10μl/reação. As condições da PCR estão descritas nas tabelas I e II.

Para a visualização dos produtos amplificados, 3μL da amostra amplificada foram diluídos em igual volume de tampão de amostra 6x (0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xilenocianol e 15% de ficol) e submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 8% em sistema de minigel (BIO-RAD), sendo posteriormente corados com nitrato de prata 0,2% (Souto et al., 1996).

Como padrão de peso molecular, foi utilizado o DNA do bacteriófago Φ X174 digerido pela enzima de restrição Haell.

Em todas as etapas, foram usadas cepas padrões como controles positivos. Para *T. cruzi* grupo II utilizou-se a cepa Y, isolada de uma paciente na fase aguda da doença de Chagas, via xenodiagnóstico (Pereira da Silva & Nussenzweig, 1953), e para *T. cruzi* grupo I, a cepa YuYu, isolada a partir de um exemplar de *Triatoma infestans* Klug, 1834 capturado na área rural do Vale do YuYu, município de Carinhanha, Bahia (Filard & Brener, 1975). Como controle positivo para *T. rangeli*, utilizou-se a cepa San Agustin isolada de um paciente chagásico colombiano (Tibayrenc et al, 1993). As amostras padrões encontram-se disponíveis no banco de cepas do Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular, FIOCRUZ/MG. Em todas as reações foi feito controle negativo sem adição do DNA molde.

Tabela I: Condições estabelecidas para a Reação em Cadeia da Polimerase nos estudos da variabilidade do gene de mini-exon do *Trypanosoma cruzi* (Souto et al, 1996)

Temperatura de desnaturação/tempo		Ciclo	Temperatura de anelamento dos iniciadores/tempo		Temperatura de Extensão do DNA/tempo	
94°C	5 min	Primeiro	55°C	30 seg	72°C	30 seg
94°C	1 min	27 ciclos seguintes	55°C	30 seg	72°C	30 seg
94°C	1 min	último ciclo	55°C	30 seg	72°C	10 min

Tabela II: Condições estabelecidas para a Reação em Cadeia da Polimerase nos estudos da variabilidade do gene de mini-exon do *Trypanosoma rangeli* (Grisard, 1999).

Temperatura de desnaturação/tempo		Ciclo	Temperatura de anelamento dos iniciadores/tempo		Temperatura de Extensão do DNA/tempo	
94°C	10 min	Primeiro				
94°C	30 s	6 ciclos seguintes	45°C	2 min	72°C	30 seg
94°C	30 s	26 ciclos seguintes	50°C	1 min	72°C	30 seg
		Último Ciclo	50°C	1 min	72°C	5 min

3.6. REAÇÃO DE PRECIPITINA

A fim de determinar o tipo de fonte alimentar dos triatomíneos, realizou-se a reação de precipitina em colaboração com a SUCEN-SP (Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo). Os triatomíneos que morreram antes da realização do exame para constatação de tripanosomatídeos no tubo digestivo tiveram o conteúdo intestinal retirado e transferido para lâminas de papel de filtro. Para cada inseto foram anotados o estágio evolutivo e o código da palmeira de origem. Para os triatomíneos que já haviam sido examinados, o procedimento foi semelhante, porém sendo anotado também o resultado do exame parasitológico (positivo ou negativo). Os conteúdos intestinais, depois de secos, foram acondicionados dentro de sacos plásticos, individualmente, e mantidos em temperatura ambiente. Os testes de Reação de Precipitação em Tubo Capilar foram realizados segundo a técnica descrita por Siqueira (1960). Cada material foi testado com anti-soros de ave, cão, gambá, gato, humano, porco e roedor, produzidos em coelhos.

3.7. CARACTERIZAÇÃO MICROCLIMÁTICA DAS PALMEIRAS

Em cada palmeira trabalhada, foram coletados dados instantâneos de temperatura. Para isto, logo após a derrubada, era introduzido um termômetro na axila da folha. Após cinco minutos, o termômetro era retirado e anotado seus valores na ficha de campo.

3.8. MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS ASAS

Para o estudo morfométrico, utilizaram-se 30 asas direitas de fêmeas e de machos provenientes de triatomíneos da geração F1, oriundas das cinco colônias estabelecidas a partir das coletas. As imagens das asas foram obtidas utilizando máquina fotográfica digital marca Sony, modelo FD Mavica Interpolated 1.6 megapixel Images, acoplada a ocular de um microscópio estereoscópio Zeiss, modelo Stemi SV 6 (Germany), aumento 8x.

Para cada asa, foram utilizados oito pontos de referências (landmarks) na região membranosa do hemiélitro, todas realizadas pelo mesmo investigador (figura 12). As coordenadas foram geradas a partir do programa COO, versão 36 (Dujardin & Slice, 2006)

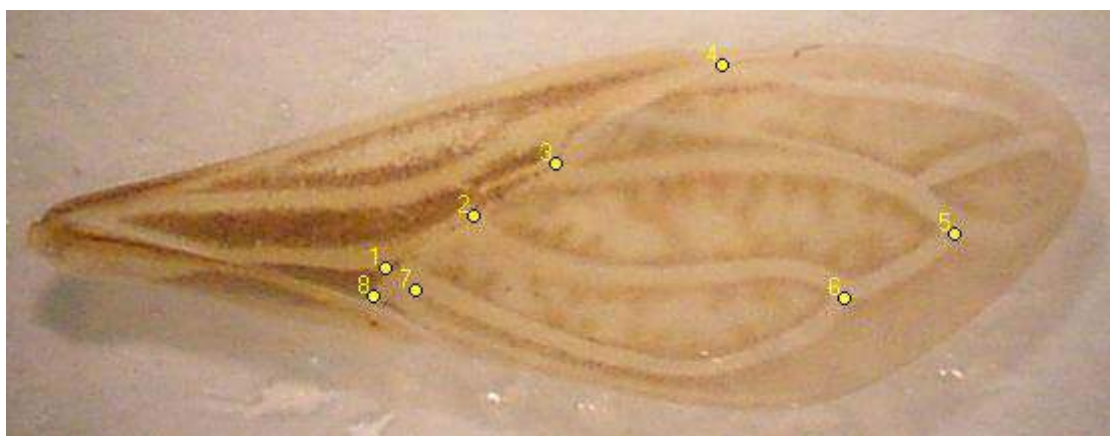


Figura 12: Vista dorsal de uma asa direita de *R. nasutus*. Os círculos e os números indicam os pontos de referências utilizados.

A comparação de tamanho entre os grupos foi obtida através do tamanho centróide, que é o estimador de tamanho isométrico e representa o ponto central do polígono formado pela junção dos pontos de referências. A análise do tamanho isométrico foi realizada através do programa MOG, versão 75 (Dujardin & Slice, 2006).

A Análise Generalizada de Procrustes (AGP) é um algoritmo matemático que elimina os efeitos de escala, de orientação e de posição dos objetos, conseguindo quantificar as variações entre os pontos de referências correspondentes e busca o ajuste para a melhor sobreposição das

configurações geométricas (Jaramillo & Dujardin, 2006). Esta análise foi realizada pelo programa MOG, versão 75 (Dujardin & Slice, 2006). É na AGP que são gerados os valores das variáveis de conformação (Partial Warps) e o tamanho centróide de cada indivíduo.

A Análise dos Componentes Principais foi realizada através do programa COV, versão 46 (Dujardin & Slice, 2006), utilizando os dois primeiros componentes principais. Esta análise foi baseada na matriz das variáveis de conformação e onde se obteve as distâncias Euclidianas entre os grupos analisados. A partir destes resultados, verificou-se através da análise de variância multivariada (MANCOVA) se o resíduo alométrico foi igual entre os grupos e obtida uma árvore UPGMA dos grupos.

A Análise Discriminante foi realizada com a utilização do programa PAD, versão 82 (Dujardin & Slice, 2006), tendo sido calculadas as distâncias de Mahalanobis entre as amostras, a partir das variáveis de conformação. A análise discriminante verificou também a reclassificação dos indivíduos entre os grupos. Uma árvore UPGMA foi gerada a partir das distâncias de Mahalanobis.

Todos os programas utilizados nas análises morfométricas estão disponíveis em <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>.

3.9. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A densidade triatomínica foi testada estatisticamente através do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis e Comparações Múltiplas de Dunn's. As análises estatísticas foram realizadas através dos programas Minitab (versão 13) e/ou Graph Pad Prism (versão 3).

Nos estudos morfométricos, a análise do tamanho centróide entre os grupos foi testada através do teste não paramétrico Mann-Whitney. Na análise discriminante, foi testada a significância estatística entre os grupos através de teste não paramétrico de permutação e correção de Bonferroni. Um teste de regressão linear múltipla foi realizado a fim de verificar a significância do resíduo alométrico na discriminação entre os grupos, utilizando os valores do primeiro fator canônico e o tamanho centróide (Jaramillo et al, 2002).

4. RESULTADOS

4.1. INFESTAÇÃO DAS PALMEIRAS

No período de 14/03/2006 a 06/04/2006 foram dissecadas cinco espécies de palmeiras, num total de 10 exemplares para cada espécie de palmeira, a saber: babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), carnaúba (*Copernicia prunifera*), catolé (*Syagrus oleracea*) e macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*).

A palmeira babaçu obteve um índice de infestação por triatomíneos de 100%, enquanto a macaúba-barriguda obteve índice de 70%. Buriti, carnaúba e catolé tiveram índice de infestação de 90%, 80% e 90%, respectivamente. A tabela III resume os dados de infestação das diferentes espécies de palmeiras. O tempo médio para a dissecção completa da copa das palmeiras variou de 35 minutos para as carnaúbas a 120 minutos para os babaçus. O tamanho das palmeiras foi mensurado, sendo a carnaúba a palmeira mais baixa, com 5 metros, enquanto as maiores palmeiras foram encontradas nos buritis, alcançando até 20 metros.

Tabela III: Valores absolutos e relativos de infestação de triatomíneos por espécie de palmeira.

Palmeira / Espécie	Infestação	
	Valor absoluto	Valor relativo
babaçu (<i>A. speciosa</i>)	10/10	100%
buriti (<i>M. flexuosa</i>)	09/10	90%
carnaúba (<i>C. prunifera</i>)	08/10	80%
catolé (<i>S. oleracea</i>)	09/10	90%
macaúba-barriguda (<i>A. intumescens</i>)	07/10	70%
Total	43/50	86%

4.2. DENSIDADE POPULACIONAL

Foram coletados 521 triatomíneos, sendo 71 adultos e 450 ninfas, identificados morfologicamente como *R. nasutus* de acordo com Lent & Wygodzinsky (1979), com mediana de 4,0 triatomíneos/palmeira e 5,0 triatomíneos/palmeira infestada. Entretanto, os espécimes coletados nas carnaúbas apresentaram coloração típica de acordo com a descrição da espécie, enquanto os triatomíneos provenientes das outras espécies de palmeiras foram morfologicamente muito similares, apresentando coloração castanha por todo o corpo, porém diferente aos insetos das carnaúbas que apresentaram coloração avermelhada (figura 13).

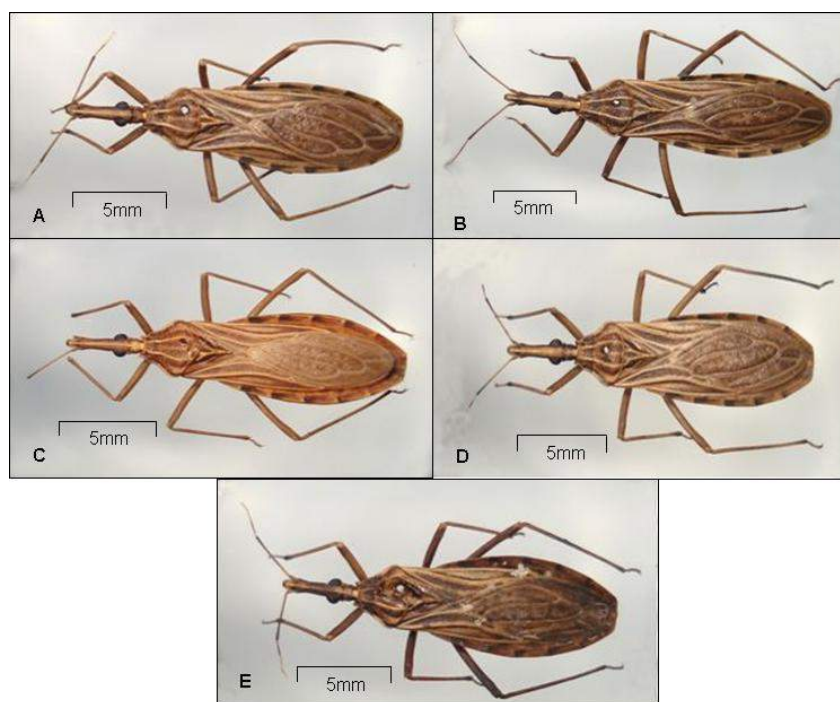


Figura 13: Fêmeas de *R. nasutus* provenientes da geração parental coletados nas cinco espécies de palmeiras na região da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. a) babaçu; b) buriti; c) carnaúba; d) catolé e e) macaúba-barriguda.

Para cálculo da densidade populacional, os triatomíneos coletados no campo foram contabilizados por estágio evolutivo (tabela IV) (figuras 14 e 15). Babaçu foi a palmeira que apresentou maior densidade populacional, totalizando 224 triatomíneos e mediana de 19,0 barbeiros/palmeira positiva,

enquanto buriti foi a palmeira com a menor densidade, totalizando 19 triatomíneos, e média aproximada de um barbeiro/palmeira positiva. Catolé foi a segunda palmeira com a maior densidade populacional, contabilizando 191 triatomíneos coletados (mediana de 11,5 triatomíneos/palmeira positiva), seguido da macaúba e carnaúba com 63 e 24 barbeiros, e mediana de 2,5 barbeiros/palmeira positiva (tabela IV). Do ponto de vista global, os estádios evolutivos mais freqüentes foram o quarto e o quinto estádios, com 161 e 146 triatomíneos, respectivamente. Em nenhuma palmeira estudada foram encontrados ovos viáveis, nem cascas de ovos de triatomíneos. Duas palmeiras (um exemplar de babaçu e outro catolé) apresentaram grande densidade triatomínica com 73 e 77 *R. nasutus*, respectivamente, o que aumentou consideravelmente os valores das medianas. Este fato pode ser explicado pela presença de um marsupial na palmeira de babaçu e pela existência de um ninho de bem-te-vi na palmeira catolé, ambos os animais habitando as palmeiras.

Tabela IV: Número de triatomíneos coletados de acordo com estágio evolutivo e espécie de palmeira

Estádio evolutivo	Quantidade de triatomíneos / espécie de palmeira					Total
	babaçu	buriti	carnaúba	catolé	macaúba	
1º estágio	03	zero	05	05	03	16
2º estágio	27	zero	02	01	02	32
3º estágio	50	03	01	15	26	95
4º estágio	63	08	01	68	21	161
5º estágio	51	06	04	82	03	146
fêmea	12	01	05	11	02	31
macho	18	01	06	09	06	40
Total (%)	224 (43,0)	19 (3,6)	24 (4,6)	191 (36,7)	63 (12,1)	521 (100,0)
med/Q ₁ ; Q ₃ *	19 (7; 28)	1 (1; 2,25)	2,5 (0,75; 4,25)	11,5 (6,25; 26,5)	2,5 (0,0; 9,5)	4 (0,0; 9,5)

*Mediana / 1º quartil; 3º quartil.

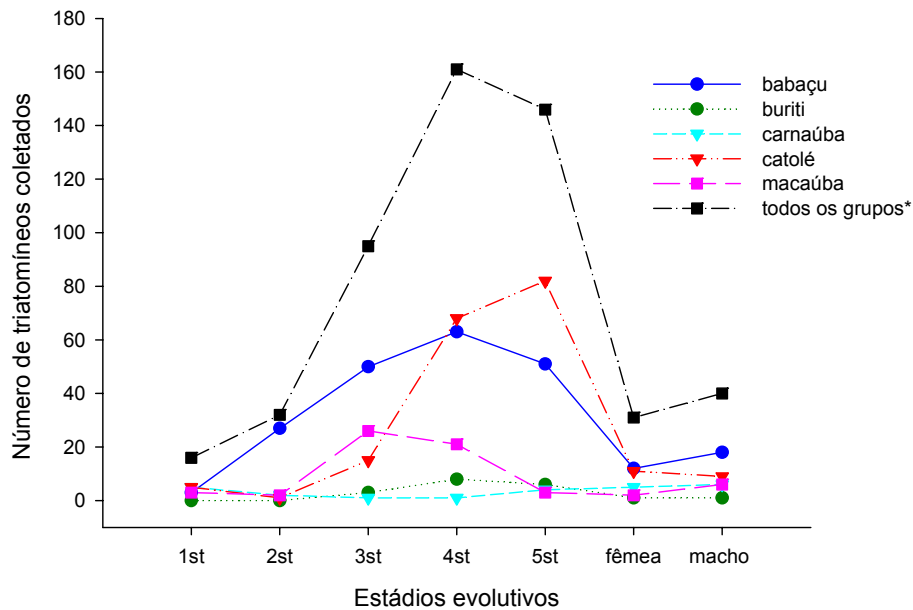


Figura14: Gráfico representativo da densidade populacional de triatomíneos por estágio evolutivo e espécie de palmeira (st = estágio).

*todos os grupos = triatomíneos coletados nas cinco espécies de palmeiras.

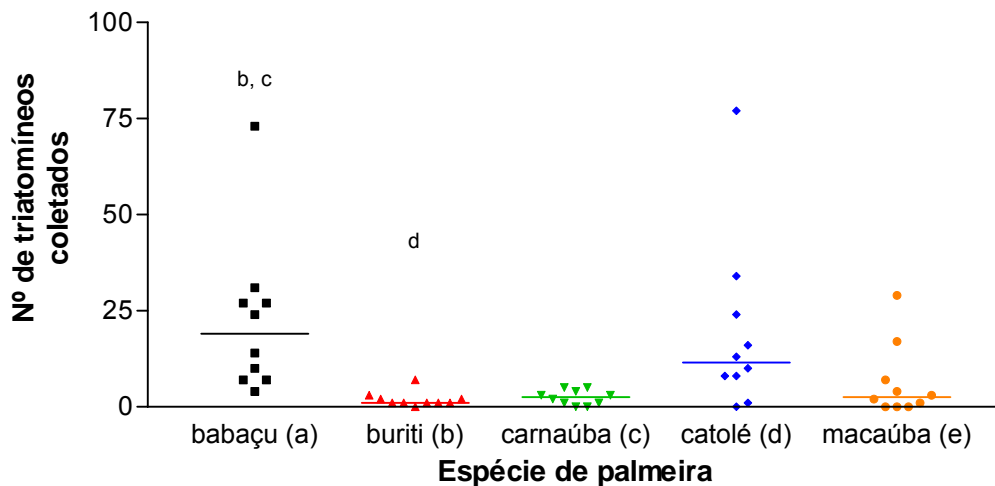


Figura 15: Gráfico representativo da densidade populacional de triatomíneos por espécie de palmeira. A linha horizontal em cada espécie de palmeira refere-se à mediana. As letras correspondem às diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$).

Tabela V: Diferenças estatísticas encontradas entre as cinco espécies de palmeiras pesquisadas com relação à densidade triatomínica.

Palmeira	babaçu	buriti	carnaúba	Catolé	Macaúba
babaçu					
buriti	p<0,01				
carnaúba	p<0,05	p>0,05			
catolé	p>0,05	p<0,05	p>0,05		
macaúba	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

Teste estatístico utilizado: Kruskal-Wallis e comparações múltiplas de Dunns.

4.3. EXAME DOS TRIATOMÍNEOS / ÍNDICE DE INFECÇÃO POR TRIPANOSOMATÍDEOS.

De 521 triatomíneos capturados, 382 barbeiros (77,3%) foram submetidos a exame de compressão abdominal para constatação de infecção quanto a presença de tripanosomatídeos. Destes 382 triatomíneos examinados, 64 estavam infectados, o que representa um índice de infecção de 16,8%. Os dados globais de captura, exame de triatomíneos, número de triatomíneos infectados e valor percentual de barbeiros infectados estão demonstrados na tabela VI. Apesar da baixa quantidade de triatomíneos examinados nas carnaúbas ($n = 16$) e nos buritis ($n = 15$), a única espécie de palmeira que não apresentou insetos infectados foi a carnaúba, enquanto babaçu apresentou o maior índice de triatomíneos infectados (21,5%). Parece, portanto, com relação à infecção por tripanosomatídeos, que as palmeiras analisadas neste estudo, estejam divididas em dois grupos: o primeiro constituído pelas palmeiras de babaçu e catolé com índices de infecção próximos a 20%, e outro grupo, pertencente às palmeiras de buriti, carnaúba e macaúba com índices de infecção variando de zero a 7%.

Tabela VI: Número de palmeiras infestadas, triatomíneos capturados, examinados, infectados com tripanosomatídeos, e percentual de infecção, por espécie de palmeira.

Palmeira	Número palmeiras infestadas (%)	Triatomíneos capturados (%)	Triatomíneos examinados (%)	Triatomíneos infectados (%)
Babaçu	10 (23,3)	224 (43,0)	144 (64,4)	31 (21,5)
Buriti	9 (20,9)	19 (3,6)	15 (79,0)	1 (6,8)
Carnaúba	8 (18,6)	24 (4,6)	16 (66,7)	zero
Católé	9 (20,9)	191 (36,7)	148 (77,5)	29 (19,6)
Macaúba	7 (16,3)	63 (12,1)	59 (93,7)	3 (5,0)
Total	43 (100)	521 (100)	382 (73,3)	64 (16,8)

4.4. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS CEPAS DE TRIPANOSOMATÍDEOS

Foram isoladas 26 cepas de tripanosomatídeos. Destas, 19 cepas foram caracterizadas molecularmente. Não foi possível a caracterização das cepas restantes (sete cepas) devido à contaminação por bactérias e/ou fungos.

