



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS E NÍVEIS DE MERCÚRIO EM
PELOS DE LOBOS-GUARÁS (*Chrysocyon brachyurus*)**

MARISA VIEIRA DE CARVALHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

ISÓTOPOS ESTÁVEIS E NÍVEIS DE MERCÚRIO EM PELOS DE LOBOS-GUARÁS
(*Chrysocyon brachyurus*)

MARISA VIEIRA DE CARVALHO

ORIENTADOR: PROF. DOUTOR FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 188/2022

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2022

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

ISÓTOPOS ESTÁVEIS E NÍVEIS DE MERCÚRIO EM PELOS DE
LOBOS-GUARÁS (*Chrysocyon brachyurus*)

MARISA VIEIRA DE CARVALHO

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Saúde Animal, como parte
dos requisitos necessários à obtenção do Grau
Mestre em Saúde Animal

Aprovada por:



Francisco Ernesto Moreno Bernal (Doutor) UnB

Orientador



Líria Queiroz Luz Hirano (Doutora) UnB

Examinador Interno



Fábio José Viana Costa (Doutor) Polícia Federal

Examinador Externo

Brasília, 30 de junho de 2022.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

CARVALHO, M. V. de. Isótopos Estáveis e níveis de Mercúrio em pelos de Lobos-Guarás (*Chrysocyon brachyurus*).

Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 50 p, Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos; foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Ci	CARVALHO, MARISA VIEIRA ISÓTOPOS ESTÁVEIS E NÍVEIS DE MERCÚRIO EM PELOS DE LOBOS GUARÁS (<i>Chrysocyon brachyurus</i>) / MARISA VIEIRA CARVALHO; orientador FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL. -- Brasília, 2022. 50 p. Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) -- Universidade de Brasília, 2022. 1. Canídeos silvestres. 2. Onívoros. 3. Isótopos Estáveis. 4. Carbono e Nitrogênio. 5. Contaminação por Mercúrio. I. ERNESTO MORENO BERNAL, FRANCISCO , orient. II. Título.
----	--



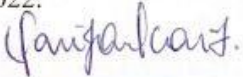
Universidade de Brasília
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

**DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE
DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE
DOUTORADO**

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifico e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 30 de junho de 2022.

Assinatura do/a discente: 

Programa: Programa de Pós-Graduação em
Saúde Animal

Nome completo: Marisa Vieira de Carvalho

Título do Trabalho: Isótopos Estáveis e Níveis de Mercúrio em pelos de
Lobos-Guarás (*Chrysocyon brachyurus*)

Nível: (X) Mestrado () Doutorado

Orientador: Francisco Ernesto Moreno Bernal

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao professor Francisco Ernesto Moreno Bernal porque toda vez que estive perto do senhor, sempre foi um aprendizado. A todos os colaboradores e professores da Universidade de Brasília que conheci nesse período de estudos. A toda equipe do laboratório de Ciências Ambientais da Universidade Estadual Norte Fluminense – UENF, RJ, especialmente ao professor Carlos Eduardo Rezende por todo apoio dado. Ao pesquisador Joares May e ao pessoal da Fazenda Trijunção, por compartilharem material para a pesquisa. Ao Parque Vida Cerrado, especialmente à Paula Damasceno, por ser companheira de estudos e de trabalhos que temos em comum. Às instituições Fundação Jardim Zoológico de Brasília e Parque Zoológico de Goiânia, pela parceria nesta pesquisa e às pessoas próximas que ajudaram direta ou indiretamente.

Agradeço também toda a motivação que meu marido Marcelo me deu para esse projeto se concretizar, à compreensão e ao apoio, principalmente o psicológico dado por ele, nesse período. Minha amiga e parceira Ana Raquel Farias que faz parte, diretamente, disso tudo. Agradeço aos ensinamentos de Mariana Carvalho, pessoa na qual me inspiro muito. Agradeço a generosidade de pessoas especiais como Wellington Coelho e Ane Beatriz Escoto Teixeira.

Agradeço o enorme apoio dos amigos e companheiros de trabalho Bryam Amorim e Ana Júlia Costa. Toda equipe JAGUARACAMBÉ que sabe o que é trabalhar em equipe, tenho orgulho de fazer parte desse grupo de conservação, educação e pesquisa com vocês, especialmente os amigos Ana Paula Nunes, George Sousa Rego e Luiz Fernando Martins!

À minha família por ter que se acostumar com as minhas ausências, ou passadas rápidas em casa. Agradeço ao meu pai por compartilhar toda a sabedoria e por todos os conselhos certos. A todos que, de alguma forma me ajudaram.

RESUMO

Foram coletados pelos de lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*) de quatro cidades – Brasília, Goiânia, Barreiras e Jaborandi- de 24 animais em cativeiro além de 15 amostras de pelos de animais livres na natureza de fazenda situada no sudoeste baiano, para análise de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio, bem como análise do teor de mercúrio. Os objetivos iniciais tinham a ver com a comparação da dieta entre as categorias de cativeiro e de natureza. Para isso, foram utilizados o espectrômetro de razão isotópica de fluxo contínuo e o analisador de mercúrio. Com as técnicas de laboratório utilizadas e dados de cativeiro mais detalhados, diferenças nas dietas em relação à faixa etária dos animais em estudo: jovem, adulto e idoso, foram analisadas. R Studio foi utilizado para as análises estatísticas. Foram encontradas diferenças significativas das dietas dos animais em cativeiro e em natureza, no local estudado, tanto para $\delta^{13}\text{C}$ quanto para $\delta^{15}\text{N}$, isso pode ser devido a razões como a dieta de animais de cativeiro conter ração e devido a características inerentes da dieta dos lobos selvagens amostrados. Ao mesmo tempo, o uso da análise de Mercúrio – Hg acrescentou dados importantes na diferenciação dos pelos de animais de cativeiro e de natureza evidenciando que, nos animais da região limítrofe entre Bahia, Goiás e Minas Gerais, a concentração de Hg contida nos pelos é mais alta do que o quantitativo dessa substância em pelos de animais de cativeiro estudados. Quanto às categorias de idade, houve diferença significativa somente em relação ao $\delta^{13}\text{C}$ entre lobos adultos e idosos, não havendo diferenças entre adultos e jovens, nem entre jovens e idosos. Também não houve diferença significativa em relação ao $\delta^{15}\text{N}$ entre as categorias de idade de lobos. Infere-se que a diferença significativa encontrada entre idosos e adultos se deve ao processo de assimilação de nutrientes da dieta estar ocorrendo de forma diferenciada entre os animais idosos, porém essa conclusão necessita mais estudos.

Palavras chave: CANIDEOS SILVESTRES, ONÍVOROS, CARBONO, NITROGÊNIO, CONTAMINAÇÃO

ABSTRACT

Hairs of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from four cities – Brasília, Goiânia, Barreiras and Jaborandi – were collected of 24 animals in captivity and 15 wild free maned wolves on a farm located in southwest Bahia, for stable carbon and nitrogen isotope analysis, as well as analysis of mercury content. The initial objectives had to do a comparison between the captive and wild animal's diets. For this, a continuous flow isotope ratio spectrometer and a mercury analyzer were used. With the laboratory techniques used and more detailed captivity data, differences in diets in relation to the age group of the animals under study: young, adult and elderly, were analyzed. R Studio was used for the statistical analyses. Significant differences were found in the diets of animals in captivity and in nature, in the studied place, for both $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, this may be due to reasons such as the diet of captive animals contains canine pellets and due to inherent characteristics of the diet of wild wolves sampled. At the same time, the use of Mercury - Hg analysis, added important data in the differentiation of captive and wild animal hairs, showing that, in animals from the border region between Bahia, Goiás and Minas Gerais, the concentration of Hg contained in the hairs is higher than the amount of this substance in the hair of captive animals studied. Regarding age categories, there was a significant

difference only in relation to $\delta^{13}\text{C}$ between adult and elderly wolves, with no differences between adults and young animals, nor between young and elderly. There was also no significant difference in relation to $\delta^{15}\text{N}$ between the age categories of maned wolves. It is inferred that the significant difference found between the elderly and adults is due to the process of assimilation of nutrients from the diet, which is occurring differently among elderly animals, but this conclusion needs further studies.

Key Words: WILD CANIDS, OMNIVORES, CARBON, NITROGEN, CONTAMINATION.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de pontos de coleta de amostras de pelo de lobo-guará para análise de isótopos estáveis.....	10
Figura 2: Fotografia da colheita de pelo de lobo-guará conforme protocolo de MISSAGIA et al., 2019	11
Figura 3: Fotografia da lavagem dos pelos.	12
Figura 4: Fotografia da preparação dos pelos para liofilização.....	12
Figura 5: Gráfico da diferença dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ para lobos de cativeiro e para lobos de natureza.....	15
Figura 6: Gráfico de valores de $\delta^{15}\text{N}$ em relação às categorias animais de cativeiro e animais de natureza.....	16
Figura 7: Mapa de biomas do Brasil.	18
Figura 8: Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ e os grupos diferentes dos pelos coletados.	19
Figura 9: Gráfico de teores de Hg(ng/g) encontrados em lobos de cativeiro e em lobos de natureza, no local coletado.	19
Figura 10: Gráfico de indicação dos níveis de Hg(ng/g) em relação aos níveis de $\delta^{15}\text{N}$	20
Figura 11: Ilustração com mapa do histórico de focos de queimadas nos anos de 2018 a 2021 na região da Trijunção.....	22
Figura 12: Ilustração com mapa de garimpos de ouro ativos e inativos nas proximidades de coletas	23
Figura 13: Gráfico da diferença significativa entre categoria adulto e idoso para $\delta^{13}\text{C}$	24
Figura 14: Fotografia do preenchimento do copo de estanho para pesagem.....	35
Figura 15: Fotografia da pesagem da amostra.	36
Figura 16: Fotografia do fechamento do copo de estanho.	36
Figura 17: Fotografia do preenchimento com as amostras nos poços das placas.....	37
Figura 18: Fotografia das placas devidamente identificadas.	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagem da frequência de ocorrência de itens alimentares encontrados em pesquisas de análise fecal de lobos guarás, nos diferentes Estados afetos a este estudo.	6
Tabela 2: Diferenças dos teores de Hg em lobos da mesma ninhada.....	21
Tabela 3: Informações das amostras de pelos coletados referentes à localização, sexo, categoria etária, quando possível e períodos de colheita.	38
Tabela 4: Rações utilizadas nas dietas em cativeiro e principais ingredientes.	39

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Referencial Teórico.....	4
2.1 O lobo-guará.....	4
2.2 Dieta do lobo-guará.....	4
2.3 Cadeia trófica	6
2.4 Análise de Isótopos Estáveis (AIE)	7
2.5 Mercúrio	9
3. Metodologia	10
3.1 Locais de Estudo:	10
3.2 Colheita e Preparo das Amostras:	11
3.3 Análise Laboratorial:.....	11
3.4 Análise estatística	13
4. Resultados e Discussão.....	15
4.1 Análise estatística de $\delta^{13}\text{C}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de cativeiro e animais de natureza:	15
4.2 Análise estatística de $\delta^{15}\text{N}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de Cativeiro e animais de Natureza:.....	16
4.3 Análise estatística de Mercúrio	19
4.4 Análise estatística entre as categorias jovem, adulto e idoso e $\delta^{13}\text{C}$ e em pelos de lobos em Cativeiro:	23
4.5 Análise estatística entre as categorias jovem, adulto e idoso e $\delta^{15}\text{N}$ e em pelos de lobos em Cativeiro:	24
5. Conclusões.....	25
6. Referências	26
7. Anexos:	35

INTRODUÇÃO

A espécie *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1815), conhecida popularmente como lobo-guará, tem seu status de conservação nacional avaliado em vulnerável atualmente, segundo o Instituto Chico Mendes do Ministério do Meio Ambiente - ICMBio-MMA. As principais ameaças a esse grupo incluem as atividades antrópicas que levam à fragmentação e desmatamento do seu habitat natural (MMA, 2014).

Lobos-guarás são mamíferos pertencentes à ordem Carnivora e família Canidae. Eles possuem papel ecológico importante por serem topo de cadeia alimentar, controlando as populações de suas presas, além de atuarem também como dispersores de sementes devido à sua dieta onívora (TERBORGH, 1992; LETNIC *et al.*, 2012). Motta Junior & Martins (2002) descrevem que a grande maioria das sementes consumidas continua ilesa após passar pelo sistema digestório do lobo-guará e que, pelo fato desses animais percorrerem longas distâncias, sua capacidade de dispersão é elevada. A área de vida desses canídeos é em torno de 21,7 a 115 Km² (DIETZ, 1985; EMMERT, 2012; VELOSO, 2019).

Lobos-guarás são onívoros, oportunistas sazonais pelo menos para insetos e frutos, levando-se em consideração a variação da quantidade desses itens alimentares aproveitados em diferentes épocas do ano (BUENO, BELENTANI & MOTTA-JUNIOR, 2002). Amboni (2007) comprovou em seu estudo em Minas Gerais, que a dieta desse canídeo apresenta diferenças ao longo do ano, com maior ingestão de itens vegetais na estação chuvosa e componentes de origem animal nos períodos de seca. Outros autores não encontraram diferença significativa na dieta estudada em relação às estações chuvosas e secas (ARAGONA; SETZ, 2001; MOTTA-JUNIOR *et al.*, 2002).

Carnívoros terrestres comumente se apresentam em baixas densidades, se caracterizam por serem predadores oportunistas e têm amplas áreas de vida (MECH & BOITANI, 2003; PETERSON & CIUCCI, 2003). Essas características conferem dificuldade para estudos de dieta e ecologia trófica como pesquisas de análise fecal, conteúdo estomacal (FACURE & MONTEIRO-FILHO, 1996) e observação de comportamento. Um método alternativo para investigações tróficas e de teias alimentares é a análise de isótopos estáveis quantificados em tecidos de animais (GANNES *et al.*, 1998; POST, 2002; FOX-DOBBS *et al.*, 2007; LAYMAR, 2011).

A ecologia fisiológica animal, com o rastreamento de dieta a partir da análise de isótopos estáveis (AIE), se baseia no conceito de que a razão isotópica de todo organismo consumidor comumente se assemelha à sua dieta (GANNES *et al.*, 1998). O termo grego *ISO* significa “mesmo” e o termo *TOPOS*, “lugar ou local”, por isso, isótopos são moléculas que correspondem ao mesmo elemento químico e ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Isótopos estáveis não emitem radiação, ou seja, apresentam propriedades nucleares duráveis, uma vez que os prótons e os nêutrons permanecem constantes. Como exemplos de moléculas com essa característica podem ser citados o carbono (C), o nitrogênio (N), o oxigênio (O), o hidrogênio (H) e o enxofre (S), muito utilizados como marcadores na área ambiental (MARTINELLI *et al.*, 2009).

Devido à estabilidade, a composição isotópica varia de forma calculável e sua variação é chamada de fracionamento na teia alimentar. O carbono e o nitrogênio têm padrões de enriquecimento tróficos perduráveis e diferentes que tendem a ter um aumento perto de 3,4‰ para cada nível trófico, no caso do nitrogênio, e em torno de 1‰ de enriquecimento para o carbono (POST, 2002). As taxas de C são usadas para delinear as origens da produção primária na cadeia alimentar, enquanto que as taxas de nitrogênio quantificam o nível trófico de determinado organismo (FRANCO *et al.*, 2014).

No caso dos pelos, escolhidos como amostra biológica da presente pesquisa, segundo O'Connel e Hedges (1999), os isótopos de nitrogênio têm vagarosa taxa de renovação nesses anexos corporais, em função da queratina não ser reabsorvida. Além de poder ser aplicado de forma remota e não invasiva, a vantagem das pesquisas com isótopos estáveis em relação à dieta dos animais por meio da análise do pelo, é a capacidade de avaliar o que foi assimilado pelo organismo do animal. Utilizar essa ferramenta para a pesquisa ecológica de espécies ameaçadas, como o lobo-guará, pode gerar informações relevantes para estratégias conservacionistas.