A tipagem molecular de todos os isolados foi compatível com *T. cruzi* pertencente ao grupo I (relativo ao ciclo silvestre da doença de Chagas), apresentando uma banda de 300pb. (figura 16a). Em dois isolados, um procedente de inseto capturado em palmeira buriti (cepa RN01) e outro proveniente de outro inseto capturado em catolé (cepa RN04), apresentaram uma banda com aproximadamente 203pb e duas outras bandas de menor intensidade com 244 e 265 pb, respectivamente (figura 16b), ratificando os achados morfológicos (figura 17), demonstrando, pela primeira vez, ocorrência de infecção mista pelo *T.cruzi* e *T.rangeli* neste vetor e nesta região (tabela VII). A denominação dos isolados foi baseada nos critérios estabelecidos em Reunião Satélite realizada em 1999 em ocasião da comemoração do 90o aniversário da descoberta da doença de Chagas (Anonymous, 1999). As cepas foram criopreservadas para estudos futuros.

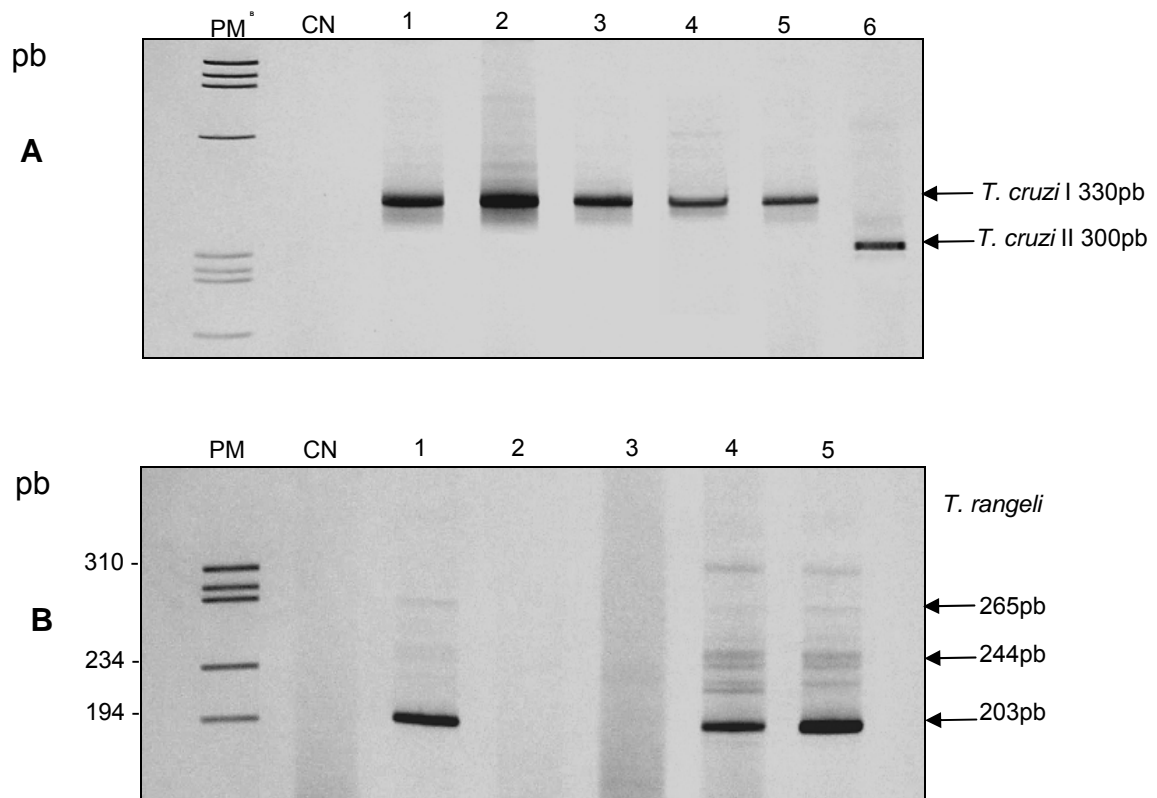


Figura 16: **A)** Amplificação via PCR, utilizando os iniciadores TC, TC I e TC II para caracterização de *T. cruzi*. PM – Padrão de peso molecular, CN – controle negativo da reação (sem adição de DNA), canaletas: 1 – cepa RN01; 2 – RN02; 3 – RN03; 4 – RN04; 5 – cepa YuYu (controle positivo, pertencente ao grupo *T. cruzi* I); 6 – cepa Y (controle positivo pertencente ao grupo *T. cruzi* II). **B)** Amplificação via PCR, utilizando os iniciadores TrINT 1, TrINT 2 e TrINT 3 para a caracterização de *T. rangeli*. PM – padrão de peso molecular, CN – Controle negativo da reação (sem adição de DNA), canaletas: 1 – cepa RN01; 2 – RN02; 3 – RN03; 4 – RN04; 5 – controle positivo da reação (cepa San Agustin). Géis de poliacrilamida a 8% corados pela prata.

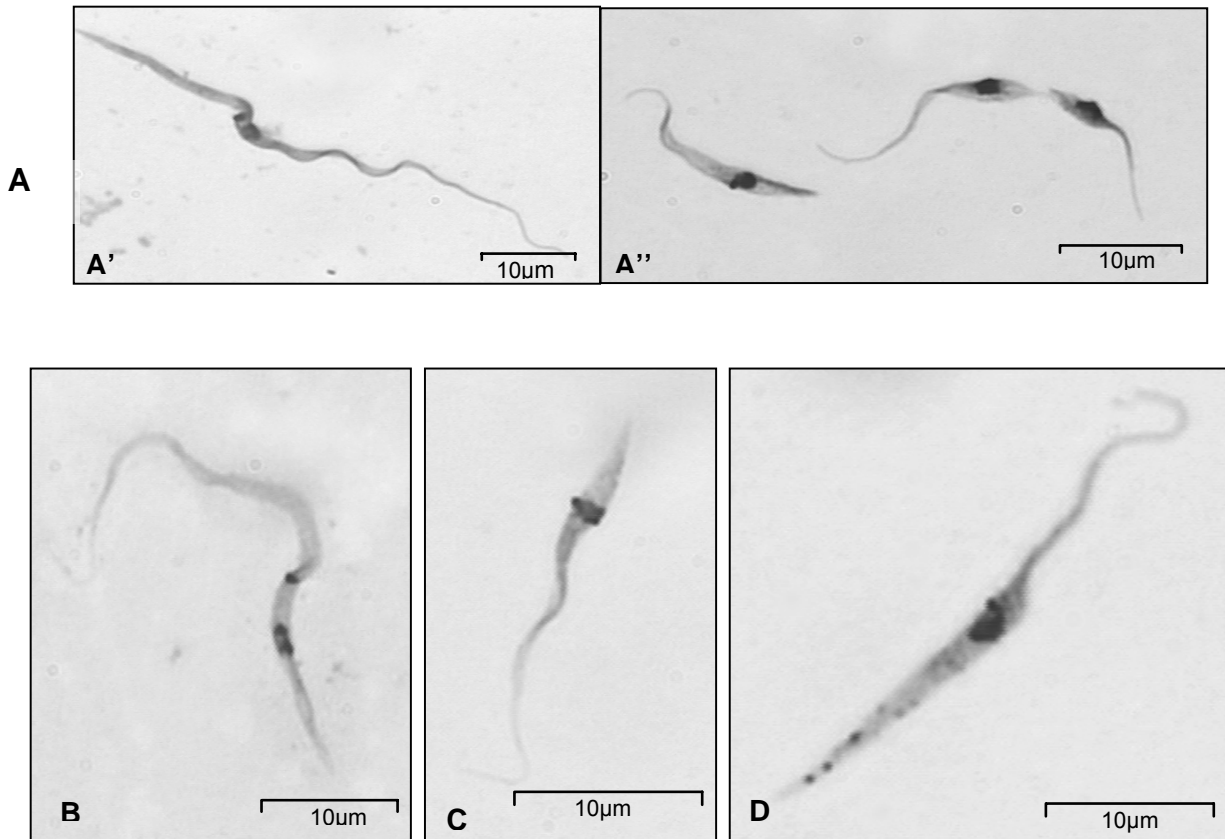


Figura 17: Tripanosomas de meio de cultura LIT, corados pela Giemsa, aumento 1000x. A) cepa RN01 isolada a partir de *R. nasutus* com infecção mista; A') *T. rangeli* isolado da cepa RN01; A'') *T. cruzi* isolado da cepa RN01; B) cepa San Agustin (controle positivo de *T. rangeli*); C) cepa Y (controle positivo de *T. cruzi* grupo II) e D) cepa YuYu (controle positivo de *T. cruzi* grupo I).

Tabela VII: Origem e caracterização molecular das 19 amostras de *Trypanosoma cruzi*, das 2 amostras de *T. rangeli* isoladas e das amostras padrões utilizadas como controles positivos nas reações de PCR.

Amostra	Ecótopo	Ciclo de Transmissão	Hospedeiro	Mini exon
RNAS/BR/2006/RN01*	buriti	Silvestre	<i>Rhodnius nasutus</i>	1
RNAS/BR/2006/RN02	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN03	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN04*	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN05	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN06	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN07	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN08	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN10	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN12	babaçu	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN15	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN17	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN18	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN20	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN21	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN22	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN23	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN24	catolé	“	“	“
RNAS/BR/2006/RN25	catolé	“	“	“
Y		Domiciliar	Homem, fase aguda	2
YuYu		Silvestre	<i>Triatoma infestans</i>	1
San Agustin (<i>T. rangeli</i>)		Domiciliar	Homem	-

*triatomíneos com infecção mista (presença de *T. cruzi* e *T. rangeli*).

4.5. REAÇÃO DE PRECIPITINA

Foram testadas no total, 152 amostras do conteúdo do trato digestivo dos triatomíneos coletados em campo (106 triatomíneos procedentes dos babaçus; dois dos buritis; nove das carnaúbas; 25 dos catolés e 10 das macaúbas). As amostras foram testadas contra anti-soros de ave, cão, gambá, gato, humano, porco e roedor, os únicos disponíveis para este estudo na SUCEN-SP. A reação de precipitina foi reagente em 70 insetos (46,1%), sendo 20 *R. nasutus* reagentes para sangue de ave (13,2%) e 53 para sangue de gambá (34,9%) (tabela VIII). Apenas três exemplares alimentaram-se das duas fontes de alimentação reagentes.

Dos triatomíneos procedentes das palmeiras babaçus, 26 insetos estavam infectados, sendo 18 destes reagentes para gambás, dois exemplares com material insuficiente para a reação e seis amostras não reagiram contra os anti-soros testados. Em relação aos triatomíneos oriundos dos catolés, quatro exemplares estavam infectados, sendo dois insetos com material insuficiente e dois não reagiram contra os anti-soros testados. Trinta triatomíneos não tinham conteúdo suficiente para avaliar a fonte alimentar e 52 insetos não reagiram a nenhum dos anti-soros testados. Sob o ponto de vista epidemiológico, o fato mais importante foi a ausência de reação das amostras testadas contra anti-soro humano.

Tabela VIII: Fonte alimentar identificada pela reação de precipitina em *R. nasutus*, por espécie de palmeira e estágio evolutivo, coletados na região da Chapada do Araripe, Ceará.

Palmeira	Estádio	Resultado					Examinados/ Reagente (%)
		Ave	Ave + Gambá	Gambá	Material insuficiente	Não reagente	
babaçu	ninfas	2	1	14	5	5	106/53 (56,2%)
	adultos	3	zero	33	13	30	
buriti	ninfas	zero	zero	zero	zero	zero	2/0 (0%)
	adultos	zero	zero	zero	zero	2	
carnaúba	ninfas	zero	1	3	zero	zero	9/5 (45%)
	adultos	1	zero	zero	3	1	
catolé	ninfas	2	zero	zero	1	1	25/9 (36%)
	adultos	7	zero	zero	4	10	
macaúba	ninfas	zero	zero	zero	3	1	10/3 (30%)
	adultos	2	1	zero	1	2	
Total	ninfas	4	2	17	9	7	152/70 (46,1%)
	adultos	13	1	33	21	45	

Observação: Total de triatomíneos reagentes para:

ave = 20 (6 ninfas e 14 adultos) e gambá = 53 (19 ninfas e 34 adultos).

4.6. MICROCLIMA

O período das coletas (março e abril/2006) está incluído no período chuvoso da região. Dentre as cidades trabalhadas, Missão Velha e Juazeiro do Norte correspondem aos únicos municípios com altitude de região de caatinga (Fernandes, 1994), sendo encontrada apenas a palmeira carnaúba. Os demais municípios estão inseridos em região serrana, com altitudes acima de 700 metros.

Carnaúba foi a palmeira que apresentou temperatura média mais elevada na axila foliar com 30,1°C (tabela IX). A temperatura da axila foliar dos babaçus e buritis apresentou microclima mais estável, com menor variação de temperatura, enquanto carnaúba e macaúba apresentaram a maior variação térmica (figura 18). A figura 18 apresenta os dados de temperatura das palmeiras. Todas as espécies foram capazes de amenizar a temperatura na axila foliar em relação à temperatura ambiente, favorecendo a colonização triatomínica nas palmeiras.

Tabela IX: Temperatura (°C) medida em cada palmeira na axila foliar, após a derrubada e do ambiente.

Palmeira	Temperatura	
	Axila foliar (X / DP)*	Ambiente (X / DP)*
babaçu	23,3 ± 0,5	27,4 ± 2,4
buriti	25,1 ± 0,9	26,9 ± 1,1
carnaúba	26,2 ± 1,5	30,1 ± 1,4
catolé	23,3 ± 1,1	25,4 ± 1,8
Macaúba-barriguda	24,2 ± 1,6	27,7 ± 2,8
Média geral	24,4 ± 1,6	27,5 ± 2,5

*X / DP = média e desvio padrão

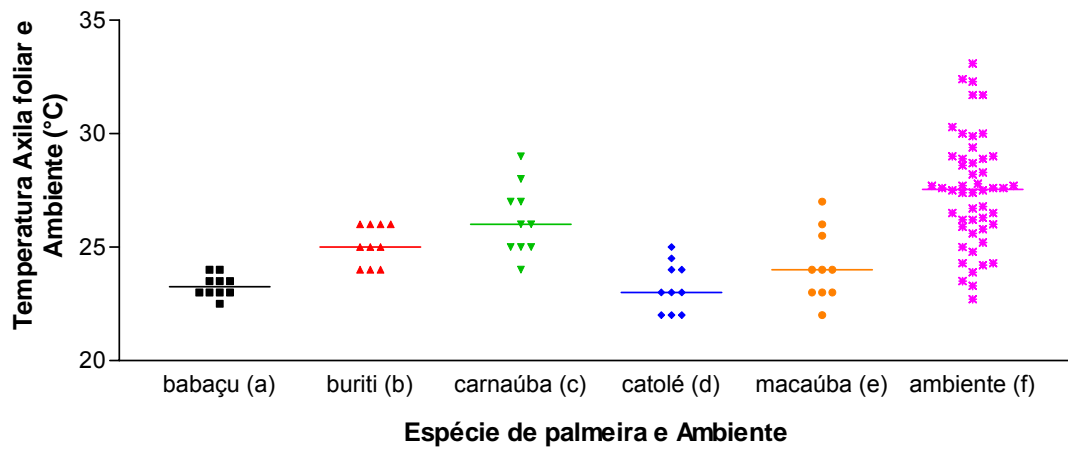


Figura 18: Gráfico representativo da temperatura da axila foliar das cinco espécies de palmeiras e temperatura ambiente. A linha horizontal em cada espécie de palmeira refere-se a mediana das temperaturas.

4.7. FAUNA ASSOCIADA AOS TRIATOMÍNEOS NAS PALMEIRAS

A tabela X apresenta os dados de ocorrência referente aos animais observados nas palmeiras durante a dissecação das mesmas, considerados como possíveis fontes de alimentação para os triatomíneos (figura 19). Foram observadas várias espécies de artrópodes (insetos e aracnídeos), como formigas, cupins, baratas, besouros, gafanhotos, outros Heteroptera, pseudoescopiões, centopéias, aranhas que não puderam ser identificadas. Chamou a atenção a frequência com que foram observadas aranhas caranguejeiras, e centopéias medindo cerca de 20 centímetros.

Tabela X: Frequência absoluta das possíveis fontes de alimentação para os triatomíneos, observadas nas diferentes espécies de palmeiras*.

palmeira	anfíbio	ave ou indícios**	cobra	gambá	lagarto	morcego	Total
babaçu	2	7	zero	1	5	2	17
buriti	2	4	1	zero	1	3	11
carnaúba	zero	2	zero	zero	3	1	6
catolé	1	3	zero	zero	6	zero	10
macaúba	1	2	zero	zero	3	1	7
Total	6	18	1	1	18	7	51

*10 palmeiras de cada espécie

** Presença de ninhos não habitados e/ou somente penas de aves.



Figura 19: Fauna associada aos triatomíneos nas diferentes espécies de palmeiras da Chapada do Araripe, Brasil.

- A) Morcego capturado em um babaçu.
- B) Gambá (*Didelphis albiventris*) habitando um babaçu. Na seta, presença de um lagarto.
- C) Detalhe do gambá capturado com sua prole.
- D) Ninho com cinco filhotes de bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*) em uma carnaúba.
- E) Cobra-cipó que habitava um buriti.
- F) Aranha caranguejeira na folha de um buriti.
- G) Urubu em uma folha do babaçu
- H) Gafanhoto (*Tropidacris cristata*) que habitava uma palmeira carnaúba
- I) Perereca que habitava um buriti entre o pecíolo e a bainha foliar.

4.8. MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS ASAS

Embora tenha sido observado dimorfismo sexual em todas as populações (dados não mostrados), a análise morfométrica foi realizada utilizando juntamente, os machos e as fêmeas de cada grupo (figura 20). A análise do tamanho centróide demonstrou diferença estatística entre as populações (Kruskal-Wallis, $p < 0,01$), sendo os insetos provenientes dos buritis maiores aos demais grupos, e os insetos procedentes dos babaçus menores ($p < 0,05$) (tabela XI).

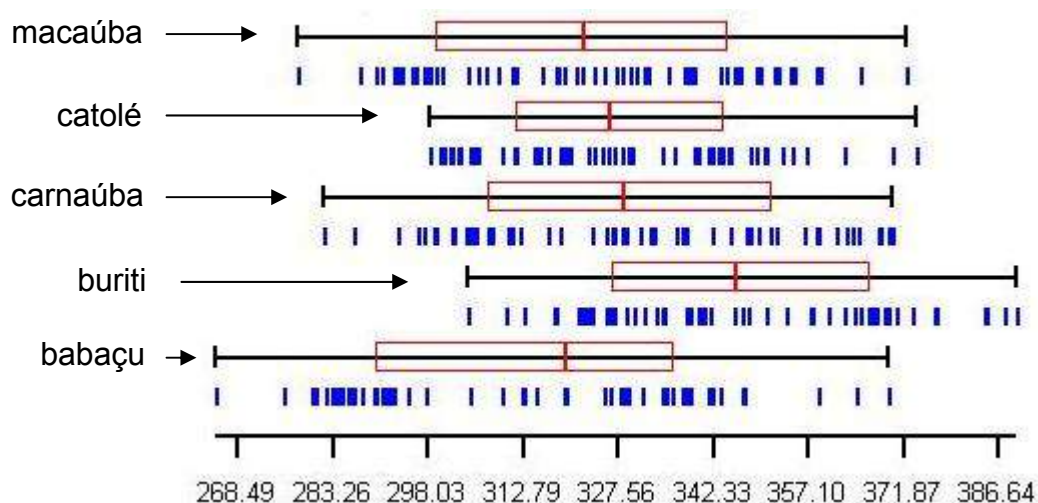


Figura 20: Distribuição dos indivíduos analisados em relação ao Tamanho Centróide (CS). Os nomes das palmeiras indicam a origem dos *R. nasutus* analisados. Cada traço azul representa a asa direita de cada indivíduo. A linha central em cada box plot refere-se a mediana do tamanho centróide de cada grupo.

Tabela XI: Diferenças estatísticas encontradas entre as cinco espécies de palmeiras pesquisadas em relação ao tamanho centróide. Os valores em negrito apontam as diferenças estatísticas significativas.

Palmeira	babaçu	buriti	carnaúba	catolé	Macaúba
babaçu					
buriti	p<0,01				
carnaúba	p<0,01	p<0,01			
catolé	p<0,01	p<0,01	p>0,05		
macaúba	p<0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	

Teste estatístico utilizado: Teste não paramétrico Mann-Whitney.

A análise discriminante (AD) das variáveis de conformação mostrou que a primeira variável canônica contribuiu com 55% da variação entre os grupos, e a segunda variável contribuiu com 29%, no entanto, não foi possível observar separação entre os grupos. Esta análise não conseguiu discriminar os grupos estudados (figura 21), demonstrando grande semelhança os grupos em relação à conformação, o que geralmente é esperado para estudos intrapopulacionais.

A reclassificação baseada nas distâncias de Mahalanobis foi maior para os triatomíneos procedentes dos buritis (85%) e menor para os insetos da macaúba (38%).

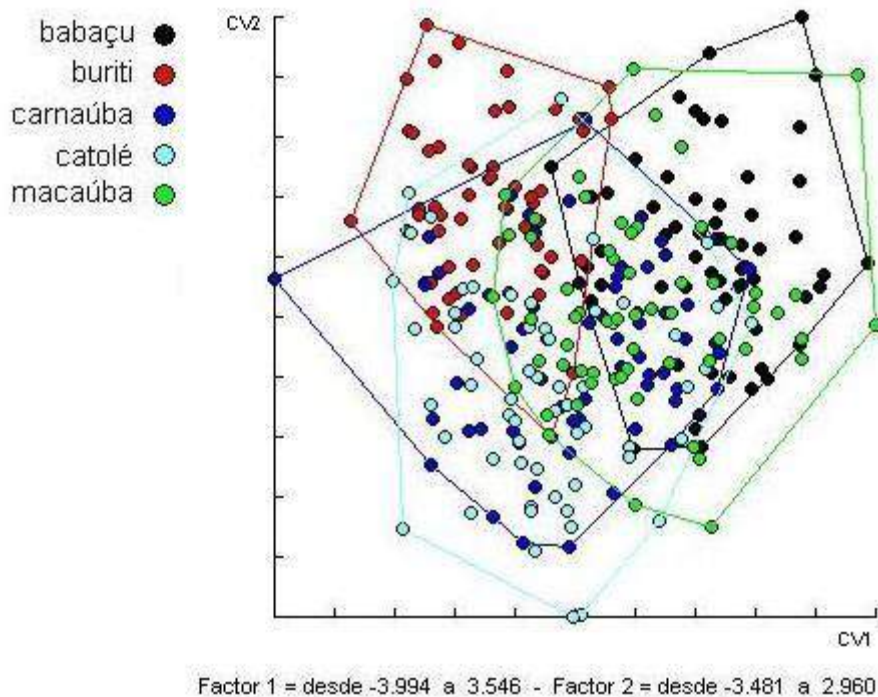


Figura 21: Mapa fatorial da análise discriminante. Os eixos CV1 e CV2 representam a primeira e a segunda variável de conformação (variável canônica), respectivamente. O nome das palmeiras refere-se aos grupos estudados. Cada ponto do gráfico representa um indivíduo.

Apesar da grande semelhança entre os grupos apontada pelo mapa fatorial da análise discriminante, tanto a árvore UPGMA criada a partir das distâncias de Mahalanobis (AD), quanto a árvore UPGMA das distâncias Euclidianas demonstram que os insetos procedentes dos buritis formaram o grupo mais isolado. Porém, estudos complementares, com a utilização de marcadores moleculares, serão necessários para a verificação e determinação das distâncias genéticas e das diferenças intrapopulacionais. Houve a formação de dois agrupamentos: um composto entre os insetos de babaçu com macaubeiras, e outro entre carnaúba e catolé. (figuras 22 e 23). As permutações múltiplas das distâncias de Mahalanobis demonstraram diferenças significativas entre todas as distâncias dos grupos ($p < 0,005$). Da mesma forma, as diferenças foram significativas entre as distâncias Euclidianas.

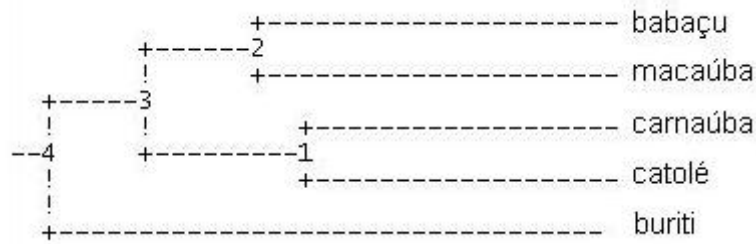


Figura 22: Árvore UPGMA obtida a partir das distâncias de Mahalanobis das variáveis de conformação, derivadas da análise discriminante. Os nomes das palmeiras indicam a procedência das populações de *R. nasutus* estudadas.

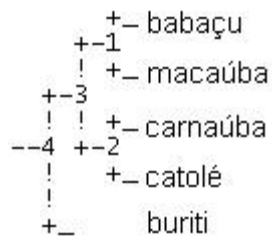


Figura 23: Árvore UPGMA obtida a partir das distâncias Euclidianas das variáveis de conformação, derivadas da análise dos componentes principais comuns. Os nomes das palmeiras indicam a procedência das populações de *R. nasutus* estudadas.

5. DISCUSSÃO

DOENÇA DE CHAGAS NO CEARÁ

Durante algumas décadas, o Estado do Ceará foi muito estudado, abrangendo diferentes contextos que envolvem a doença de Chagas: infestação triatomínica no ambiente silvestre, peri e intra-domiciliar, infecção de mamíferos hospedeiros, inquéritos sorológicos da população e características sócio-ambientais (Alencar, 1987). Este autor encontrou seis espécies de triatomíneos nos municípios pesquisados: *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *T. pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835, *P. lutzii* Neiva & Pinto, 1923, *R. nasutus* e *Psammolestes tertius* Lent & Jurberg, 1965. No município de Crato, Alencar (1987) estudando um pouco sobre a ecologia do *R. nasutus*, em babaçus e macaubeiras, encontrou este triatomíneo naturalmente infectado (índice de infecção 77,8%, n = 9) e associado com gambás e morcegos. Para este autor, apesar de *R. nasutus* não exercer papel na transmissão do *T. cruzi* ao homem, esta espécie está estritamente associado ao ambiente silvestre com os gambás e morcegos.

A condição sócio-econômica de grande parte da população rural e as informações sobre a doença de Chagas e seus vetores eram precárias. As características das casas também eram muito precárias, que segundo Alencar (1987): “as características das casas são típicas de região pobre, sendo o piso e as paredes de barro batido ou ‘taipa’”. Esses fatores favoreceram a domiciliação triatomínica, com elevados índices de colonização no ambiente artificial (peri e intradomicílio). Inquéritos sorológicos realizados no período de 1942 a 1967 no Ceará demonstram que a taxa de positividade média dos municípios pesquisados era de 14,8%. Neste período, os dois municípios cearenses que apresentavam as mais elevadas taxas foram Crato, com 40,7%, seguido de Juazeiro do Norte, com 37,5% (Alencar, 1987).

Embora o controle da transmissão vetorial da DC tenha sido institucionalizado em 1950 pelo Serviço Nacional de Malária, a sistematização e estruturação do controle ao nível nacional foram implantadas somente em 1975, com a criação do Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh) pela SUCAM (Superintendência de Campanhas em Saúde Pública). Nessa época, a área de risco vetorial englobava 36% do território nacional, em 18

estados. Dentre as espécies de triatomíneos catalogadas no Brasil, cinco foram apontadas como tendo participação direta na transmissão domiciliar, sendo o *T. brasiliensis*, espécie autóctone da região Nordeste, considerado o principal vetor na região (Vinhaes & Dias, 2000). O PCDCCh preconiza a borrifração das unidades domiciliares (UD's) infestadas com inseticidas, tendo a infestação domiciliar diminuída gradativamente. A partir dos dados do PCDCCh, Silveira, Feitosa, Borges (1984) catalogaram as espécies de triatomíneos capturadas no ambiente domiciliar de 1942 municípios brasileiros. Nesse período foram encontradas cinco espécies de triatomíneos no estado do Ceará, *P. lutzii*, *P. megistus*, *R. nasutus*, *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*. Com exceção de Santana do Cariri, todos os outros municípios trabalhados no presente estudo foram notificadas quanto à presença do *R. nasutus* no intradomicílio, sendo esta espécie considerada por Alencar (1987) a quarta mais capturada no Ceará.

Em todas as áreas trabalhadas neste projeto, após a coleta dos triatomíneos nas palmeiras, os insetos eram apresentados ao proprietário da localidade e grande parte da população local. Quase a totalidade desses moradores não reconheceu o *R. nasutus*, e não sabiam que esta espécie trata-se de um vetor da doença de Chagas, embora os dados do PCDCCh demonstrem sua ocorrência no peridomicílio (entre 2003 e 2005). Nos últimos anos, na região da Chapada do Araripe, *R. nasutus* é considerada a segunda espécie mais capturada no peridomicílio, com presença também no intradomicílio, perdendo apenas para o *T. pseudomaculata*. Nas localidades trabalhadas, muitos moradores fizeram referência sobre o encontro dentro das casas de um único “procotó”, de coloração preta e de porte maior que, possivelmente, de acordo com as espécies de ocorrência no Ceará parece ser *P. megistus*.

MÉTODOS DE COLETA DOS TRIATOMÍNEOS

Recentemente, Sarquis et al (2004) trabalhando no município de Jaguaruana, região de caatinga no nordeste do Ceará, encontraram *T.*

brasiliensis, *T. pseudomaculata*, *R. nasutus* e *P. lutzi* nos ambientes artificiais (peri e intradomicílio). Destas, somente o *P. lutzi* não foi notificado dentro das casas. A coleta dos triatomíneos no ambiente silvestre foi realizada com a utilização de armadilhas (Noireau et al, 2002), apenas na palmeira carnaúba, a única presente na região. Foram investigadas 523 palmeiras em quatro localidades (infestação de 24,9%) e a única espécie de triatomíneo encontrada nas carnaúbas foi o *R. nasutus*, com índice de infecção de 25%, entretanto o índice global de infecção do *R. nasutus*, incluindo todos os ecótopos analisados, foi de 27,2%. A presença constante do *R. nasutus* no peri e intradomicílio, juntamente com os dados do PCDCh, reforçam a possibilidade desta espécie ser considerada uma potencial vetora da doença de Chagas humana e entre os reservatórios silvestres.

VARIAÇÃO CROMÁTICA EM *R. NASUTUS*

A distribuição geográfica do *R. nasutus* é restrita à região Nordeste brasileira, englobando os Estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte. (Lucena & Lima-Borba, 1977; Carcavallo et al, 1998; Galvão et al, 2003) Embora *R. nasutus* esteja incluído em um complexo de espécies, os espécimes coletados foram facilmente identificados através da morfologia, embora tenha sido observada ligeira variação cromática. Os triatomíneos coletados nas carnaúbas apresentaram coloração padrão de acordo com a descrição da espécie (avermelhada) (Lent & Wygodzinsky, 1979) enquanto os insetos das demais espécies de palmeiras apresentaram coloração castanha. Gaunt & Miles (2000) suspeitam que a variação no padrão de coloração dos triatomíneos, principalmente de algumas espécies do gênero *Rhodnius*, pode ser um indicativo da influência do habitat (espécie de palmeira) em relação aos triatomíneos. Nossas observações em campo corroboram com essa teoria, pois principalmente nas carnaúbas a coloração avermelhada dos *R. nasutus* (ninfas e adultos) é extremamente semelhante às fibras existentes na copa das palmeiras, ao caule e à base das folhas, possibilitando que *R. nasutus* se camufle nessas estruturas da palmeira (figura 5, página 34). Para

as demais palmeiras de tronco e axilas foliares mais escuras, *R. nasutus* também apresentaram padrão mais escuro.

R. nasutus é apontada por Abad-Franch et al (2005) como uma espécie especialista, associada apenas à palmeira carnaúba e ninhos de pássaros. No entanto, a partir do presente estudo, podemos incluir o *R. nasutus* juntamente com outras espécies do gênero (e.g. *R. neglectus*, *R. pictipes* Stål, 1872, *R. prolixus*, *R. robustus*), no grupo das espécies generalistas, pois foi encontrada nas cinco espécies de palmeiras pesquisadas na região da Chapada do Araripe, sendo a macaúba-barriguda sem nenhuma informação na literatura, até então, sobre infestação triatomínica.

PALMEIRAS COMO ECÓTOPO PARA *R. NASUTUS*

Cada espécie de palmeira apresenta uma arquitetura própria e representa um ecossistema muito peculiar. Entretanto, em todas as cinco espécies de palmeiras, a grande maioria dos triatomíneos foi capturada entre a bainha foliar e, às vezes, no início do pecíolo.

Como um dos objetivos do presente trabalho foi determinar a densidade populacional entre as espécies de palmeiras, a metodologia utilizada através da dissecação das palmeiras e coleta manual dos triatomíneos foi a mais adequada, pois outras metodologias (coleta manual, sem dissecação, na copa das palmeiras ou utilização de armadilhas) podem não garantir a captura total da fauna triatomínica. Uma vez que os barbeiros encontram-se em locais de difícil acesso para a captura sem dissecação, utilizada por Gurgel-Gonçalves et al (2004a), e devido ao grande porte de algumas espécies de palmeiras, a utilização de armadilhas, como feito por Sarquis et al (2004), pode não atrair todos os triatomíneos.

Somente recentemente algumas espécies de palmeiras em outras regiões do Ceará (Serra da Meruoca) estão sendo estudadas em relação à sua associação com triatomíneos do gênero *Rhodnius* onde destacam-se o babaçu em regiões serranas e a carnaúba na caatinga (Diotaiuti et al., 2005).

Palmeiras do gênero *Attalea* já vêm sendo estudadas em várias regiões brasileiras e em outros países das Américas Central e do Sul, servindo como ecótopo para várias espécies de triatomíneos, principalmente do gênero *Rhodnius* (Barretto, 1979; Romana et al., 1999; Teixeira et al., 2001; Diotaiuti et al., 2005; Sanchez-Martin et al., 2006). Romaña et al (1999) investigando possíveis ecótopos silvestres de *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 no Panamá, representados por cinco espécies de palmeiras, apontam a *Attalea butyracea* como o principal ecótopo deste triatomíneo na região, principalmente devido à alta densidade triatomínica encontrada nesta palmeira. No presente trabalho, babaçu foi a palmeira que obteve a maior infestação por *R. nasutus*, maior densidade triatomínica na região da Chapada do Araripe, bem como uma grande diversidade de possíveis fontes alimentares (aves e mamíferos). Dados semelhantes já foram descritos por Barreto (1979) em Uberaba, Minas Gerais em babaçus infestados por *R. neglectus*. Os triatomíneos foram capturados no tronco das palmeiras, debaixo das bainhas das folhas, mas parece que entre as espécies de palmeiras estudadas, babaçu apresentou o maior número de barbeiros nos cachos dos cocos e brácteas. A forma de inserção das folhas do babaçu no caule, constituindo um ambiente aparentemente bastante protegido, provavelmente permite maior estabilidade microclimática, servindo de abrigo para animais hospedeiros da doença de Chagas e refúgios para os triatomíneos. Lorenzo et al., (2003) trabalhando com várias espécies de palmeiras no estado do Tocantins, e utilizando sensores programáveis de temperatura e umidade, demonstram que as palmeiras do gênero *Attalea* possuem menor variação climática, mantendo um microclima muito estável e favorável para os triatomíneos.

Por outro lado, a macaúba-barriguda foi a espécie de palmeira com o menor índice de infestação. Diotaiuti & Dias (1984) estudando outra espécie de macaubeira (*Acrocomia sclerocarpa*, hoje *A. aculeata*) em municípios da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais, encontraram um índice de infestação de 60,5% por *R. neglectus*, estando algumas palmeiras co-habitadas por *P. megistus*. Embora tenham sido encontradas várias possíveis fontes de alimentação para *R. nasutus* nas macaubeiras da região da Chapada do Araripe, talvez o que justifica sua menor taxa de infestação em relação às

demais palmeiras seja a presença de enormes espinhos, distribuídos por toda a palmeira, desde o início do caule até a bainha foliar, pecíolos e folhas, o que pode dificultar a instalação de um número maior de animais que sirvam de fontes de alimentação para os barbeiros. Nesta espécie de palmeira, a variação microclimática na axila foliar foi ampla, fato já demonstrado para *A. aculeata* por Lorenzo et al (2003) em Tocantins, o que possivelmente pode estar relacionado a uma arquitetura da planta que constitua um ambiente menos estável.

Embora a infestação encontrada nos buritis tenha sido alta (90%), a densidade triatomínica foi a mais baixa entre as espécies de palmeiras pesquisadas (19 triatomíneos). Esta palmeira é mais difícil para a coleta dos triatomíneos, por dois motivos: i) devido ao seu grande porte, tendo as bases foliares muito grandes, exigindo a movimentação da palmeira durante todo o trabalho de dissecação da mesma, e ii) local de ocorrência: os buritis ocorrem em solos alagados (brejos) e pantanosos, sendo popularmente conhecida como palmeira-do-brejo. Em algumas localidades, muitas famílias em Santana do Cariri-CE vivem da extração da polpa do fruto do buriti para a venda ou da fabricação do doce. Assim, somente era permitida a derrubada dos espécimes machos, que não produzem os cachos dos cocos, limitando o estudo às palmeiras com menor número de esconderijos para os triatomíneo, ocasionando uma sub-avaliação da infestação. Além disso, também podem influenciar nos resultados: i) o formato das folhas do buriti é em forma de leque e os pecíolos formam uma espécie de “calha”, onde acumula água no interior da palmeira, local onde os barbeiros ficam alojados ii) por ocorrer em solos pantanosos, e por apresentar a copa aberta, no momento da queda da palmeira a região interna de alguns dos pecíolos, bem próximos à axila foliar fica preenchida de lama, impossibilitando a procura dos triatomíneos.

Todas as palmeiras estudadas foram capazes de amenizar a temperatura na axila das folhas, em relação ao ambiente externo, reduzindo claramente as amplitudes, principalmente a amplitude máxima, favorecendo a infestação triatomínica. Em relação às medianas, não foram estatisticamente diferentes do ambiente externo as temperaturas das axilas das folhas do buriti e carnaúba.

Assim como o buriti, as folhas da carnaúba são em formato de leque (palmatipartida), no entanto, com bainhas bem menores e estreitas, inseridas alternadamente ao longo do caule, permitindo maior entrada de radiação solar por toda a copa. As temperaturas na axila foliar foram as maiores registradas entre todas as palmeiras investigadas e com elevada amplitude, variando a temperatura de acordo com o meio externo, mas, ainda assim, mantendo maior umidade em relação ao ambiente. Provavelmente, um fator determinante para a ocorrência de *R. nasutus* nas carnaúbas seja a umidade do ar, já que os artrópodes perdem mais água em ambientes mais secos, utilizando o fechamento dos espiráculos para o seu equilíbrio hídrico (Edney, 1967). A palmeira carnaúba é incriminada como ecótopo natural de *R. nasutus*. Silva & Silva (1989) verificando a influência da temperatura na biologia deste triatomíneo, demonstrou uma significativa redução no ciclo evolutivo quando os insetos eram mantidos a 30°C (comparados com 25°C). Nesta temperatura, além da diminuição no ciclo, os insetos ingeriam maior quantidade de sangue e havia maior fecundidade. Considerando que na carnaúba as condições sejam semelhantes a este experimento no laboratório, pode-se concluir pela grande adaptação do *R. nasutus* a esta palmeira, permitindo-lhe sobreviver em condições inviáveis para outras espécies de triatomíneos. Provavelmente, um fator importante determinação da densidade triatomínica nas palmeiras seja a disponibilidade de fontes alimentares e refúgios para os insetos. A carnaúba foi a única espécie de palmeira que não apresentou triatomíneos infectados. Dentre as cinco espécies de palmeiras pesquisadas, a arquitetura da carnaúba configura menor número de esconderijos para os triatomíneos, o que também pode estar relacionado à população de vertebrados que buscam abrigo na copa desta palmeira, interferindo negativamente na infecção dos triatomíneos. A distribuição desta palmeira foi restrita às menores altitudes (cerca de 360 metros), em solos arenosos, muitas vezes em locais alagados no período chuvoso, ensolarados e com elevadas temperaturas. Trata-se de uma palmeira que, na região da Chapada do Araripe, é preservada por muitos moradores que vivem do artesanato realizado a partir das folhas jovens, confeccionando chapéus e outros objetos. É interessante assinalar que a coleta destas folhas é realizada subindo-se na palmeira e apoiando o abdômen na copa da mesma

para equilibrar-se. Considerando a hiperatividade de *R. nasutus*, pode ser que neste momento haja possibilidade do inseto picar o indivíduo. Este fato pode ser interessante e merece investigação.

O índice de infestação dos catolés foi igual ao do buriti (90%), mas diferiu significativamente em relação à densidade populacional, sendo a segunda palmeira com maior número de *R. nasutus* coletados. O índice de infecção dos triatomíneos foi de 19,6%. Pelas limitações da bateria de anti-soros utilizadas para o processamento da reação de precipitina, não foi possível comprovar a importância de alguns animais encontrados nas copas das palmeiras como fonte de alimentação para os triatomíneos, conforme os resultados obtidos por Diotaiuti & Dias (1984) em Minas Gerais. Em um ninho de bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*) presente em um catolé foram encontrados 32 espécimes de *R. nasutus*, quase todos ingurgitados. Na mesma palmeira, alguns triatomíneos estavam infectados. Este fato demonstra que hospedeiros da DC freqüentam as palmeiras. Neste caso, vários moradores das localidades trabalhadas no município de Crato, relataram a existência de marsupiais (gambás) nas localidades, que provavelmente possam atuar como agentes dispersores da DC e até mesmo, dos triatomíneos no ambiente silvestre. Catolé foi a segunda espécie de palmeira com maior número de triatomíneos e apresentou em quase todos os espécimes répteis e anfíbios.

Abad-Franch et al (2005) trabalhando com *Phytelephas aequatorialis* infestadas por *R. ecuadoriensis* Lent & León, 1958, região oeste do Equador, correlacionaram a quantidade de matéria orgânica em decomposição nas palmeiras (folhas mortas, fibras) e a densidade triatomínica. Estes autores encontraram maior densidade em palmeiras com maior quantidade de matéria orgânica. Apesar desta correlação não ter sido observada neste estudo em campo, nossas observações parecem estar de acordo com estes dados, considerando-se que quanto maior a palmeira, maior é a quantidade de matéria orgânica disponível.

R. nasutus é considerada uma espécie de triatomíneo em vias de adaptação ao ambiente artificial. Na região estudada, esta espécie tem sido freqüentemente coletada em ambientes artificiais conforme demonstram os dados do PCDCh, inclusive de exemplares infectados pelo *T. cruzi*. Sarquis et

al (2004) apontam que a presença do *R. nasutus* no intradomicílio seja devido à proximidade das palmeiras às residências. Desta forma, os insetos possivelmente invadem o intradomicílio a procura de alimento, atraídos à noite pela luz, conforme já descrito na região amazônica para o *R. brethesi* (Coura et al., 1994).

PREFERÊNCIAS ALIMENTARES DOS TRIATOMÍNEOS

Apesar do hábito hematófago obrigatório dos triatomíneos, Brumpt (1914) e Lent & Wygodzinsky (1979) relatam a possibilidade de cleptofagia, e até mesmo o canibalismo, entre estes insetos. Vários estudos têm demonstrado a preferência alimentar dos triatomíneos no ambiente silvestre e ambientes artificiais, assim a avaliação do comportamento alimentar dos triatomíneos torna-se uma ferramenta de pesquisa importante para o esclarecimento da epidemiologia da DC. Algumas espécies de triatomíneos geralmente estão associadas a poucas fontes de alimentação, enquanto outras espécies são bastante ecléticas. Diotaiuti & Dias (1984) verificando as fontes alimentares dos *R. neglectus* capturados em macaubeiras nas proximidades de Belo Horizonte-MG, demonstram que esta espécie de triatomíneo é bem eclética. O estudo da reação de precipitina reagiu com animais de sangue frio, aves e mamíferos, incluindo o homem. Entretanto, o sangue de ave foi o alimento mais constante para *R. neglectus*. Barretto (1979) avaliando as fontes alimentares de triatomíneos em diversas espécies de palmeiras encontraram maior frequência em sangue de gambá, morcegos e roedor, conforme indicam os resultados da precipitina, sendo estes animais importantes veiculadores de tripanosomatídeos. Em nossos estudos, utilizando a metodologia da reação de precipitina e testando as amostras contra anti-soros de ave, cão, gambá, gato, humano, porco e roedor, somente foi possível a identificação de duas fontes alimentares (ave e gambá) nas cinco espécies de palmeiras estudadas. Todos os anti-soros testados reagiram ao respectivo soro homólogo diluído, a pelo menos, 1:10.000 e não reagiram aos soros heterólogos diluídos a 1:10, demonstrando alta sensibilidade da técnica. Cinquenta e dois espécimes não

reagiram aos anti-soros testados, dados que, provavelmente, podem sugerir a alimentação destes triatomíneos em outros vertebrados que não constam da bateria de anti-soros utilizada. Não deve ser completamente descartada a possibilidade de que os triatomíneos exerçam o predatismo, se alimentando da hemolinfa de outros artrópodes que fazem parte da biocenose da palmeira, como observado para outras espécies de triatomíneos (Salvatella et al., 1994; Sandoval et al., 2000; Lent & Wygodzinsky, 1979). Um fator importante observado a partir desses resultados foi o elevado número de insetos com material insuficiente, o que pode estar relacionado ao período de dispersão das aves e escassez de hospedeiros vertebrados nas palmeiras.