Complementarmente à análise de isótopos de carbono e do nitrogênio, outro bom indicador do nível trófico é o mercúrio (Hg) (KEHRIG *et al.*, 2009; CHUMCHAL *et al.*, 2010). A análise de Hg em estudos com carnívoros é importante em função de a principal maneira de ingestão desse elemento ser pelo consumo de presas. A biomagnificação consiste na transferência de um nível trófico a outro nível, apresentando quantidades maiores, conforme vão para os níveis mais altos. A biomagnificação ocorre em sua forma metilada (MeHg), as bactérias agem no mercúrio inorgânico originando o metil mercúrio (FRANCO *et al.*, 2014).

O mercúrio é encontrado em rios, lagos, oceanos, rochas, entre os seres vivos, e pode estar na forma orgânica ou inorgânica (SILVA, 2006). Os solos também podem armazenar esse metal, especialmente os solos argilosos (BISINOTI & JARDIM, 2004). O mercúrio pode ser transferido por meio da bioacumulação, processo no qual substâncias químicas que existem no meio ambiente são assimiladas e contidas nos seres vivos. O mercúrio também pode ser reemitido na natureza em função das queimadas, esses processos aceleram a mobilização do mercúrio natural para a metilação, o fogo provoca modificações químicas no solo (BISINOTI & JARDIM, 2004).

O ser humano utiliza muito o mercúrio em processos de extração do ouro, pois esse metal tem propriedades de agregação ao ouro e, após aquecimento, se liquefaz, é separado do ouro e parte dele é evaporado para a atmosfera (SOUZA & LINS, 1989). Seja pelo ar, ou por água, o mercúrio perdura por muito tempo na cadeia alimentar por meio das chuvas que carregam esse metal às plantações, às matas, aos alimentos e a todos os seres vivos, afetando o ecossistema (BARBOSA & DÓREA, 1998).

O objetivo geral é integrar pesquisa *In-situ* e *Ex-situ* para auxiliar em medidas para a conservação da espécie *C. brachyurus*. O presente estudo busca, a partir da utilização da análise de isótopos estáveis de carbono e de nitrogênio em pelos de lobos-guarás, entender mais sobre a dieta onívora destes canídeos, explorar as diferenças e semelhanças entre cativeiro e natureza,

e idade, bem como analisar os níveis de mercúrio nas amostras de cada ambiente de coleta e, conseqüentemente, na cadeia alimentar disponível.

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O lobo-guará

A espécie *C. brachyurus* ocorre em áreas abertas no Cerrado na América do Sul, sobretudo na porção central do Brasil, no Paraguai e leste da Bolívia (DIETZ, 1985). No sul do Brasil, na Argentina e o Uruguai a densidade dessa espécie se apresenta baixa, conforme constatado por QUEIROLO e colaboradores (2011). O Cerrado brasileiro é a savana mais rica em biodiversidade do mundo, possui extensão de 204,7 milhões de hectares (SCOLFORO, 2008) e metade dessa área vem sendo transformada em pastagens, áreas plantadas e urbanizadas, e aliadas a inevitáveis consequências de mau uso, seguem-se as erosões e as queimadas. Como agravante, apenas um percentual muito pequeno de área do Cerrado encontra-se protegido legalmente no país (KLINK, 2005).

Pereira e colaboradores (2019) averiguaram, por meio de aplicação de questionários, que o histórico de conservação do lobo-guará está cercado por crenças e falsas mitologias, que podem piorar a situação de vulnerabilidade em que se encontra a espécie. Outras ameaças que têm sido relatadas a *C. brachyurus* são a proximidade com áreas antropizadas onde têm animais domésticos, em função de conflitos e doenças, além do perigo dos atropelamentos em rodovias (JÁCOMO, 1999).

Lobos-guarás têm hábitos solitários e formam casais somente na época reprodutiva e durante os cuidados com os filhotes nascidos. São mais ativos em períodos crepusculares-noturnos. Com aproximadamente 90 cm de altura, o lobo-guará é o maior canídeo da América do Sul, os adultos pesam por volta de 23 Kg. Tem a pelagem em tons vermelho para o dourado, com as patas e a porção superior do dorso e do pescoço com a cor preta. As marcações brancas são dentro das orelhas, na ponta da cauda e no queixo chegando ao pescoço. As patas longas, o corpo magro e o andar cauteloso parecem ser adaptações ao bioma Cerrado (DIETZ, 1985).

2.2 Dieta do lobo-guará

No Brasil, estudos das dietas, por meio da análise de fezes da espécie *C. brachyurus*, afirmam que os animais mais consumidos são os mamíferos roedores, especialmente os que fazem parte das famílias Caviidae, Muridae e Echimyidae, seguidos dos *Xenarthras tatus* e dos Didelfídeos marsupiais (DIETZ, 1984; ARAGONA & SETZ, 2001). Restos de animais maiores como capivaras, veados campeiros e porcos-do-mato foram encontrados em fezes analisadas, porém não indicam que houve predação, uma vez que lobos-guarás também consomem carcaças (RODRIGUES, 2002).

Quanto às aves, umas das famílias mais encontradas nas dietas são as que permanecem maior tempo em solo, como tinamídeos, por exemplo as codornas e perdizes, bem como a família Emberezidae, que compreende os passeriformes (EMMERT, 2012). Os répteis, sobretudo cobras e lagartos, e os insetos das ordens Orthoptera (grilos e gafanhotos), Coleoptera

(besouros) e Hymenoptera (vespas e formigas) também são encontrados em dietas de lobos-guarás (DIETZ 1984; ARAGONA & SETZ, 2001).

Os itens vegetais mais consumidos pelos lobos-guarás foram da família da Arecaceae, tais como jerivás, da família das Solanaceae, as lobeiras, das Myrtaceae, jambo, pitanga, goiaba, e as Annonaceae, araticum, pinha, graviola (MOTTA-JUNIOR & MARTINS, 2002).

O registro de peixes na dieta de lobos-guarás foi feito por Franceschini (2020) em uma das quatro estações da pesquisa realizada em São Paulo. Anteriormente houve, na mesma região outro registro deste consumo (BUENO, BELENTANNI & MOTTA-JUNIOR, 2002). Esta estação de estudo se localiza próximo a uma represa onde há turistas e pesca, Franceschini infere esse fato ser devido às pessoas deixarem restos de alimentos sem o descarte correto e os lobos se alimentarem. Adicionalmente, itens como cana-de-açúcar, milho e amendoim foram registrados como sendo consumidos por lobos nos arredores de Unidades de Conservação, em São Paulo, indicando a plasticidade de hábitos alimentares deste canídeo (FRANCESCHINI, 2020).

Devido ao fato de que os lobos-guarás deste estudo estão em locais diferentes do Cerrado brasileiro, pesquisas de dieta nas regiões centro-oeste, sudeste e nordeste foram buscadas em literatura, para efeitos de comparação.

Os itens alimentares foram divididos em grupos para facilitar a comparação. Angiospermas: frutos das árvores e das palmeiras, folhas, frutos e capim; gimnospermas: pinus, pinheiros; mamíferos: principalmente roedores, tatus e marsupiais; aves: principalmente as aves de hábitos terrestres, como tinamídeos; répteis: cobras e lagartos; e artrópodes: besouros, grilos. Em uma das análises, foram levados em consideração itens como plásticos e madeiras, provenientes de resíduos humanos, conforme tabela 1, onde a sigla SI (sem informação) se refere à ausência de dados desses itens nas referentes pesquisas.

Tabela 1: Porcentagem da frequência de ocorrência de itens alimentares encontrados em pesquisas de análise fecal de lobos guarás, nos diferentes Estados afetos a este estudo.