Talvez uma possível fonte de alimentação dos triatomíneos nas diferentes palmeiras da Chapada do Araripe sejam os morcegos. Somente nos catolés não foi observada a presença deste animal e nos buritis, era constante sua presença, sendo contabilizados mais de 30 morcegos em uma única palmeira dissecada.

TRYPANOSOMA CRUZI e TRYPANOSOMA RANGELI

O *T. rangeli* foi anteriormente descrito no Nordeste brasileiro por Lucena & Vergetti (1973) em fezes de *P. megistus*, no estado de Alagoas, e por Barrett & Oliveira (1977) em *R. domesticus*, na Bahia, com base em características morfológicas. Possivelmente, a transmissão do *T. cruzi* e do *T. rangeli* aos triatomíneos na região da Chapada do Araripe está associada fortemente ao gambá, conforme demonstram os dados de precipitina. O índice de infecção por tripanosomatídeos encontrado no tubo digestivo dos triatomíneos foi de 16,8% (n=64). O *T. rangeli* é um parasito patogênico para os triatomíneos e o único capaz de se instalar na hemolinfa e glândulas salivares dos triatomíneo (D'Alessandro & Saraiva, 1992). Optamos em fazer o exame da hemolinfa somente no LATEC, pois o isolamento destes necessita ser imediato e em condições estéreis. Desta forma, foi possível examinar apenas os insetos sobreviventes (n=26). O índice de infecção pelo *T. rangeli* encontrado na hemolinfa foi de 7,7%. Devido à grande variabilidade morfológica que *T. rangeli*

apresenta nas diferentes formas evolutivas, o diagnóstico específico é difícil por meio da morfologia. Além disso, também dificulta o diagnóstico na possibilidade de infecções mistas com o *T. cruzi*, tanto no hospedeiro vertebrado quanto no inseto vetor. Pelas facilidades oferecidas pela técnica da biologia molecular via PCR, a caracterização dos parasitos isolados neste trabalho foi realizada utilizando como marcador molecular, uma região intergênica do gene do mini-exon (Souto et al, 1996; Grisard et al, 1999). Esta metodologia mostrou-se específica tanto para a caracterização das cepas de *T. cruzi*, quanto para *T. rangeli*, não apresentando reações cruzadas, nem resultados duvidosos. Dois espécimes de *R. nasutus* estavam com infecção mista, porém em nenhum destes exemplares o *T. rangeli* chegou a invadir as glândulas salivares.

Cepas de tripanosomatídeos podem apresentar diferentes comportamentos nos insetos vetores. Machado et al (2001), testando a suscetibilidade de *R. prolixus*, *R. neglectus*, *R. nasutus* e *R. domesticus* com três diferentes cepas de *T. rangeli*, demonstraram maior infectividade nas espécies cuja distribuição geográfica se sobrepõe ao local de descrição das cepas. Sessenta dias após o repasto sangüíneo infectante em camundongos, 100% dos *R. domesticus* apresentaram nas glândulas salivares formas de *T. rangeli* de uma cepa isolada de um roedor em Santa Catarina; no mesmo período pós-repasto, esta mesma espécie de triatomíneo não apresentou nenhum inseto com infecção nas glândulas salivares com as cepas Macias, isolada de paciente chagásico, via xenodiagnóstico e Choachi, isolada de *R. prolixus* (Steindel et al, 1994). Guhl et al (2002) observaram que cepas de *T. rangeli* isoladas de *R. colombiensis* Mejia, Galvão & Jurberg, 1999 e de *R. pallescens* foram incapazes de invadir e se desenvolverem dentro das glândulas salivares de *R. prolixus*, o que reforça a existência de um relacionamento complexo entre parasito-vetor. Vallejo et al (2003) divide *T. rangeli* em dois grupos filogenéticos associados com vetores específicos, na Colômbia e em outros países Latino Americanos. As espécies de *Rhodnius* são mais suscetíveis à infecção pelo *T. rangeli* (D'Alessandro & Hincapie, 1986), já sendo relatada infecção experimental de 12 entre 14 espécies testadas ou encontradas naturalmente infectadas (Guhl et al., 2002). No presente estudo, o fato de *T. rangeli* não ter sido detectado nas glândulas salivares de *R. nasutus*

pode estar relacionado à suscetibilidade da espécie de triatomíneo à cepa ou relacionado com o tempo de infecção.

MORFOMETRIA

A morfometria geométrica pode ser considerada uma ferramenta útil na detecção da variação fenotípica resultante de causas genéticas ou ambientais. Esta técnica possui a vantagem sobre a morfometria tradicional, pois a morfometria geométrica é fundamentada em uma estatística denominada Análise de Procrustes. Nesta análise, a partir das coordenadas dos pontos de referência, pode-se construir uma configuração geométrica da estrutura analisada (Jaramillo & Dujardin, 2006). A partir de nossas análises, o tamanho centróide foi estatisticamente diferente entre os grupos. Os triatomíneos procedentes dos buritis foram nitidamente maiores aos demais grupos e os insetos do grupo babaçu, menores aos demais. Jaramillo & Dujardin (2006) admitem que as causas mais freqüentes de tamanho entre indivíduos da mesma espécie sejam fisiológicas.

Na análise discriminante, a primeira variável de conformação é responsável pela maior parte da variabilidade. Em nosso estudo, esta variável contribuiu com 55% e foi possível observar uma ligeira separação dos insetos procedentes de babaçus e macaúbas. A segunda variável de conformação contribuiu com 29% da variabilidade dos grupos, mas não foi possível observar separação entre os mesmos. Na análise discriminante, a árvore UPGMA, obtida pelas distâncias de Mahalanobis, apontou o grupo de *R. nasutus* procedentes dos buritis como sendo o mais externo, demonstrando, possivelmente, ser este o grupo mais distante geneticamente. No entanto, os demais grupos formaram agrupamentos, sendo o babaçu mais próximo geneticamente de macaúba, e carnaúba mais próximo do catolé. Possivelmente, este fato pode ser explicado pela distribuição geográfica das espécies de palmeiras entre os grupos estudados. Na região da Chapada do Araripe, babaçu e macaúba são palmeiras que ocorrem em simpatria. Alguns dos triatomíneos coletados nessas duas espécies de palmeiras foram

procedentes da mesma localidade. Assim, o fato destes grupos de insetos serem muito próximos geneticamente pode ser devido ao fluxo gênico de *R. nasutus* entre babaçu e macaúba, o que merece ser investigado com maior cautela utilizando marcadores moleculares.

Diotaiuti et al (2005) sugerem que as características ambientais de cada espécie de palmeira possam ser um fator relevante para o tamanho dos insetos. Estes autores, utilizando a morfometria tradicional da cabeça e comparando *R. nasutus* procedentes de babaçus e de carnaúbas, verificaram diferenças no tamanho dos insetos, sendo os triatomíneos dos babaçus muito maiores que os das carnaúbas. Neste estudo, nossos dados apontam como maiores os insetos dos buritis. Esta espécie de palmeira ocorre em grande quantidade no município de Santana do Cariri, aproximadamente 100km de distância das demais espécies de palmeiras, e muito próxima à Floresta Nacional do Araripe, local com grande diversidade de animais, incluindo mastofauna. Possivelmente, o isolamento geográfico e a diversidade de fontes alimentares para os triatomíneos ao redor das localidades trabalhadas possam ter influenciado no tamanho dos barbeiros.

CONSIDERAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA

Os dados aqui apresentados mostram a existência de uma grande população de *R. nasutus* nos palmeirais da Chapada do Araripe. Considerando a extensão destes palmeirais, a densidade triatomínica deve ser, provavelmente, surpreendente, principalmente nos babaçus e catolés. Estes fatores associados aos dados do PCDCh, faz da Chapada do Araripe uma importante área de transmissão da doença de Chagas silvestre. Fora o processo já bem descrito de colonização das casas e transmissão vetorial do *T. cruzi*, os achados de formas alternativas de transmissão na Amazônia (Coura et al., 1994) e no Equador (Aguilar et al., 1999) devem ser investigados, na perspectiva da vigilância epidemiológica da DC na Chapada do Araripe, conforme já sugerido por Sarquis et al. (2004).

6. CONCLUSÕES

- A única espécie de triatomíneo encontrada em 50 palmeiras da região da Chapada do Araripe foi *R. nasutus*.
- Foi observada diferença cromática nos *R. nasutus* das diferentes espécies de palmeiras. Os triatomíneos coletados nas carnaúbas foi o único grupo que apresentou coloração avermelhada, típica da descrição da espécie.
- A infestação das palmeiras pelos triatomíneos na amostra estudada foi elevada (86%).
- As maiores densidades triatomínicas estão relacionadas às palmeiras babaçu e catolé (mediana de 19 e 11,5 triatomíneos/palmeira positiva, respectivamente).
- Neste estudo, em todas as espécies de palmeiras, exceto na carnaúba foram encontrados *R. nasutus* naturalmente infectados pelo *T. cruzi*.
- As cepas de *T. cruzi* isoladas dos triatomíneos pertenciam ao grupo I, típica de cepas circulantes no ambiente silvestre.
- Relatamos pela primeira vez a ocorrência de *T. rangeli* no estado do Ceará, parasitando *R. nasutus*, ampliando ainda mais a área de ocorrência deste tripanosomatídeo.
- Neste estudo a reação de precipitina foi reagente em 70 (46,1%) insetos, sobre um total de 152 examinados, sendo 13,2% reagentes para ave e 34,9% reagentes para gambá. Outras possíveis fontes de alimentação como anfíbios, aves, cobra, lagartos e morcegos foram detectadas em 29 das 50 palmeiras estudadas.
- Os dados de precipitina sugerem que os gambás foram potenciais reservatórios do *T. cruzi* e *T. rangeli* no ambiente silvestre.
- Todas as espécies de palmeiras foram capazes de amenizar a temperatura da axila das folhas, local principalmente colonizado por triatomíneos em relação ao ambiente externo, tendo os babaçus apresentado menores amplitudes.
- Na análise morfométrica, os triatomíneos procedentes dos buritis foram maiores que os demais grupos de insetos.

- *R. nasutus* é um triatomíneo não somente adaptado à caatinga, mas também ocorre em regiões serranas, consideradas como remanescentes de matas úmidas e infestando as mais diversas espécies de palmeiras.
- Nossos resultados sugerem a existência de uma enorme área de transmissão enzoótica de *T. cruzi* e *T. rangeli* mantida pelo *R. nasutus* com capacidade de infestação em ambientes artificiais, o que pode acarretar risco para a população local.
- Sugerimos às autoridades locais a instalação de vigilância entomológica na região, com treinamento das comunidades e da equipe de saúde para identificação, notificação e combate de focos triatomínicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD-FRANCH, F; PAUCAR, A; CARPIO, C; CUBA-CUBA, CA; VALENTE, MA; MILES, M.A. Biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Ecuador: Implications for the Design of Control Strategies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96(5): 611-620, 2001.

ABAD-FRANCH, F; PALOMEQUE, FS; AGUILAR, HM & MILES, MA. Field ecology of sylvatic *Rhodnius* populations (Heteroptera, Triatominae): risk factors for palm tree infestation in western Ecuador. *Trop Med Intern Health*. 10: 1258-1266, 2005.

AGUILAR HM, ACAD-FRANCH F, RACINES J & PAUCAR A. Epidemiology of Chagas disease in Ecuador. A brief review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 94: 387-393, 1999.

ALENCAR JE. História Natural da Doença de Chagas no Ceará. Imprensa Universitária, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 1987.

ANONYMOUS. Recommendations from a Satellite Meeting. International Symposium to commemorate the 90th anniversary of the discovery of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 94 (Suppl. I): 429-432, 1999.

BAGNOLI E. Projeto Araripe – 1ª parte: Conhecendo o Araripe: Atividades produtivas da população. Turismo, Ecoturismo, Turismo Cultural e Científico. In: *Projeto Araripe*. [s.l]: [s.n.], p. 292-318, 1998

BARRETT TV & OLIVEIRA TS. A Trypanosoma indistinguishable from *Trypanosoma rangeli* in the haemolymph of *Rhodnius domesticus* from Brazil. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 71: 445-446, 1977.

BARRETT TV. Current research on Amazonian Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83 (suppl I): 441-447, 1988

BARRETTO MP. Epidemiologia. In: Brener, Z. & Z. Andrade, *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, cap. 3, p. 89-151, 1979.

BRUMPT E. Importance du cannibalisme et de la coprophagie chez les Réduvidés hématophages (*Rhodnius*, *Triatoma*) pour la conservation des Trypanosomes pathogènes en dehors de l'hôte vertébré. Bull Soc Pathol Exot. 7: 702-705, 1914

CALZADA JE, PINEDA V, MONTALVO E, ALVAREZ D, SANTAMARIA AM, SAMUDIO F, BAYARD V, CACERES L & SALDANA A. Human trypanosome infection and the presence of intradomicile *Rhodnius pallescens* in the western border of the Panama Canal, Panama. *Am J Trop Med Hyg.* 74:762-5, 2006.

CAMARGO EP. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 6(3): 93-100, 1964.

CARCAVALLO RU; CURTO DE CASAS SI; SHERLOCK IA; GALÍNDEZ GIRÓN I; JURBERG J; GALVÃO C, MENA SEGURA CA & NOIREAU F. Distribuição geográfica e dispersão altitudinal. In: *Atlas of Chagas' disease vector in the Americas*. (RU. Cacavallo, I. Galíndez Girón, J. Jurberg & H. Lent org.). Editora Fiocruz – Rio de Janeiro, vol. III: p.747-792, 1998.

CAVALCANTE A. Jardins suspensos no sertão. *Scientific American Brasil*, São Paulo, n. 32, janeiro, 2005

COSTA J & FELIX M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 102: 87-90, 2007.

COSTA J, ARGOLO A, FELIX M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa* 1385: 47-58, 2006.

COSTA VD, CAMPELLO NETO MSC, COSTA FILHO VD & SOUZA FJA. Projeto Araripe – 1ª parte: Recursos Naturais e Patrimônio: Recursos Hídricos. In: *Projeto Araripe*. [s.l]: [s.n.], p. 488-586, 1998

COURA JR, BARRETT TV, ARBOLEDA MN. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? *Rev Soc Bras Med Trop* 27(4): 251-253, 1994.

- D'ALESSANDRO A. Biology of *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli* Tejera, 1920. In: Biology of Kinetoplastida. (WHR Lumsden and DA Evans, eds.), vol. 1. Academic Press, London, p.327-403, 1976.
- D'ALESSANDRO A & HINCAPIE, O. *Rhodnius neivai*: a new experimental vector of *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg.* 35: 512-514, 1986.
- D'ALESANDRO A & SARAIVA NG. *Trypanosoma rangeli*. In: Parasitic Protozoa, 2nd ed., Vol. 2, Academic Press, San Diego. p. 1-54, 1992.
- DEANE LM. Novo hospedeiro de tripanosomas dos tipos *cruzi* e *rangeli* no Estado do Pará. O marsupial *Metachirops opossum opossum*. *Rev Bras Malar Doenças Trop.* 10: 531-541, 1958
- DIAS FBS, FARIA TCM, PAULA AS, LORENZO, MG, BEZERRA CM & DIOTAIUTI L. Variabilidade de *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera:Reduviidae) provenientes de carnaúbas e babaçus, Ceará, Brasil.. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, Porto Alegre, RS, 2005.
- DIAS, JCP. Control of Chagas disease in Brazil. *Parasitol Today*, 3: 336-341, 1987.
- DIAS JCP. Epidemiologia. In: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M. *Trypanosoma cruzi* e a Doença de Chagas, 2. ed. Rio Janeiro, Guanabara Koogan, p. 48-74, 2000.
- DIOTAIUTI L & DIAS JCP. Ocorrência e biologia do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em macaubeiras da periferia de Belo Horizonte-MG. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79: 293-301, 1984.
- DIOTAIUTI L, SILVEIRA AC & ELIAS M. Sobre o encontro de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859, em macaubeiras. *Rev Bras Malar Doenças Trop*, 36: 11-14, 1984.
- DIOTAIUTI L, SILVEIRA AC, MATOS CA & ELIAS M. Estudo do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em ecótopos silvestres do Estado de Goiás, Brasil. XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 1985.

DIOTAIUTI L, SILVEIRA AC, ELIAS M & STEINDEL M. The possibility of occurrence of *Trypanosoma rangeli* in the state of Tocantins, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 87(3): 451, 1992.

DIOTAIUTI L, LORENZO MG, DIAS FBS, BEZERRA CM, GARCIA MH, PAULA AS. Influência da espécie de palmeira sobre o tamanho de *Rhodnius nasutus* (Stål, 1859) provenientes de carnaúbas ou babaçus do Ceará, Brasil. In: *XLI Congresso Soc Bras Med Trop*, 2005, Florianópolis, SC. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 38. p. 44, 2005.

DUJARDIN JP & SLICE, DE. Contributions of Morphometrics to Medical Entomology. In: *Encyclopedia of Infectious Disease – Modern Methodologies*, 2006.

EDNEY EB. Water balance in desert arthropods. *Science*. 156: 1059-1066, 1967.

FELICIANGELI MD, DUJARDIN JP, BASTRENTA B, MAZZARRI M, VILLEGAS J, FLORES M, MUNOZ M. Is *Rhodnius robustus* (Hemiptera: Reduviidae) responsible for Chagas disease transmission in Western Venezuela? *Trop Med Int Health*. 7:280-7, 2002.

FERNANDES A. A Caatinga e sua flora. In: MONTEIRO S & KAZ L, Caatinga Sertão Sertanejos. Livroarte Editora. Rio de Janeiro. 255p. 1994.

FERREIRA MS, LOPES ER, CHAPDEIRO E, DIAS JCP & CHIARI E. Doença de Chagas. In: Veronesi R. & Focaccia R. (Ed.). *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Editora Atheneu, cap. 93, p. 1175-1213, 1997.

FIGUEIREDO MA, SILVA AP, VERDE LWL & ALBUQUERQUE VM. Projeto Araripe – 1ª parte: Conhecendo o Araripe: Botânica. In: *Projeto Araripe*. [s.l]: [s.n.], p. 367-419, 1998

FILARD LS & BRENER, Z. Cryopreservation of *Trypanosoma cruzi* bloodstream forms. *J Protozool*, 22(3): 398-401, 1975.

FORERO, D; WEIRAUCH, C; BAENA, M. Synonymy of the reduviid (Hemiptera: Heteroptera) genus *Torrealbaia* (Triatominae) with *Amphibolus* (Harpactorinae), with notes on *Amphibolus venator* (Klug, 1830). *Zootaxa*, 670: 1-12, 2004.

GALVÃO C, CARCAVALLO R, ROCHA DS & JURBERG J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, 202:1-36, 2003.

GALVÃO C & ANGULO VM. *Belminus corredori*, a new species of Bolboderini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Santander, Colombia. *Zootaxa*, 1241: 61-68, 2006

GAMBOA J. Comprobación de *Rhodnius prolixus* extradoméstico. *Bol Inf Dir Malar San Amb*. Vol. 1. n. 5. 139-142, 1961.

GARCIA BA, CARRASCO HJ, SCHOFIELD CJ, STTHARD JR, FRAME IA, VALENTE SAS & MILES MA. Random Amplification of Polymorphic DNA as a tool for taxonomic studies of triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol.*, 35 (1): 38-45, 1998.

GAUNT M & MILES M. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (Triatominae) and their associated Trypanosomes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 95: 557-565, 2000.

GRISARD, EC. Estudo da variabilidade do gene do mini-exon e produção de cepas transfectadas de *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. DCS Tese, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 206p. 1999.

GUHL F, JARAMILLO C, CARRANZA JC, VALLEJO GA. Molecular characterization and diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. *Arch. Med. Res.* 33, 362–370, 2002.

GURGEL-GONÇALVES R, DUARTE MA, RAMALHO ED, PALMA ART, ROMAÑA CA & CUBA-CUBA CA. Distribuição espacial de populações de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 37: 241-247, 2004a.

GURGEL-GONÇALVES R, RAMALHO ED, DUARTE MA, PALMA ART, ABAD-FRANCH, F CARRANZA JC & CUBA-CUBA CA. Enzootic Transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 46: 323-330, 2004b.

HARRY M. Use of the process of the pygophore in identification of *Rhodnius nasutus*, *R. neglectus*, *R. prolixus* and *R. robustus* (Hemiptera: Reduviidae). *Ann Trop Med Parasit*. 87: (3), 277-282, 1993.

HARRY M. Morphometric variability in the Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. *Jpn J Genet*. 69: 233-250, 1994.

HENDERSON A, GALEANO G & BERNAL R. Field guide to the palms of the Americas. Princeton University Press: *Princeton*. 352 p, 1995.

JARAMILLO N, CASTILLO D, WOLFF M. Geometric morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97: 667-673, 2002.

JARAMILLO N & DUJARDIN JP. Análisis Morfométrico: significado biológico del tamaño y la conformación. Belo Horizonte; [texto da Disciplina Morfometria Geométrica – Curso de Pós-Graduação – Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ], 2006.

LENT H & JURBERG J. O gênero *Rhodnius* Stål, 1859, com um estudo sobre genitália das espécies (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev Bras Biologia*, 29: 487-560, 1969.

LENT H & WYGODZINSKY P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Amer Mus Nat Hist.*, vol 163. New York, 1979.

LORENZI H, SOUZA HM, MEDEIROS-COSTA JT; CERQUEIRA LSC, BEHR N. Palmeiras no Brasil nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum, 303p. 1996.

LORENZI H, SOUZA HM, CERQUEIRA LSC, COSTA JTM & FERREIRA E. Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum, 416p. 2004.

LORENZO MG, MINOLI AS, LAZZARI CR, PAULA AS, DIOTAIUTI L. O microclima dos ecótopos naturais das espécies do gênero *Rhodnius* no município de Tocantinópolis, estado de Tocantins, Brasil. In: XXXIX Congresso da Soc Bras Med Trop Belém, PA. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 36. p. 425-425, 2003.

LUCENA, DT & LIMA-BORBA, H. *Panstrongylus megistus leucofasciatus* Lucena, 1959 e *Rhodnius nasutus* Stål, 1859, (Hemíptera: Triatominae) em Pernambuco, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 19: 332-334, 1977.

LUCENA DT & VERGETTI JG. Infecção natural de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) por *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920), no interior do Estado de Alagoas. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 15: 171-178, 1973.

MACHADO PE, EGER-MANGRICH I, ROSA G, KOERICH LB, GRISARD EC & STEINDEL M. Diferencial susceptibility of triatomines of the genus *Rhodnius* to *Trypanosoma rangeli* strains from different geographical origins. *Int J Paras*. 31: 632-634, 2001.

MILES MA, ARIAS JR, VALENTE SAS, NAIFF RD, SOUZA AA, et al. Vertebrate hosts and vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon basin of Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 32: 1251-1259, 1983.

MONCAYO A. Chagas disease: Epidemiology and prospects for interruption of transmission in the Americas. *World Health Stat. Q*, 45: 276-279, 1992

MONTEIRO FA, BARRETT TV, FITZPATRICK S, CORDON-ROSALES C, FELICIANGELI D, BEARD CB. Molecular Phylogeography of the Amazonian Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* and *R. robustus*. *Mol Ecology*. 12: 997-1006, 2003.

NASCIMENTO JXN & NASCIMENTO ILS. Projeto Araripe – 1ª parte: Conhecendo o Araripe: Recursos Naturais e Patrimônio: Biodiversidade: Fauna – Aves. In: *Projeto Araripe*. [s.l]: [s.n.], p. 451-466, 1998

NOIREAU F, ABAD-FRANCH F, VALENTE SAS, DIAS-LIMA A, LOPES CM, CUNHA V, VALENTE VC, PALOMEQUE FS, CARVALHO-PINTO CJ, SHERLOCK I, AGUILAR M, STEINDEL M, GRISARD EC & JURBERG J. Trapping Triatominae in Silvatic Habitats. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97: 61-63, 2002.

PANZERA, F; PÉREZ, R; HORNOS, S; PANZERA, Y; CESTAU, R; DELGADO, V & NICOLINI P. Chromosome numbers in the Triatominae (Hemiptera-Reduviidae): a Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97: 515-518, 1996.

PAULA AS, DIOTAIUTI L, SCHOFIELD CJ. Testing the sister-group of the Rhodiniini and Triatomini (Insecta: Reduviidae: Triatominae). *Mol Phylog Evolution*. 35: 712-718, 2005.

PEREIRA DA SILVA LH & NUSSENZWEIG V. Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para camundongos brancos. *Folia Clin. Biol*. 20: 191-208, 1953.

PEREZ R, PANZERA Y, SCAFIEZZO S, MAZZELLA MA, PANZERA F, DUJARDIN JP & SCOVORTZOFF E. Cytogenetics as a tool for Triatominae species distinction (Hemiptera-Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 87: 353-361, 1992.

PIFANO F. La dinamica epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Valle de los Naranjos, Estado Carabobo, Venezuela. *Arch Ven Med Trop Paras Med*. Vol. 2. n. 2. 3-29, 1973.

POINAR JR, G. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae). The First Fossil Evidence of Triatomine-Trypanosomatid Vector Association. *Vector-Borne and Zoonotic Disease*, 5(1): 72-81, 2005

RAMIREZ LE, MACHADO MI, MAYWALD PG, MATOS A, CHIARI E & SILVA EL. Primeira evidência de *Trypanosoma rangeli* no sudeste do Brasil, região endêmica para doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 31:99-102, 1998.

ROMAÑA CA, PIZARRO JC, RODAS E & GUILBERT E. Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas disease. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg*. 93: 594-595, 1999.

- ROMANHA, AJ. Heterogeneidade isoenzimática em *Trypanosoma cruzi*. DCS Tese, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 110p. 1982.
- SALVATELLA R, CALEGARI L, BASMADJIAN Y, ROSA R, GUERRERO J, MARTINEZ M, MENDARO G, BRIANO D, MONTERO C, et al. Feeding pattern of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) in peridomiciliary habitats, of a rural area of Uruguay. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 36(4): 311-20, 1994.
- SANCHEZ-MARTIN MJ, FELICIANGELI MD, CAMPBELL-LENDRUM D, DAVIES CR. Could the Chagas disease elimination programme in Venezuela be compromised by reinvasion of houses by sylvatic *Rhodnius prolixus* bug populations? *Trop Med Int Health*. 11:1585-93, 2006.
- SANDOVAL CM, JOYA MI, GUTIERREZ R & ANGULO VM. Cleptohaematophagy of the Triatomine bug *Belminus herreri*. *Med Vet Entom*. 14: 100-101, 2000.
- SARQUIS O, BORGES-PEREIRA J, MAC CORD, JR; GOMES TF; CABELLO PH & LIMA MM. Epidemiology of Chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil. I. Presence of triatomines and index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of a rural area. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 99: 263-270, 2004.
- SCHEREIBER, G; BOGLIOLO AR & PINHO, AC. Cytogenetics of Triatominae: Caryotype, DNA content, nuclear size and heteropyknosis of autosomes. *Rev Bras Biol*. 32: 255-263, 1972.
- SCHOFIELD, CJ. Triatominae: Biologia y Control. *Eurocommunica Publications*: United Kingdom, 80p, 1994.
- SCHOFIELD CJ & DUJARDIN JP. Theories on the evolution of *Rhodnius*. *Actual Biol*. 21(71): 183-199, 1999
- SHERLOCK, IA. Vetores. In: Brener Z & Andrade Z (eds). *Trypanosoma cruzi* e a Doença de Chagas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. P. 42-88, 1979.
- SILVA IG & SILVA HHG. Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. XI. *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 84: 377-382, 1989.

SILVEIRA AC, FEITOSA VR & BORGES R. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1795/1983, Brasil. *Rev Bras Malar Doenças Trop.* 36: 15-312, 1984.

SILVEIRA AC & REZENDE DF. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 27 (suppl. III): 11-22, 1994.

SIQUEIRA, AF. Estudos sôbre a reação de precipitina aplicada à identificação de sangue ingerido por triatomíneos. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2: 41-53, 1960.

SOARES, RPP; SANT'ANNA, MRV; GONTIJO, NF; ROMANHA, AJ; DIOTAIUTI, L. & PEREIRA, MH. Identification of morphologically similar *Rhodnius* species (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) by electrophoresis of salivary heme proteins. *Am J Trop Med Hyg*, 62 (1): 157-161, 2000.

SOLANO, P, DUJARDIN, JP, SCHOFIELD, CJ, ROMANHA, C, TIBAYRENC M. Isoenzymes as a tool for identification of *Rhodnius* species. *Res Rev Parasitology*, 56: 41-47, 1996.

SOUTO, R; FERNANDES, O; MACEDO, A; CAMPBELL, D; ZINGALES, B. DNA markers define two major phylogenetics linageages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 83: 141-152. 1996.

STEINDEL M, CARVALHO-PINTO JP, TOMA HK, MANGIA HR, RIBEIRO-RODRIGUES R, et al. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920) isolated from a sylvatic rodent (*Echymys dasytrix*) in Santa Catarina island, Santa Catarina state: first report of this trypanosome in southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 86: 73-79, 1991.

STEINDEL M, DIAS NETO E, MENEZES CLP, ROMANHA AJ, SIMPSON AJG. Random amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma cruzi* strains. *Mol Biochem Parasitol*, 60: 71-80. 1993.

STEINDEL M, DIAS-NETO E, PINTO CJC, GRISARD EC, MENEZES CL, MURTA SMF, SIMPSON AJ & ROMANHA AJ. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Isoenzyme Analysis of *Trypanosoma rangeli* strains. *J Euk Microbiol.* 41: 261-267, 1994.

TEIXEIRA ARL, MONTEIRO OS, REBELO JM, ARGAÑARAZ ER, VIEIRA D, LAURIA-PIRES L, ET AL. Emerging Chagas disease: Trophic Network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. *Emerging Infectious Disease*. 7 (1): 100-112, 2001.

TIBAYRENC M, NEUBAUER K, BARNABE C, GUERRINI F, SKARECKY D & AYALA FJ. Characterization of six parasitic protozoa: parity between random-primer DNA typing and multilocus enzyme electroforesis. *Proc Nac Acad Sciences, USA*. 90: 1335-1339, 1993

URBINA JA & DOCAMPO R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology*. 19 (11): 495-501, 2003.

URREA DA, CARRANZA JC, CUBA-CUBA CA, GURGEL-GONÇALVES R, GUHL F, SCHOFIELD CJ, TRIANA O, VALLEJO GA. Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis* in Peru, *R. colombiensis* in Colombia and *R. pallescens* in Panama, supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. *Infect Genet Evol*. 5:123-9, 2005.

VALLEJO GA, GUHL F, CARRANZA JC, LOZANO LE, SÁNCHEZ JL, JARAMILLO JC, GUALTERO D, CASTAÑEDA N, SILVA JC & STEINDEL M. kDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. *Acta Tropica*. 81: 77-82, 2002.

VINHAES, MC & DIAS, JCP. Doença de Chagas no Brasil. *Cad Saúde Pública*. 16 (supl. 2):7-12, 2000.

WHO. Control of Chagas disease. *WHO Technical Report Series* 811, Geneva. P. 95, 2003

WORLD BANK. World Development Report 1993. Investing in Health. Oxford University Press. New York, 329p, 1993.

8. ANEXOS

Anexo I: Autorização do IBAMA para derrubada das palmeiras.

 <p>INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA DIRETORIA DE FLORESTAS COORDENADORIA DE GESTÃO DOS RECURSOS FLORESTAIS COORDENADORIA DE MANEJO FLORESTAL – COMAF SUPERINTENDÊNCIA ESTADUAL DO CEARÁ</p> <p align="center">LICENÇA PARA COLETA E TRANSPORTE</p>																					
NÚMERO DA LICENÇA 003/2006	Nº DE REGISTRO NO IBAMA	PERÍODO DE VALIDADE 30/03/2006 a 29/03/2007	PROCESSO IBAMA 02007.002599/2005-02																		
OBJETO: <input checked="" type="checkbox"/> COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO (PESQUISA CIENTÍFICA) <input type="checkbox"/> TRANSPORTE DE MATERIAL BOTÂNICO <input checked="" type="checkbox"/> OUTROS: Derrubada de palmeiras na quantidade prevista no projeto alvo do presente licenciamento.		FAVORECIDO: <input type="checkbox"/> INSTITUIÇÃO CIENTÍFICA <input checked="" type="checkbox"/> PESQUISADOR <input type="checkbox"/> EXPOSITOR/CONCURSO <input type="checkbox"/> OUTROS:																			
FAVORECIDO: Fernando Braga Stehling Dias NOME DO PROJETO: Ocorrência de <i>Rhodnius</i> spp (Hemiptera: Reduviidae) em diferentes palmeiras da Chapada do Araripe, Brasil. INSTITUIÇÃO: Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ ENDEREÇO: Avenida Augusto de Lima 1715 – Bairro Barro Preto – Cidade de Belo Horizonte – Estado de Minas Gerais RESPONSÁVEL PELA EXPEDIÇÃO: Fernando Braga Stehling Dias																					
TRANSPORTADOR: não haverá transporte. MEIO DE TRANSPORTE: não haverá transporte. PROCEDÊNCIA / LOCAL DA COLETA / LOCAL DA PESQUISA: Área de Proteção Ambiental da Chapada do Araripe (Estados do Ceará, Pernambuco e Piauí). DESTINO: material a ser tratado no próprio local de coleta.																					
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nome da espécie / Família / Gênero</th> <th>Quantidade por espécie</th> <th>Partes da planta coletada</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Acrocomia intumescens</i> / Palmae /</td> <td>280 (10/município)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Attalea speciosa</i> / Palmae /</td> <td>280 (10/município)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Copernicia prunifera</i> / Palmae /</td> <td>280 (10/município)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Mauritia flexuosa</i> / Palmae /</td> <td>280 (10/município)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>Syagrus oleracea</i> / Palmae /</td> <td>280 (10/município)</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>				Nome da espécie / Família / Gênero	Quantidade por espécie	Partes da planta coletada	<i>Acrocomia intumescens</i> / Palmae /	280 (10/município)	-	<i>Attalea speciosa</i> / Palmae /	280 (10/município)	-	<i>Copernicia prunifera</i> / Palmae /	280 (10/município)	-	<i>Mauritia flexuosa</i> / Palmae /	280 (10/município)	-	<i>Syagrus oleracea</i> / Palmae /	280 (10/município)	-
Nome da espécie / Família / Gênero	Quantidade por espécie	Partes da planta coletada																			
<i>Acrocomia intumescens</i> / Palmae /	280 (10/município)	-																			
<i>Attalea speciosa</i> / Palmae /	280 (10/município)	-																			
<i>Copernicia prunifera</i> / Palmae /	280 (10/município)	-																			
<i>Mauritia flexuosa</i> / Palmae /	280 (10/município)	-																			
<i>Syagrus oleracea</i> / Palmae /	280 (10/município)	-																			
OBSERVAÇÕES / CONDICIONANTES: <ol style="list-style-type: none"> Esta licença não autoriza o uso do material biológico para acessar informação de origem genética, contida no todo ou parte de espécime vegetal, fúngico, microbiano ou animal; em substâncias provenientes do metabolismo desses seres vivos e de extratos obtidos desses organismos vivos ou mortos, encontrados em condições <i>in situ</i>, inclusive domesticadas, ou mantidos em coleções <i>ex situ</i>, desde que coletados em condições <i>in situ</i>, no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva, visando atividade exploratória para identificar componentes do patrimônio genético e informação sobre o conhecimento tradicional associado, com potencial de uso comercial. O Responsável pela Expedição deverá apresentar relatório final ao término da validade desta Licença, além de encaminhar cópia das publicações resultantes dos trabalhos objeto da presente licença. "Esta licença não exige o pesquisador de cumprir o disposto na MP 2186-16/01 que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético. No caso de acesso a amostra de componente do patrimônio genético, este somente se dará mediante autorização expressa do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN, nos termos da Medida Provisória nº 2186-16/2001 e Decreto nº 3945/2001". 																					
LOCAL E DATA DE EMISSÃO Fortaleza (CE), 30 de março de 2006.		AUTORIDADE EXPEDIDORA Fernando Braga Stehling Dias Gerente Executivo IBAMA/CE																			
<ul style="list-style-type: none"> VÁLIDA EXCLUSIVAMENTE NO TERRITÓRIO BRASILEIRO. ESTA LICENÇA NÃO AUTORIZA: <ol style="list-style-type: none"> COLETA / TRANSPORTE DE ESPÉCIES AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO, SALVO QUANDO CONSTANTE EM PROJETO ESPECÍFICO APROVADO; COLETA / TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO NAS ÁREAS DE INFLUÊNCIA DE EMPREENDIMENTOS SUJEITOS AO LICENCIAMENTO AMBIENTAL, CONFORME RESOLUÇÃO DO CONAMA DE Nº 237 DE 19/12/97, SALVO QUANDO ESPECIFICADO; COLETA / TRANSPORTE DE MATERIAL BOTÂNICO EM ÁREAS DE DOMÍNIO PRIVADO, SEM O CONSENTIMENTO EXPRESSO OU TÁCITO DO PROPRIETÁRIO, NOS TERMOS DOS ARTIGOS 594, 595, 596, 597 E 598 DO CÓDIGO CIVIL; COLETA / TRANSPORTE DE MATERIAL BOTÂNICO EM UNIDADES DE CONSERVAÇÃO FEDERAIS, ESTADUAIS, DISTRITAIS OU MUNICIPAIS, SALVO QUANDO ACOMPANHADAS DO CONSENTIMENTO DO ÓRGÃO ADMINISTRADOR COMPETENTE; EXPORTAÇÃO DE ESPÉCIES VEGETAIS. VÁLIDA SOMENTE SEM EMENDAS OU RASURAS. 																					

Outros pesquisadores: Alexandre Silva de Paula, Cláudia Mendonça Bezerra, Liléia Gonçalves Diotaiuti.

Esta Licença de Coleta e Transporte substitui a de número 001/2006, expedida em 10 de março de 2006.

Anexo II: Autorização do IBAMA para coleta e transporte de triatomíneos.

CONFERE COM O ORIGINAL
Art. 22, § 3º, Lei nº 9.784/99

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE E DA AMAZÔNIA LEGAL
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS
RENOVA VEIS - IBAMA/CE
DIRETORIA DE ECOSISTEMAS - DIREC
LICENÇA PARA CAPTURA / COLETA / TRANSPORTE / EXPORTAÇÃO

Nº DA LICENÇA	Nº DE REGISTRO NO IBAMA-CE	PERÍODO DE VALIDADE	PROCESSO IBAMA
05/2006		10/03/06 a 31/11/07	02007.002599/2005-02

OBJETO:

- CAPTURA E /OU COLETA DE ANIMAIS SILVESTRES / MATERIAL ZOOLOGICO
 TRANSPORTE DE ANIMAIS SILVESTRES / MATERIAL ZOOLOGICO
 COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BOTÂNICO (PESQUISA CIENTÍFICA)
 TRANSPORTE DE PRODUTOS E SUB-PRODUTOS DA FAUNA
 EXPOSIÇÃO E/ OU CONCURSO DE ANIMAIS SILVESTRES
 OUTROS (ESPECIFICAR)

FAVORECIDO:

- ZOOLOGICO
 INSTITUIÇÃO CIENTÍFICA
 PESQUISADOR
 EXPOSITOR/CONCURSO
 CRIADOURO COMERCIAL
 CRIADOURO CIENTÍFICO
 OUTROS (ESPECIFICAR)

FAVORECIDO – ESPECIFICAÇÃO: Fernando Braga Stehling Dias (estudante de mestrado)

ENDEREÇO PROFISSIONAL: Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ, Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas. . Tel (31) 3295-3566 r. 161.E-mail: Fernando@cpqrr.fiocruz.br

ENDEREÇO RESIDENCIAL: Rua Holanda Lima, 203/204. Gutierrez. 30190002. Belo Horizonte, MG. Tel: (31) 3335-5445/ Fax: (31) 9999-1822.

RESPONSÁVEL PELA EXPEDIÇÃO (NO CASO DE COLETA / CAPTURA): Fernando Braga Stehling Dias

PROCEDÊNCIA/LOCAL DA CAPTURA / LOCAL DA PESQUISA: Municípios inseridos na Chapada do Araripe

DESTINO: Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou – FIOCRUZ. Belo Horizonte-MG.

QUANTIDADE ESPÉCIMES / TIPO (POR ESPÉCIE)	NOME CIENTÍFICO (FAMÍLIA)	NOME COMUM
DIVERSAS	<i>Rhodnius neglectus</i>	Barbeiro
DIVERSAS	<i>Rhodnius nasutus</i>	Barbeiro
DIVERSAS	<i>Triatoma sp.</i>	Barbeiro

OBS: EQUIPE DO PROJETO (PESSOAS ENVOLVIDAS): Fernando Braga Stehling Dias, Liléia Gonçalves Diotaiuti, Cláudia Mendonça Bezerra e Alexandre Silva de Paula

1. Esta licença autoriza a captura e coleta de animais silvestres ou material biológico para fins de pesquisa científica.

2. Esta licença não exige o pesquisador de cumprir o dispositivo na Medida Provisória nº 2186-16/01, que versa sobre o acesso ao patrimônio genético. No caso de acesso a amostra de componente do patrimônio genético, este somente se dará mediante autorização expressa do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), nos termos da Medida Provisória nº 2.186-16/2001 e Decreto nº 3.945/2001.

Fernando Bonfim Braga

ASSINATURA E CARIMBO / AUTORIDADE EXPEDIDORA

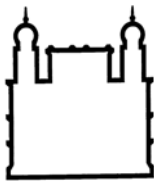
LOCAL E DATA DE EMISSÃO:
FORTALEZA/CE, 10/03/2006

VÁLIDA EXCLUSIVAMENTE NO TERRITÓRIO BRASILEIRO

E ESTA LICENÇA NÃO AUTORIZA:

CAPTURA/COLETA/TRANSPORTE DE ESPÉCIES AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO, SALVO QUANDO ESPECIFICADO
 CAPTURA/COLETA/TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO NAS ÁREAS DE INFLUÊNCIA DE EMPREENDIMENTOS SUJEITOS AO LICENCIAMENTO AMBIENTAL, CONFORME RESOLUÇÃO DO CONAMA Nº 237 DE 19/12/97, SALVO QUANDO ESPECIFICADO
 CAPTURA/COLETA/TRANSPORTE EM ÁREA DE DOMÍNIO PRIVADO SEM O CONSENTIMENTO EXPRESSO OU TÁCITO DO PROPRIETÁRIO NOS TERMOS DOS ARTIGOS 594, 595, 596, 597 E 598 DO CÓDIGO CIVIL.

Anexo III: Modelo da ficha de coleta de triatomíneos utilizada neste projeto.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas

FICHA DE COLETA DE TRIATOMÍNEOS EM CAMPO

Data: ____/____/____

Horário Início: _____ Término: _____

Condição Climática: Sol Parcial. Nublado Nublado Chuvoso

Localidade (município): _____

Número Palmeira: _____

Espécie de Palmeira: _____

Tamanho da Palmeira: _____

Espécie de Palmeira mais próxima: _____

Altitude: _____

Referência Geográfica: _____

Fauna Associada à palmeira: _____

Palmeira: Positiva Negativa

Ovos: _____

1º estágio: _____

2º estágio: _____

3º estágio: _____

4º estágio: _____

5º estágio: _____

Fêmeas: _____

Machos: _____

Espécies de Triatomíneos Capturadas: _____

Temp. à sombra: _____

Umidade à sombra: _____

Temp. na copa após derrubada: _____ Umidade: _____

Temp. axila foliar: _____

Observações: _____

Av. Augusto de Lima, 1715, 30190-002 Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel: (31) 3349-7700 (ramal 7761) - Fax: (31) 3295-3115

e-mail: fernando@cpqrr.fiocruz.br

Anexo IV: Protocolo utilizado para a extração do DNA genômico dos tripanosomatídeos pela técnica de fenol-clorofórmio álcool-isoamílico.