Itens alimentares	Floresta Nacional FLONA - DF Emmert, 2012	Parque Nacional das Emas PNE - GO Jácomo, 1999	Parque Nacional Serra da Canastra – MG Amboni, 2007	Faz. Rio Pratudão - BA Juarez, Marinho - Filho, 2002
Período de colheita das amostras	Outubro de 2010 a Setembro de 2011	Anos 1994, 1995, 1996	Agosto de 2005 a Outubro de 2006	Julho a Dezembro de 1995
Angiospermas	46,15%	58%	51,5%	50,4%
Gimnospermas	1,71%	SI	SI	SI
Mamíferos	22,22%	26%	31,7%	35,4%
Aves	20,51%	11%	9,3%	8,3%
Répteis	1,71%	3%	3,3%	1,5%
Artrópodes	2,56%	2%	4%	3,7%
Resíduos Humanos	5,13%	SI	SI	SI

Fonte: Tabela adaptada SOARES, 2020. Adaptação própria.

A compreensão da dieta de uma espécie pode anunciar reflexos evolutivos, respostas comportamentais, fisiológicas e ecológicas. Exemplo disso encontramos herbívoros e carnívoros como agentes dispersores de sementes, ou em aspectos do controle populacional (WILSON, 1997), previamente demonstrado em pequenos roedores e tatus. Os lobos-guarás quando atuam na dispersão de sementes contribuem para a renovação de florestas e outros tipos de habitats (SOUZA *et al.*, 2021).

2.3 Cadeia trófica

A cadeia trófica consiste em uma transferência da energia alimentar inicialmente na fonte, nos autótrofos, passando por uma série de organismos que consomem e que são consumidos. Em cada transferência, uma proporção da energia potencial é perdida sob forma de calor. Existem dois tipos de cadeias tróficas: a cadeia de pastagem composta pela planta verde, passando pelos herbívoros e chegando nos carnívoros; e a cadeia de detritos, composta pela matéria orgânica não-viva utilizada por microrganismos, indo por organismos que comem

detritos e por seus predadores (ODUM, 1983). Essa composição das cadeias são os níveis tróficos representados pelo produtor primário, o herbívoro e o carnívoro (RICKLEFS, 1983).

Existe na natureza interação de muitos processos bióticos e abióticos que favorecem a formação de padrões estruturais, espaciais e temporais nas comunidades biológicas. São necessárias pesquisas com carnívoros que explorem quantitativamente essas relações ecológicas (JÁCOMO, 1999). A redução do número de animais em florestas pode ocasionar em perda de interações ecológicas importantes, dentre elas, as interações plantas-vertebrados. Em lugares em que há interrupção de dispersão de sementes por animais, as frutas e frutos caem das árvores se acumulando e apodrecendo no solo, e suas sementes não se desenvolvem (FERNANDES *et al.*, 2017). Essa redução de interações plantas-vertebrados pode impactar negativamente em algumas espécies de plantas em florestas tropicais (KURTEN, 2013).

Quando há a dispersão de sementes, necessariamente ocorre a remoção do diásporo de plantas parentais e o transporte para lugares diferentes em que essas sementes possam germinar. A passagem pelo sistema digestório de um canídeo, como o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), por exemplo, pode alterar aspectos tais como a velocidade da germinação de sementes da cactácea *Pilosocereus gounellei* e aumentar a velocidade de seu desenvolvimento (SOUZA *et al.*, 2021).

2.4 Análise de Isótopos Estáveis (AIE)

Muitos desses estudos já citados sobre dieta de lobos-guarás utilizaram a metodologia de análise fecal (DIETZ, 1984; CARVALHO & VASCONCELLOS, 1995; JÁCOMO, 1999; BUENO, BELENTANNI & MOTTA-JUNIOR 2002; JUAREZ & MARINHO-FILHO, 2002; AMBONI, 2007), outra metodologia pode ser a observação direta da alimentação desses animais (BESTELMEYER & WEATBROOK, 1998). A AIE é uma excelente ferramenta alternativa para esses estudos, é bastante utilizada, tanto com espécies de animais extintos, quanto com os ainda existentes como peixes (OLIVEIRA, 2003; ALVES, 2015), testudines (MARQUES *et al.*, 2017), aves (BOESING *et al.*, 2021), mamíferos aquáticos (BAPTISTA *et al.*, 2016), mamíferos terrestres (MAGLIOLI, 2018) e animais de criação (NARDOTO *et al.*, 2006; RIBAS, 2020).

Os átomos são constituídos pelo núcleo, que contém prótons e nêutrons, bem como pela eletrosfera, formada por elétrons. Qualquer elemento exemplificativo X é representado da seguinte forma: ${}_Z X^A$, no qual A é o número de massa atômica e Z é o número atômico, que é igual ao número de prótons. A título de exemplo, o carbono apresenta diferentes massas atômicas de acordo com sua forma. Na forma leve ^{12}C , ele possui seis prótons e seis nêutrons, enquanto em sua forma pesada ^{13}C , ele possui seis prótons e sete nêutrons (BEN-DAVID & FLAHERTY, 2012).

A diferença física no número de massa do núcleo é o que permite a análise de abundância isotópica em um espectrômetro de massa de razão isotópica, onde há a diferenciação dos isótopos ou de moléculas pelas suas massas, campos elétricos ou movimentos magnéticos (HOELFS, 2018).

Para medir as taxas isotópicas em compostos orgânicos como os pelos, é necessário transformar as amostras em gases, por meio da combustão ou pirólise em um analisador automatizado acoplado ao espectrômetro de massa de razão de isótopos (BIRCHALL *et al.*, 2005). Dentro do espectrômetro, as moléculas inorgânicas são ionizadas, aceleradas e levadas a um tubo com campo magnético separando-as baseado nas suas respectivas massas. Posteriormente, os feixes resultantes são coletados em copos Faraday, conservando uma fraca corrente elétrica que é captada no computador controle (BEN-DAVID & FLAHERTY, 2012).

A AIE pode ser utilizada em padrões de seleção de dieta e fluxo de nutrientes, além de poder ser usada para reconstruir relações de tamanho entre predador e presa na dieta de carnívoros (CODRON *et al.*, 2018). Por exemplo, FOX-DOBBS e colaboradores (2007) utilizaram dados isotópicos de tecidos de colágeno, pelos e músculos de lobos-cinzentos (*Canis lupus*) que morreram entre 1965 a 2004, para estimar, entre outras coisas, tamanhos de amostras ideais das populações de carnívoros capazes de replicar valores médios de toda população dentro do chamado desvio padrão. Compararam os tamanhos das amostras necessárias nesses três tipos de tecidos e constataram que nos dois grupos de lobos estudados havia diferença na dieta: os lobos da Ilha Royale se alimentavam basicamente de alces e de castores, enquanto os lobos de Minnesota se alimentavam de cervos da cauda branca, alces, pequenos mamíferos e animais de criação e de estimação.

Estudos com ossos e análise em isótopos de carbono e nitrogênio são usados para rastrear e monitorar a seleção de habitats de animais (AMBROSE & DE-NIRO, 1986). Em outro estudo, Missagia e colaboradores (2019) coletaram pelos em coleções de museus de algumas espécies de roedores e submeteram à AIE para avaliar a relação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. Eles correlacionaram os achados com a estrutura do nicho trófico das espécies e encontraram ramos inteiros derivados de um ancestral comum, utilizando a árvore filogenética dessa tribo de roedores Akodontini.

Baseado em padrões, assinaturas isotópicas e sabendo-se que a queratina do pelo é positiva em $\delta^{15}\text{N}$ por mais 3% relativo à dieta (O'CONNEL & HEDGES, 1999), quando a cadeia alimentar for ascendente, acarretará em acréscimo no valor de $\delta^{15}\text{N}$. Por exemplo, os carnívoros possuem maior $\delta^{15}\text{N}$ que os herbívoros que eles consomem. Os herbívoros possuem maior $\delta^{15}\text{N}$ do que as plantas que consomem (SHOENINGER & DE-NIRO, 1984). Com os valores obtidos da AIE é possível diferenciar presas, bem como os alimentos vegetais assimilados nos tecidos com o cálculo das proporções de carbono que decorrem dos ciclos de fotossíntese da vegetação (C3 e C4) na base da cadeia alimentar utilizando um modelo de mistura simples, a interpolação de valores isotópicos por meio da contagem de fracionamentos, como por exemplo, os mamíferos herbívoros têm o valor de carbono em 3,1 (CERLING & HARRIS, 1999).

Os isótopos estáveis de nitrogênio estimam a posição trófica do animal quando verificadas as diferenças de enriquecimentos entre os grupos e seus respectivos valores: mamíferos herbívoros: 2,9; mamíferos onívoros: 2,5 e pássaros: 1,9 (SUTOH *et al.*, 1987, CAUT *et al.*, 2008).

Com a importância ecológica, são necessários estudos para saber como a espécie *C. brachyurus* reage frente às novas paisagens atuais fragmentadas, relacionado à capacidade de

impor limites ao acesso às presas, moldar sua demografia e mudar o comportamento. Pesquisas de análise alimentar podem clarear pontos acerca da sobrevivência desses animais (REIS, 2011).

2.5 Mercúrio

O mercúrio apresenta-se naturalmente e com várias formas, cada uma com nível de toxicidade diferente – mercúrio orgânico: metilmercúrio, etilmercúrio; o inorgânico, os sais de mercúrio; e na sua forma elementar, ou o mercúrio metálico. Esse metal ocasiona efeitos nocivos na saúde dos seres vivos, populações humanas com alta ingestão de peixes podem se intoxicar afetando o sistema nervoso central e periférico – neurotoxicidade, pode afetar os rins – nefrotoxicidade, o sistema imunológico, os pulmões, a parte cardiovascular – risco de infarto agudo do miocárdio, a pele - apresentando descamações e coloração mais rósea (WHO, 2021).

Lebel e colaboradores (1998) fizeram pesquisa no rio Tapajós na Amazônia, em função da contaminação por mercúrio devido à alimentação com peixes, em amostras de cabelos de 91 adultos humanos cujos resultados necessariamente deram abaixo de 50 µg/g. Realizaram testes neurofuncionais e ficou comprovado que há efeitos de fadiga muscular, diminuição da força muscular, destreza manual comprometida e outros fatores, sugerindo que o limiar considerado até então para efeitos clínicos de até 50 µg/g nessas amostras de cabelo, deve ser revisto, pois há disfunção em níveis inferiores. Em 2021 foram relatados sinais subclínicos leves de toxicidade bem como efeitos no sistema imune e na parte renal de trabalhadores expostos, durante anos, ao mercúrio metálico no ar a 20 µg/g (WHO, 2021).

Alguns estudos aferiram o nível de Hg em diferentes níveis tróficos com mamíferos silvestres. Lynch (1973) observou correlação significativa nos níveis de mercúrio em tecidos de músculo e dos pelos de cervos-da-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*) em Ohio. A raposa-do-Ártico (*Alopex lagopus*) foi relatada no estudo de Smith e Armstrong (1975), no Canadá, com nível de mercúrio no fígado de 0,76 ppm (partes por milhão), esse valor equivale a 760 ng/g, pois 1 ppm é igual a 1000 ng/g, quando convertido. Lobos-cinzentos (*Canis lupus*) com a dieta concentrada em pequenos roedores e caribus apresentaram, no fígado, valores em torno de 0,24 ppm. Já os cães domésticos de trabalho em trenó, alimentados quase que somente por focas (*Pusa hispida*), tiveram os valores de Hg no fígado acima de 11,4 ppm. Essas focas também foram analisadas e continham maiores valores de mercúrio no fígado, em torno de 27,5 ppm, pois se alimentavam de peixes.

Os defensivos agrícolas na década de 1960 continham fungicidas à base de mercúrio, foram comprovados os efeitos prejudiciais desse uso e desde 1985 o uso desses produtos foi banido em muitos países inclusive no Brasil (LUCCHESI, 2005). Em 2013 ocorreu a Convenção internacional sobre o Mercúrio, por causa do agravamento do fluxo desse metal no mundo, com a participação de 140 países, dentre eles, o Brasil (XAVIER, 2013) mostrando a preocupação ambiental global em relação a esse assunto.

METODOLOGIA

Toda metodologia do projeto foi previamente autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) - n° 75792-3 e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília (CEUA-UnB), processo SEI n° 23.106.125953/2020-59.

3.1 Locais de Estudo:

Foram utilizadas 15 amostras de pelos de lobos-guarás de vida livre, obtidas em expedições de capturas para colocação ou manutenção de radiocolares de monitoração e execução de exames periódicos. Os animais apresentavam área de dispersão próxima à Fazenda Trijunção (TJÇ), localizada no sudoeste baiano, no município de Jaborandi, expandindo para a área rural de Cocos, que se encontra entre os estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás (ALBUQUERQUE FILHO *et al.*, 2019).

Adicionalmente foram utilizadas oito amostras de pelos de lobos em cativeiro provenientes de um criadouro científico particular para fins de conservação de espécies - Parque Fioravante Galvani (PFG), conhecido como Parque Vida Cerrado (PVC), localizado na zona rural do município de Barreiras, estado da Bahia (DE BRITO *et al.*, 2022).

Duas amostras de lobos em cativeiro também foram colhidas de um recinto de aclimação na área particular fazenda Trijunção (TJÇ), do Parque Zoológico de Goiânia, foram oito amostras e da Fundação Jardim Zoológico de Brasília (FJZB) foram seis amostras. Os pontos de coleta que continham localização geográfica definida estão ilustrados na Figura 1 e dados de latitude e longitude, dos animais como sexo e categoria etária, estão na Tabela 3, em anexo.

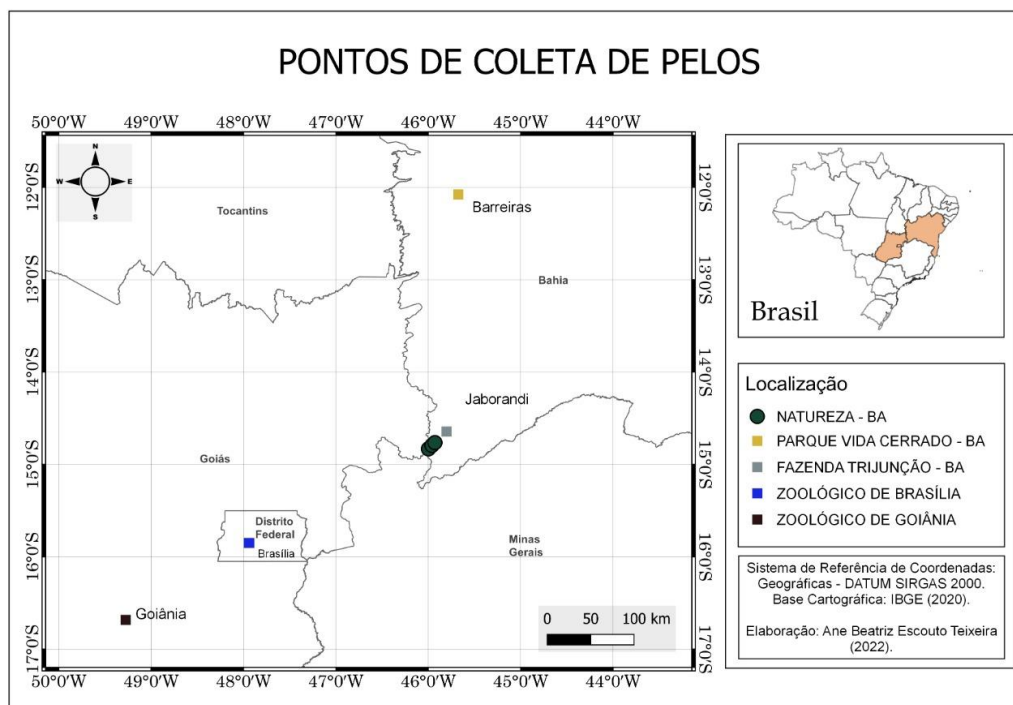


Figura 1: Mapa de pontos de coleta de amostras de pelo de lobo-guará para análise de isótopos estáveis.