EXTRAÇÃO DE DNA – MÉTODO DE FENOL-CLOROFÓRMIO

1. Adicionar ao material (pellet de *T. cruzi* ou sangue) volume igual de tampão de extração com SDS e 5µL de proteinase K (50 a 100µg/mL), misturando suavemente por inversão do tubo, para homogeneizar.
2. Deixar incubando a 37°C overnight ou a 52°C por 1 hora, agitando periodicamente.
3. Adicionar volume igual de fenol (pH 8,0) neutralizado e misturar suavemente por 10 minutos.
4. Centrifugar a 14000RPM por 10 minutos, à temperatura ambiente.
5. Retirar o sobrenadante e transferir para um novo tubo contendo ½ volume de fenol e ½ volume de clorofórmio-álcool-isoamílico (24:1) e misturar por 10 minutos.
6. Centrifugar a 14000RPM por 10 minutos, à temperatura ambiente.
7. Retirar o sobrenadante e transferir para um novo tubo contendo 1/10 do volume de acetato de sódio 3M, pH 5,2.
8. Adicionar 2,5x o volume de etanol 100% gelado (o etanol deverá estar a -70°C por 1 hora ou a -20°C overnight) e misturar delicadamente, por inversão do tubo, para homogeneizar.
9. Centrifugar a 14000RPM, 4°C, por 10 minutos.
10. Lavar o pellet por 2x com etanol 70% gelado (cerca de 1mL), misturando delicadamente por inversão do tubo e centrifugando a 14000RPM por 10 minutos a 4°C
11. Após a última lavagem, retirar o sobrenadante com a pipeta e deixar secar no multi-block por alguns minutos.
12. Acrescentar 50µL de TE ou DDW e deixar ressuspensando a 37°C por 30 minutos, agitando periodicamente.
13. Estocar a -20°C se for estocar ou a 4°C, se for utilizar em breve.

Anexo V: Soluções utilizadas em géis de poliacrilamida

SOLUÇÕES UTILIZADAS EM GÉIS DE POLIACRILAMIDA

1. "Sopas Primitivas"		
4%	Bis-acrilamida 30% TBE 5X H ₂ O MQ	13,32 ml 20,00 ml 65,88 ml
6%	Bis-acrilamida 30% TBE 5X H ₂ O MQ	20,00 ml 20,00 ml 60,00 ml
8%	Bis-acrilamida 30% TBE 5X H ₂ O MQ	27,00 ml 20,00 ml 53,00 ml
10%	Bis-acrilamida 30% TBE 5X H ₂ O MQ	33,20 ml 20,00 ml 46,70 ml

APS

1g Persulfato

100ml DDW

2. Bis-acrilamida 30%

Acrilamida (C ₃ H ₅ NO)	29g	PM 71,08
Bis (N,N'-methylene-bis-acrylamide)	1g	PM 154,17
H ₂ O MQ	qsp 100ml	

3. Solução Fixadora (1 a 3 géis)

Etanol PA	15ml
Ácido Acético	750ml
Água MQ	150ml

4. Solução Fixadora Glicerizada (500ml)

10%	20%
Glicerina 50ml	Glicerina 100ml
Solução Fixadora 450ml	Solução Fixadora 400ml

5. Solução Corante

AgNO ₃	0,3g	2g
Água MQ	150ml	1000ml

6. Solução de Revelação

NaOH 0,75M	4,5g	30g
Água MQ	150ml	1000ml

Não esquecer de acrescentar 450µl de formaldeído 0,1M antes de colocar os géis em contato com a solução (senão não revela)

Anexo VI: Dados do PCDCh dos cinco municípios trabalhados da Chapada do Araripe, Ceará.

Dados do Programa de Controle da Doença de Chagas dos cinco municípios estudados da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil.

Ano: 2003									
Espécie	capturado		examinado		positivo		índice de infecção (%)		
	intra	peri	intra	peri	intra	peri	intra	peri	global
<i>R.nasutus</i>	4	113	0	106	0	1	0%	0,9%	0,9%
<i>P. lutzi</i>	0	0	0	0	0	0	0%	0%	0%
<i>P.megistus</i>	0	18	0	18	0	2	0%	11,1%	11,1%
<i>T.brasiliensis</i>	9	23	8	20	0	0	0%	0%	0%
<i>T.pseudomaculata</i>	82	657	70	625	0	6	0%	1,0%	0,9%
Total	95	811	78	769	0	9	0%	1,2%	1,1%

Ano: 2004									
Espécie	capturado		examinado		positivo		índice de infecção (%)		
	intra	peri	intra	peri	intra	peri	intra	peri	global
<i>R.nasutus</i>	15	147	14	146	0	3	0%	2,1%	1,9%
<i>P. lutzi</i>	1	0	1	0	0	0	0%	0%	0%
<i>P.megistus</i>	2	12	2	11	0	0	0%	0%	0%
<i>T.brasiliensis</i>	25	48	24	48	0	0	0%	0%	0%
<i>T.pseudomaculata</i>	64	646	62	628	3	4	4,8%	0,6%	1,0%
Total	107	853	103	833	3	7	2,9%	0,9%	1,1%

Ano: 2005									
Espécie	capturado		examinado		positivo		índice de infecção (%)		
	intra	peri	intra	peri	intra	peri	intra	peri	global
<i>R.nasutus</i>	3	199	3	193	0	4	0%	2,1%	2,0%
<i>P. lutzi</i>	5	41	3	31	1	0	33,3%	0%	2,9%
<i>P.megistus</i>	0	1	0	1	0	0	0%	0%	0%
<i>T.brasiliensis</i>	33	32	25	32	2	0	8,0%	0%	3,6%
<i>T.pseudomaculata</i>	51	738	38	657	0	11	0%	1,7%	1,7%
Total	92	1011	69	914	3	15	4,3%	1,6%	1,8%

intra = intradomicílio; peri = peridomicílio



GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE
COORDENADORIA DE DESENVOLVIMENTO E APOIO E ATENÇÃO À SAÚDE - CODAS
NÚCLEO DE CONTROLE DE ENDEMIAS TRANSMISSÍVEIS POR VETORES - NUEND

PROGRAMA DE CONTROLE DA DOENÇA DE CHAGAS - PCDCCh
Identificação e Exame de Triatomíneo por município Período: 01/01/2004 a 31/12/2004.

Nº DE ORDEM	NÍVEL		TRIATOMÍNEOS												TOTAL DE POSITIVOS	ÍNDICE DE POSITIVIDADE									
	CERES / MUNICÍPIO	ESPECIE DO TRIATOMÍNEO	CAPTURADOS				EXAMINADOS				POSITIVOS						TOTAL DE POSITIVOS								
			INTRA		PERI		INTRA		PERI		INTRA		PERI												
A	N	T	A	N	T	A	N	T	A	N	T	A	N	T	A	N	T								
1	CRATO	<i>T. brasiliensis</i>	9	1	10	1	14	15	25	8	1	9	1	14	15	0	0	0	0,0						
		<i>T. pseudomaculata</i>	4	5	9	37	216	253	252	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0						
		<i>P. megistus</i>	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0						
		<i>P. lutzii</i>	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0,0						
		<i>R. nasutus</i>	3	11	14	45	50	109	109	3	11	14	45	50	95	109	0	2	2,1	1,8					
Total no Município		17	17	34	83	281	364	398	16	17	33	82	278	360	1	0	1	3,0	0,6	3	0,8				
2	SANTANA DO CARIRI	<i>T. brasiliensis</i>	1	14	15	1	32	33	48	1	14	15	1	32	33	0	0	0	0,0						
		<i>T. pseudomaculata</i>	5	11	16	62	201	263	279	5	11	16	62	199	261	0	2	2	12,5	3	1,2	5	1,8		
		<i>R. nasutus</i>	0	0	0	20	8	28	28	0	0	0	20	8	28	28	0	0	0,0	0,0	0	0,0	0	0,0	
		Total no Município	6	25	31	83	241	324	355	6	25	31	83	239	322	0	2	2	6,5	3	0	3	0,9	1,4	
3	BARBALHA	<i>T. pseudomaculata</i>	3	2	5	7	12	19	24	3	2	5	7	11	18	0	0	0	0,0						
		<i>R. nasutus</i>	0	0	0	11	12	23	23	0	0	0	10	12	22	22	0	0	0,0	1	1	2	8,7		
		Total no Município	3	2	5	18	24	42	47	3	2	5	17	23	40	45	0	0	0,0	2	1	3	7,5	3	6,7
4	MISSÃO VELHA	<i>T. pseudomaculata</i>	12	9	21	20	21	41	62	12	8	20	16	19	35	55	0	0	0,0						
		<i>P. megistus</i>	2	0	2	10	1	11	13	2	0	2	9	1	10	12	0	0	0,0						
		Total no Município	14	9	23	30	22	52	75	14	8	22	25	20	45	67	0	0	0,0	0	0	0	0,0	0	0,0
5	JUAZEIRO DO NORTE	<i>T. pseudomaculata</i>	5	8	13	21	49	70	83	4	8	12	19	46	65	77	0	0	0,0						
		<i>R. nasutus</i>	1	0	1	1	0	1	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0,0						
		Total no Município	37	8	14	22	49	71	85	4	8	12	20	46	66	78	0	0	0,0	0	0	0	0,0	0	0,0
Total Geral		77	61	107	236	617	853	960	43	60	103	227	606	833	936	1	2	3	2,9	7	1	8	1,0	11	1,2



GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE
COORDENADORIA DE DESENVOLVIMENTO E APOIO E ATENÇÃO À SAÚDE - CODAS
NÚCLEO DE CONTROLE DE ENDEMIAS TRANSMISSÍVEIS POR VETORES - NUEND

ATIVIDADES / ANO	1996	1999	2002	2005	2006**
1. CAPTURA					
1.1 N° Municípios Trabalhados	96	99	153	163	107
1.2 N° Localidades Trabalhadas	12.262	8.172	16.286	13.043	2.945
1.3 N° UD's/Casas Trabalhadas	363.547	315.898	552.920	445.055	102.434
1.4 N° Localidades Positivas	6.905	5.150	9.396	6.798	1.712
1.5 N° UD's Positivas	28.234	27.379	40.655	24.669	6.767
1.6 N° Casas Positivas	9.921	11.191	10.329	6.146	1.793
1.7 % Localidades Positivas	56,31	63,02	58	52	58
1.8 % UD's Positivas	7,77	8,67	7,35	5,5	6,6
1.9 % Casas Positivas	2,73	3,54	1,87	1,4	1,8
2. BORRIFAÇÃO					
2.1 N° Municípios Trabalhados	94	102	152	156	107
2.2 N° Localidades Trabalhadas	6.649	5.439	9.293	6.561	1.640
2.3 N° UD's/Casas Trabalhadas	120.547	52.578	47.051	30.742	7.497
2.4 N° Habit. Diretamente Protegidos	395.574	141.098	166.103	97.949	24.128
3. TRIATOMÍNEOS					
3.1 N° Triatomíneos Capturados	66.012	55.168	78.023	55.333	16.115
3.2 N° Triatomíneos Examinados	39.820	38.023	64.553	45.897	14.509
3.3 N° Triatomíneos Positivos	175	150	309	421	128
3.4 % Triatomíneos Positivos	0,44	0,39	0,48	0,92	0,88
4. SOROLOGIA HUMANA *					
4.1 N° Amostras Examinadas	3.959	314	0	0	0
4.2 N° Amostras Positivas	0	0	0	0	0
4.3 % Amostras Positivas	0	0	0	0	0

Convenções: (*) Crianças de 7-9 anos ;

** - Dados até abril no nível central (sujeito a revisão).

Anexo VII: Artigo aceito para publicação.

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz
Av. Brasil 4365, 21040-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Tel.: +55-21-2598.4335
Telefax: 00-55-21-2280.5048 / 2561.1442
E-mails: memorias@fiocruz.br / memorias@ioc.fiocruz.br
Site: <http://memorias.ioc.fiocruz.br>



April 26, 2007

Dr Lileia Diotaiuti
CPq René Rachou
Fiocruz
diotaiuti@cpqrr.fiocruz.br

Accession N°.: 5761
Date of acceptance: April 26, 2007

Title: “*First report on the occurrence of Trypanosoma rangeli Tejera, 1920 in the state of Ceará, Brazil, in naturally infected triatomine Rhodnius nasutus (Hemiptera, Reduviidae)*”

I have the pleasure of informing you that your above-mentioned manuscript was accepted for publication in the *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, according to the decision of the Editorial Board.

Sincerely yours,

Ricardo Lourenço-de-Oliveira
Editor

First report on the occurrence of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the state of Ceará, Brazil, in naturally infected triatomine *Rhodnius nasutus* (Hemiptera, Reduviidae)

Fernando Braga Stehling Dias, Liléia Diotaiuti⁺, Alvaro José Romanha^{*}, Cláudia Mendonça Bezerra^{**}, Evandro Marques de Menezes Machado

Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas^{*} Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas René Rachou-Fiocruz, Av. Augusto de Lima 1715, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil ^{**} Secretaria do Estado da Saúde do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

The aim of this work was to identify and report the occurrence of Trypanosoma rangeli and Trypanosoma cruzi in naturally infected Rhodnius nasutus (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the state of Ceará, Brazil. Triatomines feces, salivary glands, and hemolymph were collected for fresh examination, and specific detection of T. rangeli and T. cruzi DNA by polymerase chain reaction was carried out. The specific characterization of these two parasites showed the simultaneous presence of both parasites in two (7.7%) of the 26 positive insects. Our results provide further knowledge on the geographical distribution of T. rangeli in Brazil.

Key words: *Trypanosoma rangeli* - *Rhodnius nasutus* - Ceará

Trypanosoma rangeli Tejera, 1920 and *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, are hemoflagellate protozoa of the Family Trypanosomatidae, belonging to the Order Kinetoplastida (D'Alessandro 1976). Both parasites are sympatric in Americas with a wide geographic distribution. *T. cruzi* is the etiological agent of Chagas disease, and *T. rangeli* is responsible for a non-pathogenic infection in mammals (D'Alessandro & Saraiva 1992). Both parasites can be found in the same triatomine vector species, and in the same vertebrate hosts, which are mammals belonging to different orders and genera, including man (D'Alessandro & Saraiva 1992). Although *T. rangeli* is not pathogenic for the vertebrate host, its occurrence should be recorded as it frequently presents an overlapping distribution with *T. cruzi* (D'Alessandro 1976). *T. rangeli* bears similarities with *T. cruzi* regarding surface antigens, impairing the diagnosis of Chagas disease when serological assays are carried out. Moreover, considering the fact that *T. rangeli* is highly pleomorphic, its morphological identification may be rather difficult, being misidentified as *T. cruzi* (Urdaneta-Morales & Tejero 1992).

Interactions between *T. rangeli* and its invertebrate host starts after ingestion of trypomastigote forms during the triatomine blood feeding. Following ingestion, trypomastigotes undergo differentiation to epimastigotes that multiply in the insect vector intestine. After reaching the intestine lumen, the epimastigote forms invade hemocelle, in which they remain to multiply either

inside or outside hemocytes and, then, they actively penetrate through salivary glands, especially in *Rhodnius* species, where metacyclogenesis occurs (D'Alessandro & Hincapie 1986). In vertebrate hosts, *T. rangeli* has been reported to infect more than 20 genera in five different animal orders (D'Alessandro & Saraiva 1992). The vertebrate host infection occurs during the triatomine blood feeding, through which infective trypomastigotes are released together with the vector saliva (Vallejo et al. 1988).

In Brazil, the first report on the occurrence of *T. rangeli* was issued by Deane (1958) in *Didelphis marsupialis*, in the state of Pará. Steindel et al. (1991) reported the presence of *T. rangeli* in the rodent *Echimys dasythrix* in Southern Brazil. Several other reports on *T. rangeli* occurrence in Brazil have been given by some investigators such as those by Diotaiuti et al. (1992) who reported the occurrence of that flagellate, based on its morphology, in *R. neglectus* in the state of Tocantins; Lucena and Vergueti (1973) reported *Panstrongylus megistus* infections with the flagellate, also based on its morphological traits, in the state of Alagoas; in Bahia, Barrett and Oliveira (1977) reported natural infection of a *R. domesticus* nymph with *T. rangeli*; Ramirez et al. (2002) demonstrated *D. albiventris* infection with *T. rangeli* in the Southeast. A single report on human infection with *T. rangeli* was made by Coura et al. (1996) in the Amazon region, and *R. brethesi* may be considered the most likely vector in the region.

The current investigation was aimed at verifying the occurrence of *T. rangeli* in *R. nasutus* specimens collected on different palm tree species, namely: babaçu palm (*Attalea speciosa*); buriti (*Mauritia flexuosa*); carnaúba palm (*Copernicia prunifera*); catolé palm (*Syagrus oleracea*); and macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*), in rural areas from five municipalities of Chapada do Araripe, in the southern region of Ceará, Brazil, between 14 March and 06 April, 2006.

Financial support: Fapemig, CNPq, CPqRR-Fiocruz

⁺ Corresponding author: diotaiuti@cpqrr.fiocruz.br

Received 20 December 2006

Accepted 26 April 2007

The insects were evaluated regarding the presence of trypanosome in their intestinal content through analyzing their fresh feces obtained by abdominal compression; hemolymph analysis on glass slides was also carried out after sectioning one of the insect legs. Salivary glands from positive hemolymph were dissected in order to verify the presence of parasites. All biological material obtained was analyzed under light microscopy (magnification 160 x). The trypanosomes were isolated from insects in LIT medium added to blood agar maintained at 27.5°C, keeping weekly passages.

Polymerase chain reaction (PCR) has been known to be more sensitive than optical microscopy for detection and specific characterization of these trypanosomes in insect vectors, mainly concerning the possibility of mixed infection (Machado et al. 2000). Hence, we have used PCR for specific detection of *T. rangeli* and *T. cruzi* in samples of isolated parasites; DNA was obtained from parasite cultures using standard phenol/chloroform/isoamyl alcohol extraction (Steindel et al. 1993). Detection of *T. rangeli* was based on amplification of an intergenic region of *T. rangeli* mini-exon with the following primers: TrINT-1 – 5'-CGC CCA TTC GTT TGT CC-3'; TrINT-2 – 5'-TCC AGC GCC ATC ACT GAT C-3'; and TrINT-3 – 5'-AAG ATG AGG CGT GGC TCT G-3' (Grisard et al. 1999). For *T. cruzi* detection, specific primers were designed to amplify an intergenic region of the mini-exon gene (Souto et al. 1996). As positive control, the *T. rangeli* San Agustín strain, isolated from a Colombian chagasic patient, was used. The products were submitted to electrophoresis in polyacrylamide gel and then revealed after being silver stained.

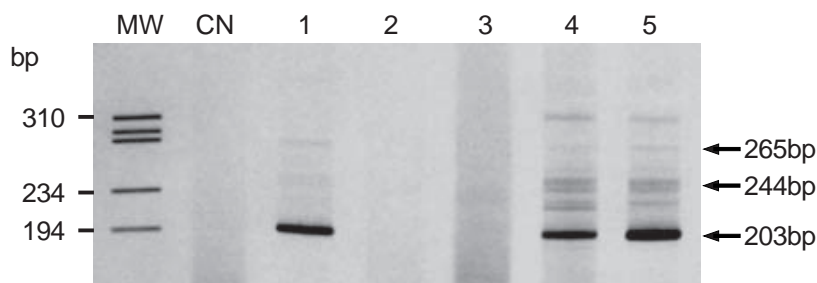
Out of the 26 insects positive for trypanosome in their intestines, two (7.7%) showed to be positive for trypanosome in hemolymph without showing parasites in their salivary glands though. Molecular typing of isolated samples using TrINT primers showed to be specific for *T. rangeli*, amplifying a band of approximately 203 bp and two other bands of less intensity, 244 and 265 bp, respectively, which provided corroborating evidence to our microscopic findings (Fig. 1). In all isolates, *T. cruzi* was identified (data not shown), including

the samples in which *T. rangeli* was isolated, which confirmed the presence of mixed infection.

In the present study, identification of Trypanosomatidae found in the insect intestine tract by means of morphological analysis was not possible, requiring a diagnosis confirmation through PCR. An overlapping geographic distribution of both *T. cruzi* and *T. rangeli*, occurrence of mixed infection in vertebrate and invertebrate hosts and, *T. rangeli* pleomorphism account for the need for molecular techniques for identification of Trypanosomatidae species. By using PCR, that enabled amplification of the intergenic region of the mini-exon gene, we were able to identify the Trypanosomatidae species in *R. nasutus* collected in the state of Ceará, Brazil. The present communication is the first to report the occurrence of *T. rangeli* in the state of Ceará, Brazil, identified in naturally infected triatomines of the species *R. nasutus*.

Chapada do Araripe is comprised in the mountain regions of the Brazilian semi-arid, regarded as remaining areas of humid forests in the caatinga vegetation. It presents typical elements of the Brazilian Amazon, Mata Atlântica and cerrado (Bagnoli 1998), what is validated through geologies, floristics, and faunistics evidences (Monteiro & Kaz 1994). In regions with an overlapping of the geographic distribution of *T. cruzi* and *T. rangeli*, co-infections in vectors and vertebrates are common (D'Alessandro & Saraiva 1992). The presence of marsupials in the palms, being this important reservoir of both parasites, may favour the occurrence of co-infection in the same insect, as suggested for other authors (Cuba-Cuba 1998, Ramirez et al. 2002), specially considering that blood of these animals in the stomachal content of infected triatomines was identified through the precipitin technique (data not shown).