Fonte: Dados coletados por autoria própria e mapa confeccionado por Ane Beatriz Escouto Teixeira.

3.2 Colheita e Preparo das Amostras:

Um total de 39 amostras de pelos, 15 de animais de natureza e 24 de animais de cativeiro foram colhidas o mais próximo da pele possível, de acordo com metodologia proposta por Missagia e colaboradores (2019), utilizando uma tesoura (Fig.2). A parte do corpo variou entre os locais onde havia mais pelos: pata traseira e flanco. O transporte das amostras foi feito em pequenos sacos plásticos, contendo 1,5 a 2 g de pelos em cada embalagem, devidamente identificadas com localização, nome, sexo correspondente a cada animal e a data de colheita.

À época da colheita de pelos, foi solicitada aos responsáveis pelos cativeiros, a dieta dos respectivos animais. As dietas, na maior parte dos casos, eram fornecidas duas vezes ao dia em forma de papa ou mingau. Esse artifício era utilizado para evitar que os animais escolhessem itens da dieta em detrimento de outros.

O alimento fornecido era composto por uma porção de ração, porção de músculo de boi e/ou de frango ou fígado, legumes cozidos tais como abóbora, batata doce, cenoura, beterraba e frutas (maçã, banana, mamão, goiaba). Em alguns locais, eram ofertados ovos.

As exceções a esse padrão eram para os animais jovens que estavam em processo de adaptação para soltura, com os alimentos sendo fornecidos somente uma vez ao dia, para evitar contato com humanos. Os itens eram fornecidos de forma separada, cortados e a ração seca. Além dos frutos convencionais, eram ofertados frutos nativos. Alguns principais ingredientes das rações utilizadas estão descritos na tabela 4, em anexo.



Figura 2: Fotografia da colheita de pelo de lobo-guará conforme protocolo de MISSAGIA et al., 2019

Fonte: Acervo particular.

3.3 Análise Laboratorial:

As análises foram realizadas no Laboratório de Ciências Ambientais da Universidade Estadual Norte Fluminense, no Rio de Janeiro. Após encaminhamento para laboratório, as amostras

foram limpas conforme adaptação do protocolo proposto por Korstian e colaboradores (2018). Cada amostra foi então lavada duas vezes em diluição 30:1 com solução detergente (Extran® MERCK S.A. S.E.M. Rio de Janeiro, Brasil) e enxaguada de três a seis vezes com água ultra-pura (Fig. 3)



Figura 3: Fotografia da lavagem dos pelos.
Fonte: acervo particular.

Após limpeza, as amostras de pelos foram colocadas em sacos abertos (Fig. 4), dentro de tubos falcon com proteção nas aberturas – parafilm - para não perder material e colocadas em liofilizador (L108 – Liobras São Carlos/SP, Brasil) para secagem durante a noite. As amostras de pelos foram homogeneizadas (Fig. 5) e colocadas em uma cápsula de estanho para pesagem, aproximadamente 0,45 mg, em balança analítica (Sartorius Micro Lab Balance) e processamento em espectrômetro de massa de razão isotópica de fluxo contínuo (FLASH 2000 Organic Elemental Analyzer Delta V Advantage Isotope Ratio MS).



Figura 4: Fotografia da preparação dos pelos para liofilização.
Fonte: Acervo particular.

Foram analisados carbono e nitrogênio, e as razões isotópicas foram relatadas como valores δ em ‰ em relação ao padrão de Viena Pee Dee Belemnite (VPDB) para carbono e Atmospheric nitrogen (AIR) (BEN-DAVID & FLAHERTY, 2012).

As amostras de pelo foram homogeneizadas e liofilizadas para a análise de mercúrio, 0,3 g de amostras secas foram dissolvidas em 3 ml da solução H₂SO₄ e HNO₃ 3 (1:1) em etapas de 1 ml em banho de gelo. Depois foram aquecidas em bloco digestor a 60 °C com dedo frio até se solubilizarem. Depois do resfriamento, foram adicionados em torno de 5 a 10 ml de KMnO₄ 5% em banho de gelo, por 40 minutos e foi mantido durante a noite no bloco digestor em temperatura ambiente.

O bloco digestor, após essas horas, foi aquecido por 30 minutos a 60°C com KMnO₄ e titulado com NH₄ OH.HCl 12% até o ponto de virada. Depois, as amostras foram filtradas em papel de filtro (Whatman 40) e adicionado o HNO₃ a 0,5% até completarem 20 ml. Os controles analíticos foram preparados a cada dez amostras. Material de referência certificado (DORM 4) foi analisado em triplicata sendo os coeficientes de variação entre triplicados <10%. Posteriormente as amostras foram lidas no equipamento Tekran 2600 (CV-AFS com duplo trap de ouro), limite detecção 0,02ng/L curva de calibração entre 0,5ng/L a 32 ng/L, metodologia baseada na United States Environmental Protection Agency - USEPA 1631 (Method 1631E, 2002).

As idades dos lobos criados em cativeiros foram divididas em três categorias: jovem (de 0 a 24 meses) (NAGASHIMA & SONGSASEN, 2021; BEKOF *et al.*, 1981), adulto (de 24 meses a 96 meses) (NAGASHIMA & SONGSASEN, 2021), idoso (acima de 96 meses) (FREITAS *et al.*, 2006) para averiguar se houve diferença nas amostras, em relação ao $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da dieta.

3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados no software R Studio, Microsoft Windows, Mac OS X, GNU/Linux. “STATS” R Core Team (2022) e “PMCMR” POHLERT T. (2014). Versão: version.string R version 4.2.0 (2022-04-22 ucrt).

Para explicar mais sobre a dieta e explorar diferenças e semelhanças entre lobos de cativeiro e de natureza, foi feita a análise de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ em todas as amostras de pelos disponíveis.

Para averiguar a presença de contaminantes, foi realizada a análise dos pelos dos lobos de cativeiro e dos lobos em natureza em relação ao mercúrio (Hg).

Para elucidar mais aspectos, foi realizada a análise de categorias de idades dos animais estudados em relação ao $\delta^{13}\text{C}$ e ao $\delta^{15}\text{N}$, tendo em vista as dietas conhecidas e as idades dos lobos-guarás.

Foi seguido o caminho para elucidar se a distribuição de todas as análises era normal, averiguando se era possível utilizar a ANOVA. Esse teste foi feito extraindo-se os resíduos, primeiramente com o SHAPIRO-WILK TEST, testando a normalidade dos resíduos.

Caso o valor p desse > 0,05, era possível usar a ANOVA,

Caso o valor p desse < 0,05, não era possível usar a ANOVA, que se trata de um teste paramétrico. Neste caso foi utilizado o teste não paramétrico, o KRUSKAL WALLIS.

Caso o valor p, tanto da ANOVA quanto do KRUSKAL WALLIS desse $< 0,05$, indicava que sim, existia diferença significativa entre as amostras.

Para o caso aonde tinham mais de duas categorias a serem comparadas, para ver se havia diferenças entre elas, foram usados os seguintes testes *Post hoc* (par a par):

TESTE TUKEY, caso tenha sido possível utilizar ANOVA

WILCOXON, caso tenha utilizado o KRUSKAL WALLIS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise estatística de $\delta^{13}\text{C}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de cativo e animais de natureza:

As dietas dos animais de cativeiro têm em comum muitos elementos como ração, músculo de frango, fígado e músculo de boi, frutas e legumes, em proporções diferentes.

Primeiramente foi feita a análise de $\delta^{13}\text{C}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de cativeiro e animais de natureza. Segundo o teste de Shapiro-Wilk, não se pôde assumir distribuição normal ($W= 0.94$, $P= 0,03$), sendo utilizado o teste de Kruskal-Wallis. O resultado do Kruskal-Wallis indicou que existe diferença significativa (Qui quadrado = 5.47; grau de liberdade 1; $P= 0,02$) entre os animais de cativeiro e de natureza, conforme gráfico abaixo (figura 5).

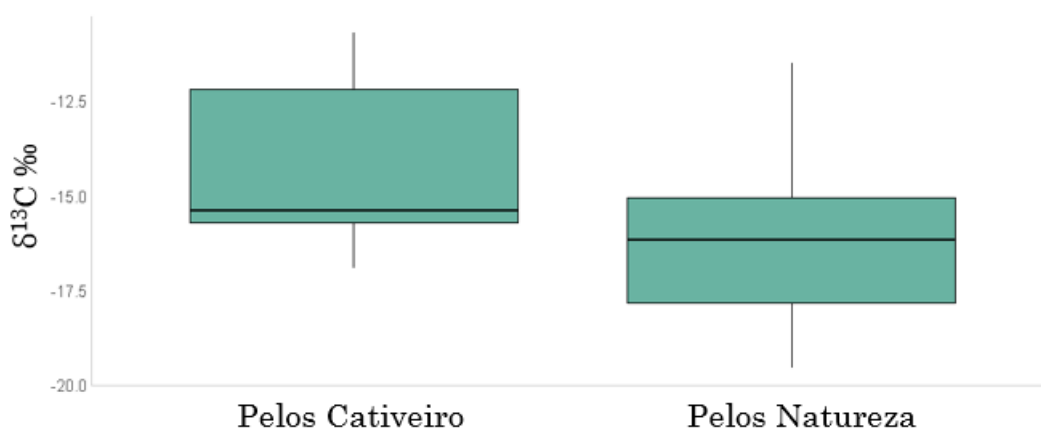


Figura 5: Gráfico da diferença dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ para lobos de cativeiro e para lobos de natureza.

Fonte: Autoria própria.

A análise de $\delta^{13}\text{C}$ serve para delinear as origens da produção primária da cadeia alimentar. Em relação aos valores de $\delta^{13}\text{C}$ em pelos de lobos de cativeiro e de natureza, os resultados indicam se a matéria vegetal que os lobos assimilaram é mais proveniente de pastagens ou capins, que são plantas que utilizam a via de fixação de carbono C4, ou se é proveniente de arbustos e florestas com plantas que utilizam a via de fixação de carbono C3 (AMBROSE & DE NIRO, 1986).

De acordo com a figura 5, os valores de carbono dos pelos de lobos de cativeiro são mais C4 do que os de natureza, pois estão próximos da faixa de -9 a -16. Os de lobos de natureza estão misturados entre C4 e C3, tendendo mais para C4. Rações caninas são compostas por

lipídeos e proteínas de origem animal, de origem bovina, suína, de frango, ou de peixe, bem como proteínas de origem vegetal como o trigo, milho, soja ainda há itens de origem vegetal, por exemplo, o arroz (SILVA *et al.*, 2010). De acordo com FRANÇA e colaboradores (2011) os ingredientes de origem vegetal que podem constar nas rações são soja em grão e em farelo, proteína texturizada de soja, farinha de glúten de milho, farelo de canola, ervilha e outros. Segundo trabalho de DE ARO e colaboradores (2019) que compararam, por meio da análise de isótopos estáveis, a proporção de C4 (milho) e C3 (soja, arroz e trigo) - $\delta^{13}\text{C}$, bem como a proporção de compostos que derivam de animais - $\delta^{15}\text{N}$, em que 60% do conteúdo das rações estudadas é de origem vegetal e 40% é de origem animal, onde o milho e aves são os principais ingredientes. Todas as dietas de cativeiro usam um percentual de ração, o que pode colaborar para esse acentuado valor C4, em relação à dieta dos animais de natureza.

4.2 Análise estatística de $\delta^{15}\text{N}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de Cativeiro e animais de Natureza:

Foi realizada a análise de $\delta^{15}\text{N}$ em relação à diferenciação entre as categorias animais de cativeiro e animais de natureza. Segundo o teste de Shapiro-Wilk, se pôde assumir distribuição normal ($W= 0.95$, $P= 0,06$), sendo utilizado ANOVA para testar essas diferenças. Os resultados para $\delta^{15}\text{N}$ apresentaram diferença significativa entre as categorias ($F= 22.42$; grau de liberdade: 1; $P < 0,01$). O gráfico abaixo (figura 6) ilustra essa diferença.

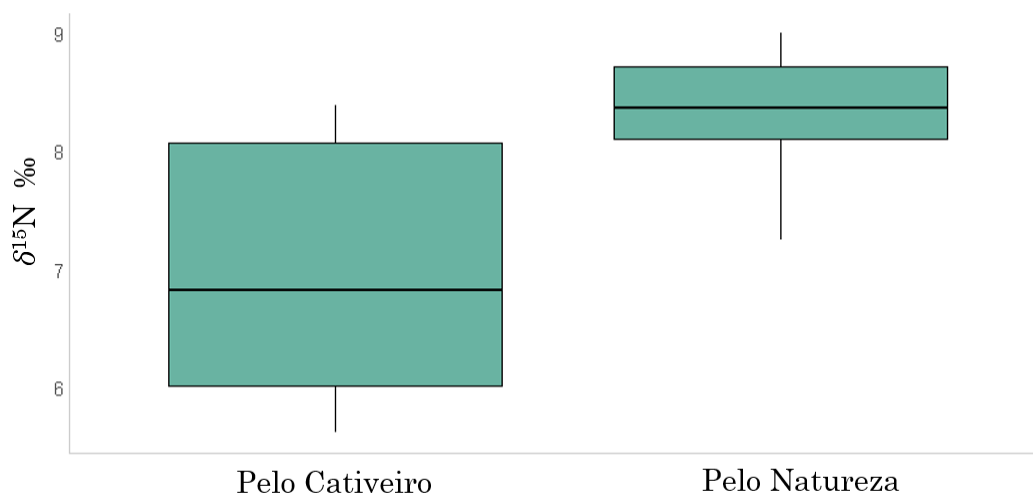


Figura 6: Gráfico de valores de $\delta^{15}\text{N}$ em relação às categorias animais de cativeiro e animais de natureza.

Fonte: Autoria própria.

As análises de $\delta^{15}\text{N}$ visavam avaliar o nível trófico dos lobos-guarás analisados, e de acordo com MARCUZZO *et al.* (2012) o período chuvoso no Centro-Oeste é concentrado nas estações primavera e verão, de outubro a março. A precipitação reduz no período de maio a setembro, resultando num período de seca com três a cinco meses de duração. Especificamente na região da Trijunção, predomina o clima tropical com o inverno seco, a precipitação varia muito ao longo dos meses (GASPAR, 2006).

A linha de pesquisa de Amboni (2007) aponta que existe uma diferença sazonal na dieta de lobos, na qual nos períodos chuvosos eles se alimentam mais de matéria vegetal e nos períodos secos se alimentam mais de itens animais. As expedições onde foram colhidos os pelos trabalhados se deram entre 2018 e 2021 e ocorreram mais em época seca, das 15 amostras, cinco foram de outubro a março e dez foram no período mais seco, conforme tabela 3 em anexo.

Esse fato pode ter confirmado o valor $\delta^{15}\text{N}$ como sendo significativamente maior em lobos de natureza do que em lobos de cativeiro, pois o N dos itens alimentares é achado principalmente em frações de proteínas.

Outro fator importante é que o $\delta^{15}\text{N}$ basal é mais elevado no bioma Caatinga do que em outros biomas. Em estudo com folhas de árvores em diferentes biomas, Martinelli e colaboradores (2021) mostraram que a Caatinga apresentou maiores teores de $\delta^{15}\text{N}$ em função desse bioma apresentar baixa lixiviação. Complementarmente, outras causas são a baixa pluviosidade e o pH do solo se apresentar geralmente mais alto (ARRUDA *et al.*, 2017). Esta questão foi levada em consideração devido à área de vida do lobo-guará chegar a 115 km² e os indivíduos estudados poderem alcançar alimentos neste bioma também, de acordo com o mapa de biomas (Figura 7). Mais estudos devem ser realizados com colheitas de pelos em todos os meses para averiguar essa lacuna. Bem como estudos com outros lobos de natureza em outras localizações.