The occurrence of *T. rangeli* in naturally infected *R. nasutus* from palm trees in Ceará provides further knowledge on the geographical distribution of this parasite in Brazil. Considering that in the Brazilian caatinga there are areas similar to the Chapada do Araripe (Ca-Valcanta 2005), it is very likely that the occurrence of *T. rangeli* in triatomines colonizing palm trees in the Northeast,



Polymerase chain reaction amplification products of the mini-exon gene generated by *Trypanosoma* samples isolated from naturally infected *Rhodnius nasutus* using the primers TrINT 1, TrINT 2, and TrINT 3. MW: molecular weight, the numbers on the left are the size markers (ϕ X174 digested by the restriction enzyme *Hae*II); NC: negative control (no DNA add). Lanes - 1: strain RN01; 2: RN02; 3: RN03; 4: RN04; 5: strain San Agustín (positive control), visualized on 8% polyacrylamide gel, silver stained.

as well as associated with vertebrate hosts, may be even higher. As is known, there was a link among the Brazilian caatinga, Amazon, and Mata Atlântica regions that reinforces this hypothesis (Cavalcante 2005). Studies about genetic proximity among *T. rangeli* strains from several geographic regions may collaborate to clarify a possible migratory route that culminated in the establishment of this parasite in Brazilian Northeast. This observation also reinforces the idea that false-positive results of diagnostic tests for *T. cruzi* infection are possible, as mentioned by Gurgel-Gonçalves et al. (2004).

ACKNOWLEDGMENTS

To the Secretaria de Estado da Saúde do Ceará for helping us to collect the insects.

REFERENCES

- Bagnoli E 1998. Projeto Araripe – 1ª parte: Conhecendo o Araripe: Atividades produtivas da população. Turismo, Ecoturismo, Turismo Cultural e Científico. In Projeto Araripe. [s.i]: [s.n.], p. 292-318.
- Barrett TV, Oliveira TS 1977. A *Trypanosoma* indistinguishable from *Trypanosoma rangeli* in the haemolymph of *Rhodnius domesticus* from Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 71: 445-446.
- Cavalcante A 2005. *Jardins Suspensos no Sertão*, Scientific American Brasil, Duetto Editorial, São Paulo, n. 32, janeiro.
- Coura JR, Fernandes O, Arboleda M, Barrett TV, Carrara N, Degraive W, Campbell DA 1996. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90: 278-279.
- Cuba-Cuba CA 1998. Revisión de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rangeli*. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 207-220.
- D'Alessandro A 1976. Biology of *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rangeli* Tejera, 1920. In WHR Lumsden, DA Evans (eds), *Biology of Kinetoplastida*, vol. 1, Academic Press, London, p. 327-403.
- D'Alessandro A, Saraiva NG 1992. *Trypanosoma rangeli*. In *Parasitic Protozoa*, 2nd ed., Vol. 2, Academic Press, San Diego, p. 1-54.
- D'Alessandro A, Hincapie O 1986. *Rhodnius neivai*: a new experimental vector of *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg* 35:512-514.
- Deane LM 1958. Novo hospedeiro de tripanosomas dos tipos *cruzi* e *rangeli* no Estado do Pará. O marsupial *Metachirops opossum opossum*. *Rev Bras Malar Doenças Trop* 10: 531-541.
- Diotaiuti L, Silveira AC, Elias M, Steindel M 1992. The possibility of occurrence of *Trypanosoma rangeli* in the state of Tocantins, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 451.
- Grisard EC, Campbell DA, Romanha AJ 1999. Mini-exon gene sequence polymorphism among *Trypanosoma rangeli* strains isolated from distinct geographical regions. *Parasitology* 118: 375-382.
- Gurgel-Gonçalves R, Ramalho ED, Duarte MA, Palma ART, Abad-Franch F, Carranza JC, Cuba-Cuba CA 2004. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 46: 323-330.
- Lucena DT, Vergetti JG 1973. Infecção natural de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) por *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920), no interior do Estado de Alagoas. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 15: 171-178.
- Machado EMM, Alvarenga NJ, Romanha AJ, Grisard EC 2000. A simplified method for sample collection and DNA isolation for polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 836-866.
- Monteiro S, Kaz L 1994. *Caatinga – Sertão Sertanejos*, Alumbamentos Livroarte, Rio de Janeiro, 255 pp.
- Ramirez LE, Lages-Silva E, Alvarenga-Franco F, Matos A, Vargas N, Fernandes O, Zingales B 2002. Abstract high prevalence of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in opossums and triatomids in a formerly-endemic area of Chagas disease in Southeast Brazil. *Acta Trop* 84: 189-198.
- Souto R, Fernandes O, Macedo A, Campbell D, Zingales B 1996. DNA markers define two major phylogenetics lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol* 83: 141-152.
- Steindel M, Carvalho Pinto JC, Toma HK, Mangia HR, Ribeiro-Rodrigues R, Romanha, AJ 1991. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920) isolated from a sylvatic rodent (*Echimys dasythrix*) in Santa Catarina island, Santa Catarina state: first report of this trypanosome in Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 73-79.
- Steindel M, Dias-Neto E, Carvalho CJ, Grisard E, Menezes C, Murta SM, Simpson AJ, Romanha AJ 1993. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and isoenzyme analysis of *Trypanosoma rangeli* strains. *J Euk Microbiol* 4: 261-267.
- Urdaneta-Morales S, Tejero F 1992. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920): observations upon pleomorphism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 511-516.
- Vallejo GA, Marinkelle CJ, Guhl F, Sánchez N 1988. Comportamiento de la infección y diferenciación morfológica entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* em el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. *Rev Bras Biol* 48: 577-587.

First report on the occurrence of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the state of Ceará, Brazil, in naturally infected triatomine *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)

Fernando Braga Stehling Dias, Liléia Diotaiuti⁺, Alvaro José Romanha^{*}, Cláudia Mendonça Bezerra^{**}, Evandro Marques de Menezes Machado

Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas^{*} Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas René Rachou-Fiocruz, Av. Augusto de Lima 1715, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil ^{**} Secretaria do Estado da Saúde do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

The aim of this work was to identify and report the occurrence of Trypanosoma rangeli and Trypanosoma cruzi in naturally infected Rhodnius nasutus (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the state of Ceará, Brazil. Triatomines feces, salivary glands, and hemolymph were collected for fresh examination, and specific detection of T. rangeli and T. cruzi DNA by polymerase chain reaction was carried out. The specific characterization of these two parasites showed the simultaneous presence of both parasites in two (7.7%) of the 26 positive insects. Our results provide further knowledge on the geographical distribution of T. rangeli in Brazil.

Key words: *Trypanosoma rangeli* - *Rhodnius nasutus* - Ceará

Trypanosoma rangeli Tejera, 1920 and *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, are hemoflagellate protozoa of the Family Trypanosomatidae, belonging to the Order Kinetoplastida (D'Alessandro 1976). Both parasites are sympatric in Americas with a wide geographic distribution. *T. cruzi* is the etiological agent of Chagas disease, and *T. rangeli* is responsible for a non-pathogenic infection in mammals (D'Alessandro & Saraiva 1992). Both parasites can be found in the same triatomine vector species, and in the same vertebrate hosts, which are mammals belonging to different orders and genera, including humans (D'Alessandro & Saraiva 1992). Although *T. rangeli* is not pathogenic for the vertebrate host, its occurrence should be recorded as it frequently presents an overlapping distribution with *T. cruzi* (D'Alessandro 1976). *T. rangeli* bears similarities with *T. cruzi* regarding surface antigens, impairing the diagnosis of Chagas disease when serological assays are carried out. Moreover, considering the fact that *T. rangeli* is highly pleomorphic, its morphological identification may be rather difficult, being misidentified as *T. cruzi* (Urdaneta-Morales & Tejero 1992).

Interactions between *T. rangeli* and its invertebrate host starts after ingestion of trypomastigote forms during the triatomine blood feeding. Following ingestion, trypomastigotes undergo differentiation to epimastigotes that multiply in the insect vector intestine. After reaching the intestine lumen, the epimastigote forms invade hemocelle, in which they remain to multiply either

inside or outside hemocytes and, then, they actively penetrate through salivary glands, especially in *Rhodnius* species, where metacyclogenesis occurs (D'Alessandro & Hincapie 1986). In vertebrate hosts, *T. rangeli* has been reported to infect more than 20 genera in five different animal orders (D'Alessandro & Saraiva 1992). The vertebrate host infection occurs during the triatomine blood feeding, through which infective trypomastigotes are released together with the vector saliva (Vallejo et al. 1988).

In Brazil, the first report on the occurrence of *T. rangeli* was issued by Deane (1958) in *Didelphis marsupialis*, in the state of Pará. Steindel et al. (1991) reported the presence of *T. rangeli* in the rodent *Echimyus dasythrix* in Southern Brazil. Several other reports on *T. rangeli* occurrence in Brazil have been given by some investigators such as those by Diotaiuti et al. (1992) who reported the occurrence of that flagellate, based on its morphology, in *R. neglectus* in the state of Tocantins; Lucena and Vergueti (1973) reported *Panstrongylus megistus* infections with the flagellate, also based on its morphological traits, in the state of Alagoas; in Bahia, Barrett and Oliveira (1977) reported natural infection of a *R. domesticus* nymph with *T. rangeli*; Ramirez et al. (2002) demonstrated *D. albiventris* infection with *T. rangeli* in the Southeast. A single report on human infection with *T. rangeli* was made by Coura et al. (1996) in the Amazon region, and *R. brethesi* may be considered the most likely vector in the region.

The current investigation was aimed at verifying the occurrence of *T. rangeli* in *R. nasutus* specimens collected on different palm tree species, namely: babaçu palm (*Attalea speciosa*); buriti (*Mauritia flexuosa*); carnaúba palm (*Copernicia prunifera*); catolé palm (*Syagrus oleracea*); and macaúba-barriguda (*Acrocomia intumescens*), in rural areas from five municipalities of Chapada do Araripe, in the southern region of Ceará, Brazil, between 14 March and 06 April, 2006.

Financial support: Fapemig, CNPq, CPqRR-Fiocruz

⁺ Corresponding author: diotaiuti@cpqrr.fiocruz.br

Received 20 December 2006

Accepted 26 April 2007

The insects were evaluated regarding the presence of trypanosome in their intestinal content through analyzing their fresh feces obtained by abdominal compression; hemolymph analysis on glass slides was also carried out after sectioning one of the insect legs. Salivary glands from positive hemolymph were dissected in order to verify the presence of parasites. All biological material obtained was analyzed under light microscopy (magnification 160 x). The trypanosomes were isolated from insects in LIT medium added to blood agar maintained at 27.5°C, keeping weekly passages.

Polymerase chain reaction (PCR) has been known to be more sensitive than optical microscopy for detection and specific characterization of these trypanosomes in insect vectors, mainly concerning the possibility of mixed infection (Machado et al. 2000). Hence, we have used PCR for specific detection of *T. rangeli* and *T. cruzi* in samples of isolated parasites; DNA was obtained from parasite cultures using standard phenol/chloroform/isoamyl alcohol extraction (Steindel et al. 1993). Detection of *T. rangeli* was based on amplification of an intergenic region of *T. rangeli* mini-exon with the following primers: TrINT-1 – 5'-CGC CCA TTC GTT TGT CC-3'; TrINT-2 – 5'-TCC AGC GCC ATC ACT GAT C-3'; and TrINT-3 – 5'-AAG ATG AGG CGT GGC TCT G-3' (Grisard et al. 1999). For *T. cruzi* detection, specific primers were designed to amplify an intergenic region of the mini-exon gene (Souto et al. 1996). As positive control, the *T. rangeli* San Agustín strain, isolated from a Colombian chagasic patient, was used. The products were submitted to electrophoresis in polyacrylamide gel and then revealed after being silver stained.

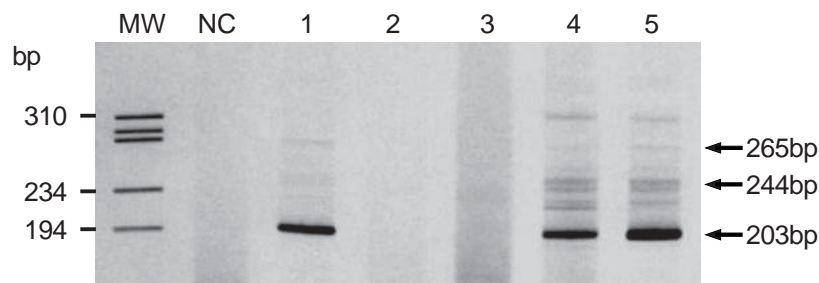
Out of the 26 insects positive for trypanosome in their intestines, two (7.7%) showed to be positive for trypanosome in hemolymph without showing parasites in their salivary glands though. Molecular typing of isolated samples using TrINT primers showed to be specific for *T. rangeli*, amplifying a band of approximately 203 bp and two other bands of less intensity, 244 and 265 bp, respectively, which provided corroborating evidence to our microscopic findings (Figure). In all isolates, *T. cruzi* was identified (data not shown), including

the samples in which *T. rangeli* was isolated, which confirmed the presence of mixed infection.

In the present study, identification of Trypanosomatidae found in the insect intestine tract by means of morphological analysis was not possible, requiring a diagnosis confirmation through PCR. An overlapping geographic distribution of both *T. cruzi* and *T. rangeli*, occurrence of mixed infection in vertebrate and invertebrate hosts and, *T. rangeli* pleomorphism account for the need for molecular techniques for identification of Trypanosomatidae species. By using PCR, that enabled amplification of the intergenic region of the mini-exon gene, we were able to identify the Trypanosomatidae species in *R. nasutus* collected in the state of Ceará, Brazil. The present communication is the first to report the occurrence of *T. rangeli* in the state of Ceará, Brazil, identified in naturally infected triatomines of the species *R. nasutus*.

Chapada do Araripe is comprised in the mountain regions of the Brazilian semi-arid, regarded as remaining areas of humid forests in the caatinga vegetation. It presents typical elements of the Brazilian Amazon, Mata Atlântica and cerrado (Bagnoli 1998), what is validated through geologies, floristics, and faunistics evidences (Monteiro & Kaz 1994). In regions with an overlapping of the geographic distribution of *T. cruzi* and *T. rangeli*, co-infections in vectors and vertebrates are common (D'Alessandro & Saraiva 1992). The presence of marsupials in the palms, being this important reservoir of both parasites, may favour the occurrence of co-infection in the same insect, as suggested for other authors (Cuba-Cuba 1998, Ramirez et al. 2002), specially considering that blood of these animals in the stomachal content of infected triatomines was identified through the precipitin technique (data not shown).

The occurrence of *T. rangeli* in naturally infected *R. nasutus* from palm trees in Ceará provides further knowledge on the geographical distribution of this parasite in Brazil. Considering that in the Brazilian caatinga there are areas similar to the Chapada do Araripe (Cavalcante 2005), it is very likely that the occurrence of *T. rangeli* in triatomines colonizing palm trees in the Northeast,



Polymerase chain reaction amplification products of the mini-exon gene generated by *Trypanosoma* samples isolated from naturally infected *Rhodnius nasutus* using the primers TrINT 1, TrINT 2, and TrINT 3. MW: molecular weight, the numbers on the left are the size markers (ϕ X174 digested by the restriction enzyme *Hae*III); NC: negative control (no DNA add). Lanes - 1: strain RN01; 2: RN02; 3: RN03; 4: RN04; 5: strain San Agustín (positive control), visualized on 8% polyacrylamide gel, silver stained.

as well as associated with vertebrate hosts, may be even higher. As is known, there was a link among the Brazilian caatinga, Amazon, and Mata Atlântica regions that reinforces this hypothesis (Cavalcante 2005). Studies about genetic proximity among *T. rangeli* strains from several geographic regions may collaborate to clarify a possible migratory route that culminated in the establishment of this parasite in Brazilian Northeast. This observation also reinforces the idea that false-positive results of diagnostic tests for *T. cruzi* infection are possible, as mentioned by Gurgel-Gonçalves et al. (2004).

ACKNOWLEDGMENTS

To the Secretaria de Estado da Saúde do Ceará for helping us to collect the insects.

REFERENCES

- Bagnoli E 1998. Projeto Araripe – 1ª parte: Conhecendo o Araripe: Atividades produtivas da população. Turismo, Ecoturismo, Turismo Cultural e Científico. In Projeto Araripe. [s.i]: [s.n.], p. 292-318.
- Barrett TV, Oliveira TS 1977. A *Trypanosoma* indistinguishable from *Trypanosoma rangeli* in the haemolymph of *Rhodnius domesticus* from Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 71: 445-446.
- Cavalcante A 2005. *Jardins Suspensos no Sertão*, Scientific American Brasil, Duetto Editorial, São Paulo, n. 32, janeiro.
- Coura JR, Fernandes O, Arboleda M, Barrett TV, Carrara N, Degraive W, Campbell DA 1996. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90: 278-279.
- Cuba-Cuba CA 1998. Revisión de los aspectos biológicos y diagnósticos del *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rangeli*. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 207-220.
- D'Alessandro A 1976. Biology of *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rangeli* Tejera, 1920. In WHR Lumsden, DA Evans, *Biology of Kinetoplastida*, vol. 1, Academic Press, London, p. 327-403.
- D'Alessandro A, Saraiva NG 1992. *Trypanosoma rangeli*. In *Parasitic Protozoa*, 2nd ed., Vol. 2, Academic Press, San Diego, p. 1-54.
- D'Alessandro A, Hincapie O 1986. *Rhodnius neivai*: a new experimental vector of *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg* 35: 512-514.
- Deane LM 1958. Novo hospedeiro de tripanosomas dos tipos *cruzi* e *rangeli* no Estado do Pará. O marsupial *Metachirops opossum opossum*. *Rev Bras Malar Doenças Trop* 10: 531-541.
- Diotaiuti L, Silveira AC, Elias M, Steindel M 1992. The possibility of occurrence of *Trypanosoma rangeli* in the state of Tocantins, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 451.
- Grisard EC, Campbell DA, Romanha AJ 1999. Mini-exon gene sequence polymorphism among *Trypanosoma rangeli* strains isolated from distinct geographical regions. *Parasitology* 118: 375-382.
- Gurgel-Gonçalves R, Ramalho ED, Duarte MA, Palma ART, Abad-Franch F, Carranza JC, Cuba-Cuba CA 2004. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 46: 323-330.
- Lucena DT, Vergetti JG 1973. Infecção natural de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) por *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920), no interior do Estado de Alagoas. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 15: 171-178.
- Machado EMM, Alvarenga NJ, Romanha AJ, Grisard EC 2000. A simplified method for sample collection and DNA isolation for polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 836-866.
- Monteiro S, Kaz L 1994. *Caatinga – Sertão Sertanejos*, Alumbamentos Livroarte, Rio de Janeiro, 255 pp.
- Ramirez LE, Lages-Silva E, Alvarenga-Franco F, Matos A, Vargas N, Fernandes O, Zingales B 2002. Abstract high prevalence of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in opossums and triatomids in a formerly-endemic area of Chagas disease in Southeast Brazil. *Acta Trop* 84: 189-198.
- Souto R, Fernandes O, Macedo A, Campbell D, Zingales B 1996. DNA markers define two major phylogenetics lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol* 83: 141-152.
- Steindel M, Carvalho Pinto JC, Toma HK, Mangia HR, Ribeiro-Rodrigues R, Romanha, AJ 1991. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920) isolated from a sylvatic rodent (*Echimys dasythrix*) in Santa Catarina island, Santa Catarina state: first report of this trypanosome in Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 73-79.
- Steindel M, Dias-Neto E, Carvalho CJ, Grisard E, Menezes C, Murta SM, Simpson AJ, Romanha AJ 1993. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and isoenzyme analysis of *Trypanosoma rangeli* strains. *J Euk Microbiol* 4: 261-267.
- Urdaneta-Morales S, Tejero F 1992. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920): observations upon pleomorphism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 511-516.
- Vallejo GA, Marinkelle CJ, Guhl F, Sánchez N 1988. Comportamiento de la infección y diferenciación morfológica entre *Trypanosoma cruzi* y *T. rangeli* en el intestino del vector *Rhodnius prolixus*. *Rev Bras Biol* 48: 577-587.



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
DEPARTAMENTO DE GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CONSTRUÇÃO CIVIL
INSTITUTO TECNOLÓGICO DO CARIRI - ITEC
GEOPARK ARARIPE**

**RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS-CIENTÍFICAS REFERENTES AO PEDIDO
DE DESAFETAÇÃO DA ZONA ESPECIAL AMBIENTAL DO RIO
BATATEIRAS – ZEA 04**

1. IDENTIFICAÇÃO:

SOLICITANTE: Ministério Público do Estado do Ceará - Promotoria de Justiça do Juizado Especial Cível e Criminal da Comarca de Crato-CE.

REFERÊNCIA: Processo Civil nº 35/2016 – PJJECC/Crato/CE.

ASSUNTO: Construção do Loteamento Brisa do Seminário na Zona Especial Ambiental do Rio Batateiras – ZEA 04

LOCAL: Zona Especial Ambiental – ZEA 04 – Rio Batateiras, Crato-CE.

2. PRELIMINARES

Antes da exposição de recomendações técnicas-científicas, é salutar realizar um breve histórico do processo de desafetação da ZEA 04.

O Promotor de Justiça do DECON da Cidade do Crato, Doutor Thiago Marques Vieira, no âmbito da instrução do Processo Civil nº 35/2016 PJJEC/CRATO/CE (processo de desafetação de uma Zona Especial Ambiental – ZEA 04 – Rio Batateiras), convocou uma Audiência Pública tendo como fito colher os mais diversificados pontos de vista acerca da temática em tela de uma gama variada de entidades envolvidas com a questão ambiental no Crato.

Segundo consta nos documentos apensados pela Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Territorial do Crato (SEMADT), a Procuradoria

Geral do Município opinou favoravelmente pela desafetação da ZEA (parecer nº 010512/2017). A Câmara de Vereadores também aprovou a desafetação da referida ZEA.

Entretanto, após a aprovação pela Câmara de Vereadores, o Ministério Público foi provocado e, ao analisar todo o conjunto de documentos encaminhados, recomendou a suspensão da sanção por parte do Poder Executivo. A recomendação foi acatada e o processo de desafetação encontra-se atualmente em debate no âmbito do Ministério Público.

Considerando o contexto exposto, Doutor Thiago Marques Vieira solicitou que a Universidade Regional do Cariri (URCA) constituísse uma equipe multidisciplinar para analisar os pareceres existentes e pontuar a sua posição acadêmica referente ao pedido de desafetação. É nesse macrocontexto que o presente parecer se insere. Salienta-se que o tempo foi curto e tudo ficou circunscrito a “breves recomendações”, uma vez que caberá ao Poder Público efetuar, eventualmente, estudos mais detalhados da área.

Após vistoria ao local realizada em 13 de dezembro de 2018 pela equipe multidisciplinar da URCA, formada por professores do Departamento de Geografia, do Departamento de Biologia, do Departamento da Construção Civil, do Instituto Tecnológico do Cariri – ITEC e do Geopark Araripe, além de alguns acadêmicos do curso de Tecnologia da Construção Civil, foi possível constatar que grande parte da área territorial do loteamento está localizada dentro de uma Zona Especial Ambiental (ZEA 04 – Rio Batateiras), preconizada pela lei municipal nº 2590/2005 (Plano Diretor de Desenvolvimento Urbano - PDDU).

Cabe destacar que quando da concepção das Zonas Especiais Ambientais foi contratada uma empresa de consultoria para fins de formulação do Plano Diretor da Cidade do Crato. Para conformar essas ZEAs foram realizados levantamentos e estudos pertinentes e essa definição não foi realizada à revelia da ciência ambiental, mas seguiu critérios técnicos e científicos. Entretanto, essa comissão informa que não teve acessos aos memorandos técnicos utilizados na definição dessas ZEAs.

A Lei Municipal nº 2590/2005 (Plano Diretor de Desenvolvimento Urbano - PDDU), em seu artigo 65, conceitua ZEA como sendo “áreas sensíveis e de interesse ambiental, conformadas pelos parques urbanos, pelas áreas de preservação ecológica, em suas várias modalidades, pelas faixas de

preservação e proteção de todos os recursos hídricos no território da cidade do Crato”. O artigo 70 da mesma lei, por seu turno, estabelece as restrições de uso, a saber: “as atividades permitidas nas Zonas Especiais Ambientais são unicamente aquelas que tenham vínculo funcional direto com o objeto de sua criação”.

A ZEA 04 foi assim definida, de modo geral, ao que tudo parece, tendo como fundamento a proteção dos recursos hídricos de superfície e subsuperfície, bem como a proteção de encostas íngremes, com inclinação superior a 45°, revestidas por vegetação e que ajuda na contenção de possíveis processos erosivos. Essa inclinação coloca parte da área do loteamento dentro da concepção de APP (Área de Preservação Permanente) insculpida no artigo 30 da Lei 12.651/2012 (Código Florestal), concebida como sendo “área protegida, coberta ou não por vegetação nativa, com a função ambiental de preservar os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica e a biodiversidade, facilitar o fluxo gênico de fauna e flora, proteger o solo e assegurar o bem-estar das populações humanas”.

A partir da visita *in locu* da equipe e das ponderações legais elencadas, conclui-se que é temerário, do ponto de vista ambiental e legal, a liberação total da área para fins de expansão urbana, especialmente de empreendimentos e edificações que tendam a proporcionar um adensamento populacional que promovam remoção de vegetação e ocupação de áreas íngremes mediante cortes e remoção do solo.

Nesse sentido, partindo da premissa que boa parte da área não comporta uso e ocupação que comprometa severamente a dinâmica ambiental, **propugna-se que sejam realizados estudos mais detalhados a fim de determinar quais áreas poderão ser efetivamente ocupadas para fins de loteamento e parte seja reservada para a preservação.**

3. DESCRIÇÃO DO EMPREENDIMENTO

O empreendimento em tela projeta a construção de 1.367 lotes, para uma população estimada de 4.511 habitantes. Entretanto, análises mais específicas da dinâmica demográfica, direciona para uma ocupação muito maior do que a que está estimada. Ademais, o empreendimento propõe ser

implementado entre duas zonas francamente povoadas o que, por si só, indica a uma sinergia de ocupação tendo em vista o processo de interligação que será realizado pelo empreendimento.

No que tange ao loteamento esclarece-se que ele recebeu parecer favorável dos técnicos da SEMADT (parecer técnico nº 106003791701, de 23/01/2017) e dos técnicos da Secretaria Estadual de Meio Ambiente (através da Coordenadoria de Biodiversidade – COBIO – parecer técnico nº 84, de 16/11/2016), uma vez que o empreendimento fica localizado a um raio de 1km da Unidade de Conservação Parque Estadual Sítio Fundão. Entretanto, os referidos pareceres não consideraram a fragilidade ambiental da área, especialmente no que se refere aos aspectos topográficos, vegetacionais e de recursos hídricos o que induziu o proprietário a fazer uso total da área.

4. DA VISTORIA E ANÁLISE DOS DOCUMENTOS DO LOTEAMENTO

Na sequência serão enumeradas algumas **RECOMENDAÇÕES DE NATUREZA TÉCNICA E CIENTÍFICA** no que concerne ao processo em tela.

4.1. Análise da documentação apresentada:

Após exaustiva análise da documentação do processo de Licenciamento Ambiental, referente à fase de Licença Prévia do Loteamento Residencial denominado Brisa do Seminário, tecemos as seguintes considerações:

- I) Há incongruência no que diz respeito à extensão da área do empreendimento, vejamos: o Requerimento de Licença (fl. 02) refere-se a uma área de 567.414,57 m²; o Parecer Técnico nº 84/2016 PARES Sítio Fundão (fl. 39) e o Memorial Descritivo (fl. 44) fazem alusão a uma área de 50,65ha; Já o Estudo de Viabilidade Ambiental cita uma área de 70.65ha. Consideramos de extrema necessidade a padronização dessas informações para melhor compreensão da área em análise.

- II) O memorial descritivo (fl. 40) relata a existência de uma Área de Preservação Permanente que corresponde a 45.047,74m², sendo esta, localizada às margens do Rio Batateira, conforme plantas apresentadas no processo. Em visita ao local foi possível constatar a existência de outras áreas nitidamente consideradas de preservação permanente. Quando considerada a Lei 12.651/2012, que define em seu Art 4º, inciso V, que as encostas ou partes destas com declividade superior a 45°, equivalente a 100% (cem por cento) na linha de maior declive, são áreas de preservação permanente, percebemos que tanto a documentação apresentada na fase de requerimento de licença prévia, quanto os estudos ambientais não identificaram a existência dessas áreas. Sendo que as mesmas são perceptíveis a “olho nu”, desse modo, sugerimos que seja realizado um apurado levantamento planialtimétrico nas áreas de acentuado declive para identificação de áreas com tais características, uma vez que essas não devem ser objeto de ocupação humana, dada a sua fragilidade ambiental no que diz respeito aos aspectos geológicos, a presença de representativa vegetação nativa e o risco de erosões em decorrência de futuras supressões vegetais, tanto para a área com declividade, quanto para as áreas circunvizinhas que poderão receber sedimentos destas, acarretando em uma série de problemas para a gestão pública;
- III) Em petição apresentada pelo empreendedor (fl. 148) o mesmo alega que o projeto está encravado em área pouco sensível ambientalmente, fazendo referência ao parecer do Sr. José Arlindo Sampaio Siebra Junior, porém não aponta em que parte do Parecer Técnico essa informação encontra-se inserida. Não há como indicar que esta área seja pouco sensível sob o ponto de vista ambiental sem a profunda análise através de um instrumento adequado para tal, nessa perspectiva o empreendedor apresentou um Estudo de Viabilidade Ambiental (EVA) sobre o qual tecemos alguns comentários mais adiante;

IV) No que se refere ao Estudo de Viabilidade Ambiental (EVA), foi emitido um Termo de Referência para elaboração do mencionado documento, sendo este o conteúdo mínimo a ser abordado pelo profissional responsável por sua elaboração. Em relação ao EVA tecemos os seguintes comentários:

- a) Na folha 195, ao tratar de Movimentação de Terra, o responsável pelo estudo afirma que “Não haverá movimentação de solo nas áreas de preservação permanente (APP) e áreas verdes presentes no terreno”, sendo importante ressaltar que existem lotes alocados em áreas nitidamente caracterizadas como APP, as quais não devem ser ocupadas por edificações, e mesmo que irregularmente possa vir a ocorrer, conseqüentemente haverá movimentação de terra;
- b) No que tange ao item 5 (identifica análise e/ou avaliação dos impactos ambientais) o responsável pelo estudo optou pelo uso de uma Metodologia de Avaliação de Impactos Ambientais amplamente conhecida na literatura especializada, a Matriz de Interação, cuja principal característica desse método é buscar apresentar uma relação entre causa (ação do empreendimento) e efeito (impacto ambiental gerado). Uma vez que foi definida essa metodologia, seria de fundamental importância a apresentação da referida matriz contendo as ações do empreendimento e os referidos impactos por ela gerados. No entanto, o estudo não apresenta nenhuma matriz, embora faça referência a uma tabela em anexo (fl. 205), a mesma não se encontra na documentação disponibilizada, sendo impossível identificar quais são os 31 impactos ambientais avaliados no estudo. Não havendo, portanto, como essa equipe avaliar se os 31 impactos condizem com a realidade encontrada na visita em campo.
- c) No item 5.1.2 (fl. 217) o EVA apresenta 10 ações impactantes do empreendimento, sendo necessária a apresentação dos impactos a elas relacionados, uma vez que essa é a proposta da matriz de Interação utilizada na avaliação de impactos ambientais. A simples

indicação de ações impactantes não é suficiente para representar a dinâmica da possível ocorrência de impactos ambientais em uma determinada área;

- d) No item 6 (fl. 219) o EVA apresenta 8 medidas mitigadoras para os impactos ambientais do empreendimento, no entanto, não faz referência a quais impactos estas estão relacionadas, sendo razoável a apresentação de, no mínimo, uma medida mitigadora para cada impacto ambiental identificado, sendo assim, faz-se necessária a indicação de pelo menos 31 medidas, relacionando-as aos seus respectivos impactos;
- e) No item considerações e recomendações (fl. 221) o estudo sugere que os resíduos sólidos orgânicos e não orgânicos sejam recolhidos sistematicamente pela “*Prefeitura de Sobral*”, consideramos não ser aplicável tal recomendação, uma vez que o empreendimento se encontra no município de Crato, localizado a cerca de 580 km daquele município. Esse fato, ainda, levanta dúvidas sobre a pertinência, em todos os termos técnicos e científicos disponibilizados no documento, dos estudos realizados e da área do empreendimento. Esse fato não é de menor importância, mas caberá ao responsável pela elaboração do EVA posteriores esclarecimentos.
- f) Quando da caracterização dos dados demográficos do município do Crato são utilizadas informações provenientes do site Wikipedia. É de consenso, no meio acadêmico, que essa referência não é plenamente confiável para embasar estudos de natureza técnica ou científica, uma vez que é um sítio eletrônico que é coletivamente construído, muitas vezes à revelia de dados confiáveis e que tenham passado pelo crivo dos pares no campo acadêmico. Salienta-se que os dados demográficos não são, no conjunto do estudo, de menor importância, haja vista que o projeto em tela se refere a um loteamento de cunho residencial/comercial que irá, certamente, elevar os indicadores de adensamento humano no local.

- g) Os levantamentos atinentes à biodiversidade são vagos e insuficientes para que fosse realizada uma análise mais acurada do empreendimento na dinâmica da vida das espécies da fauna e flora que ali habitam. Nesse mesmo sentido, os dados referentes às alterações da dinâmica das águas superficiais, mormente no que tange à remoção de sedimentos e posterior acúmulo na calha do rio Batateiras, os dados são precários ou inexistentes. Nesse sentido, não é possível compreender o real impacto da remoção desses sedimentos, o que inviabiliza a possibilidade de mensurar o presumível assoreamento do referido curso d'água.

4.2. Análise sobre os levantamentos topográficos apresentados:

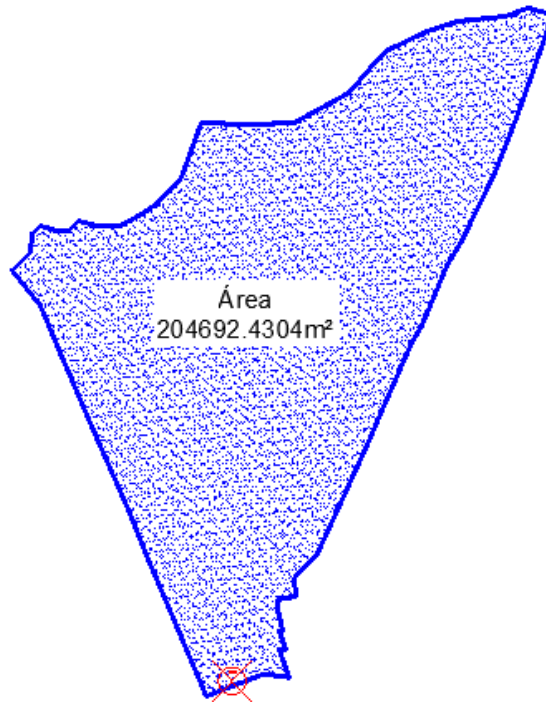
Após conferências de coordenadas, sobreposição de levantamentos e análise da poligonal foram feitas as seguintes considerações sobre a área em comento baseada nos mapas topográficos anexados ao processo:

- l) Inicialmente foi feito uma conferência das coordenadas apresentadas em quadros de memoriais descritivos dos dois mapas anexos ao processo. Chegamos à seguinte conclusão:

- a) Referente ao mapa anexo (fl. 17) processo n.º 201702021053, apresenta uma área de 204.645,61m², diante da conferência a partir das coordenadas do memorial descritivo, foi encontrada uma área de 204.692,43m² sendo um valor maior do que exposto no mapa, apresentando uma divergência de 46,82m². No referido mapa não constam informações relevantes sobre o levantamento, tais como:

- ✓ Tipo de equipamento topográfico utilizado;
- ✓ Tipo de software topográfico utilizado;
- ✓ Mapa de localização.

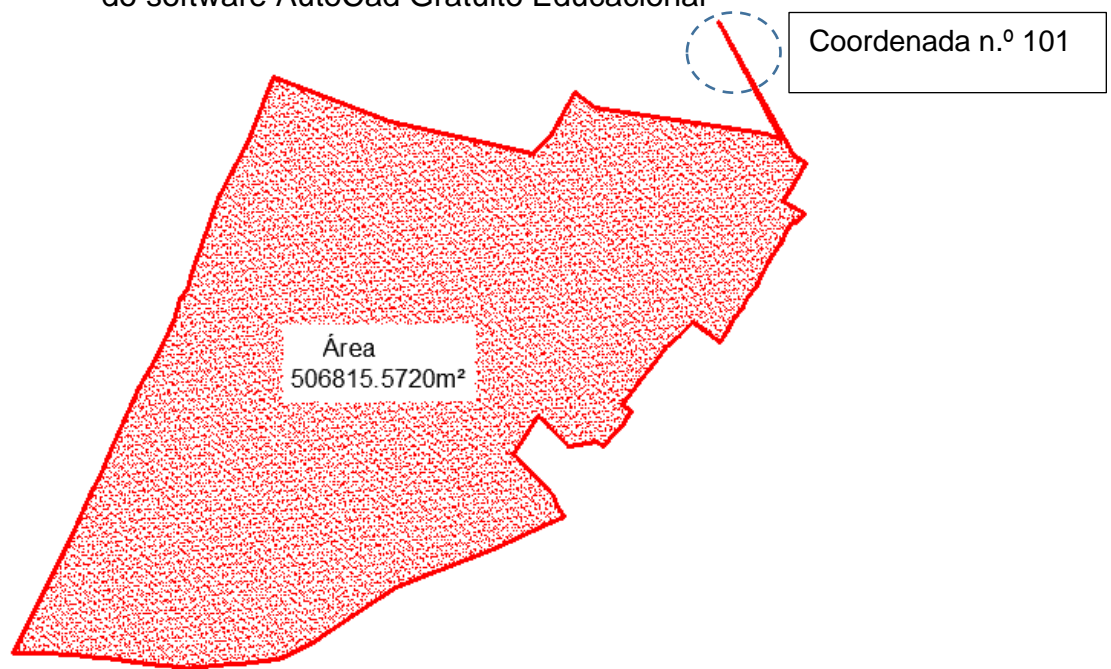
Figura 1 – Desenho obtido através das coordenadas contidas no mapa através do software AutoCad Gratuito Educacional



b) Referente ao mapa anexo (fl. 29) processo n.º 20160608103, apresenta uma área de 506.500,00m², diante da conferência a partir das coordenadas do memorial descritivo, foi encontrada uma área de 506.815,57m² sendo um valor maior do que exposto no mapa, apresentando uma divergência de 315,57m². No referido mapa não constam informações relevantes sobre o levantamento, tais como:

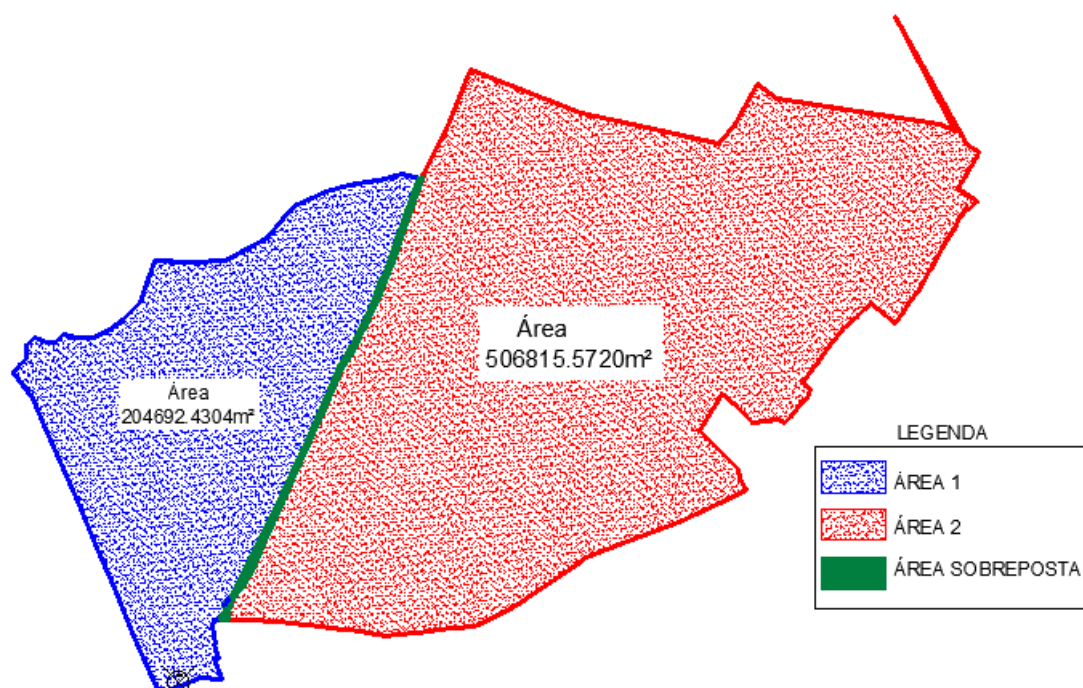
- ✓ Tipo de equipamento topográfico utilizado;
- ✓ Tipo de software topográfico utilizado;
- ✓ Mapa de localização;
- ✓ Inexistência do sistema de referência utilizado nas coordenadas;
- ✓ Divergência na coordenada de n.º 101 onde apresentou uma variação de localização para fora da área mapeada o que resultou na diferença da área total, conforme figura 2.

Figura 2 – Desenho obtido através das coordenadas contidas no mapa através do software AutoCad Gratuito Educacional



- c) Após a junção dos arquivos foi observado que o lado Leste do mapa anexo (fl. 17) processo n.º 201702021053 está sobrepondo em vários trechos com o lado Oeste do mapa anexo (fl. 29) processo n.º 20160608103. Após análise das coordenadas apresentadas em ambos os mapas se conclui que há uma invasão e sobreposição de confrontantes nos lados Leste/Oeste, conforme figura 3.

Figura 3 – Junção das áreas 1 e 2



II) Do ponto de vista de implantação do loteamento chamamos atenção para o fato da grande possibilidade da ocorrência de problemas de ordem geológico-geotécnica, com produção de áreas de risco devido a erosão, assoreamento, acidentes associados a deslizamentos de taludes e encostas, pois grande parte da área é de encosta e não atende ao limite máximo de declividade compatível com a ocupação urbana, conforme preconizado na lei de uso e parcelamento do solo (Lei 6.766/1979, conhecida como Lei Lehmann), mais precisamente em seu artigo 3º, item III, que proíbe a ocupação urbana de encostas com declividade igual ou superior a 30% (~16,5º).

III) Outro problema é a existência de mananciais de água que abastecem grande parte da cidade, além do rio Batateiras que passa nas proximidades, que com a ocupação da área loteada poderá causar a poluição desses mananciais em virtude da inexistência de sistema público de esgotamento sanitário o que obriga a solução a ser do tipo individual, ou seja, através do sistema de fossa séptica e sumidouro.

5. CONCLUSÃO

Com base nas informações descritas acima, pode-se concluir que existem falhas e inconsistências na documentação e na concepção da liberação da área total proposta para o loteamento. Assim, da forma que se encontra, representa sérios riscos ambientais. Desta forma, a equipe multidisciplinar sugere as seguintes recomendações:

- a) Realizar estudos ambientais mais detalhados a cerca do processo de desafetação da ZEA 4, inclusive fazendo uso dos dados e levantamentos realizados quando da formulação do Plano Diretor;**
- b) Preservar as áreas com inclinação superior a 30° e o respectivo componente vegetacional;**
- c) Compatibilização das áreas territoriais do empreendimento nos diversos documentos que compõe o processo;**
- d) Apresentar levantamento plano-altimétrico nas áreas de acentuado declive visando a identificação das áreas de encosta, declividade superior a 45°, nos termos do art. 4°, inciso V, da Lei 12.651/2002;**
- e) Correções/Complementações ao Estudo de Viabilidade Ambiental – EVA, conforme detalhado no item 4.1, inciso IV, deste parecer;**
- f) Informar qual o tipo de equipamento e softwares utilizados nos levantamento topográficos apresentados, assim como apresentar mapa de localização georreferenciado;**
- g) Se manifestar sobre medidas a serem adotadas para atendimento ao art. 3°, inciso III da lei 6.766/1979;**
- h) Se manifestar sobre solução para o tipo de esgotamento sanitário a ser utilizado nos lotes haja vista a existência de mananciais de água nas proximidades.**

6. ENCERRAMENTO

O presente parecer técnico possui 13 (treze) laudas de formato A4, digitadas de um só lado.

Crato/CE, 11 de janeiro de 2019.

FRANCISCO EDMAR DE SOUSA SILVA

JANEIDE FERREIRA ALENCAR DE OLIVEIRA

JEFFERSON LUIZ ALVES MARINHO

JOSÉ LAÉCIO DE MORAES

NIVALDO SOARES DE ALMEIDA