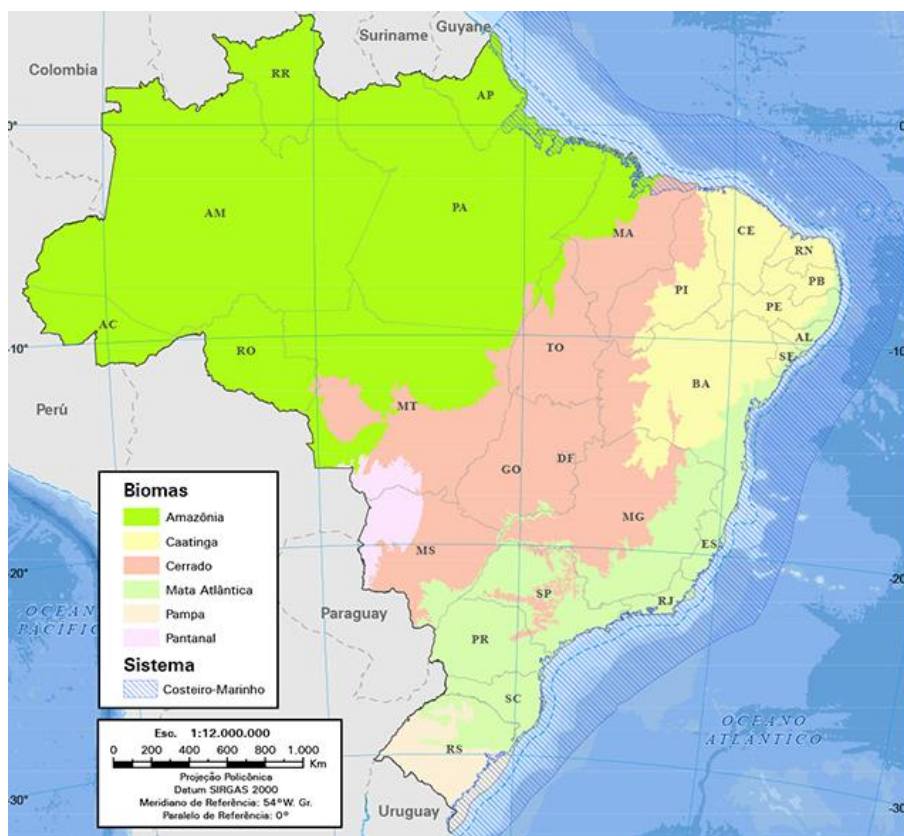


Figura 7: Mapa de biomas do Brasil.
 Fonte: IBGE, 2012.

A figura 8, apresenta o gráfico de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em relação aos grupos diferentes dos pelos coletados, mostrando a diferença significativa entre as dietas dos grupos de animais, salientando que, para as amostras coletadas na natureza, os níveis de $\delta^{15}\text{N}$ se apresentaram altos à época da coleta. O gráfico evidencia a diferença entre as categorias animais de cativeiro e animais de natureza, o que nos leva a confirmar a atividade alimentar sazonal dos lobos de vida livre e/ou que pode haver uma influência do bioma Caatinga, em relação ao nitrogênio, nos itens consumidos pelos lobos de natureza. A dieta da maior parte dos cativeiros segue um padrão em relação aos itens consumidos, com maior diferença para o Zoológico de Goiânia, o qual apresenta níveis de $\delta^{15}\text{N}$ mais elevados.

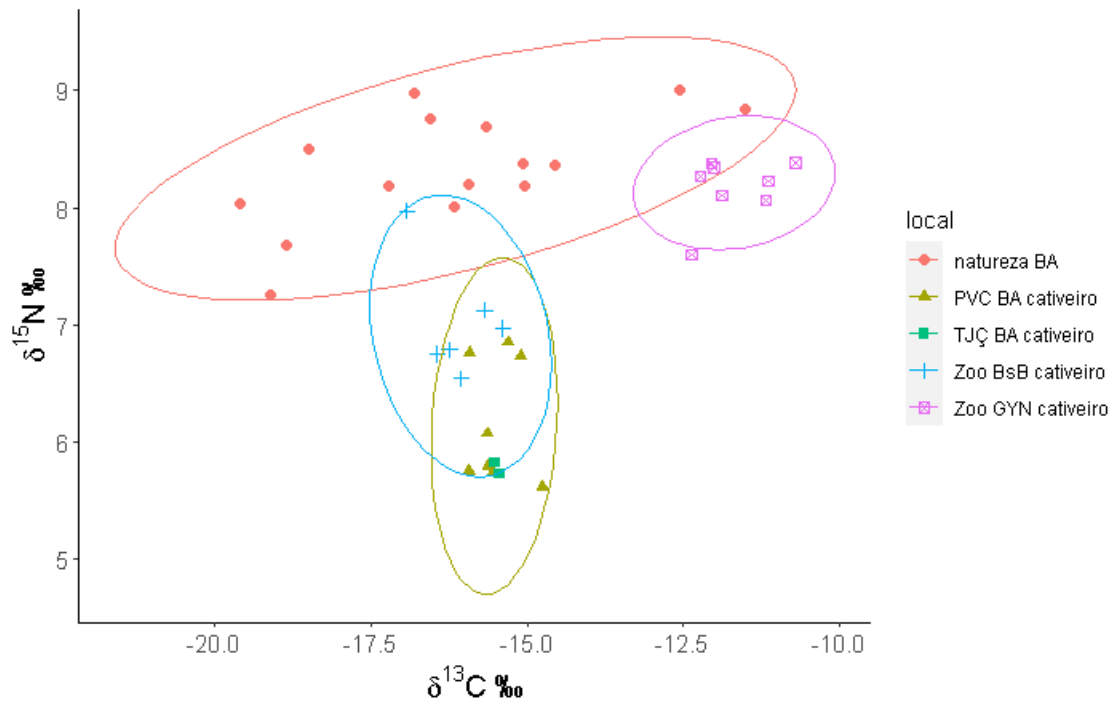


Figura 8: Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ e os grupos diferentes dos pelos coletados.
 Fonte: Autoria própria.

4.3 Análise estatística de Mercúrio

Segundo o teste de Shapiro-Wilk, os resíduos do modelo para Hg em pelos de lobos em Cativo e Natureza não assumiram distribuição normal ($W = 0.78$, $P < 0.01$). Foi utilizado então o Kruskal-Wallis mostrando que a diferença é significativa (Qui quadrado = 21.87; grau de liberdade 1; $P < 0.01$) entre os lobos de cativo e de natureza, conforme a figura 9.

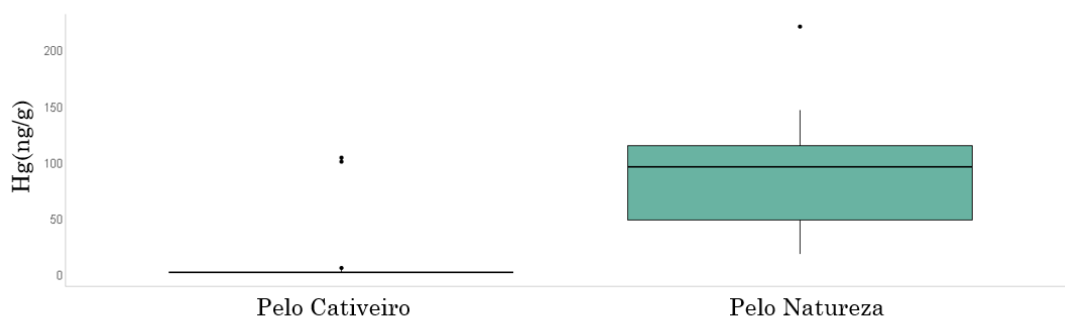


Figura 9: Gráfico de teores de Hg(ng/g) encontrados em lobos de cativo e em lobos de natureza, no local coletado.

Fonte: Autoria própria.

A figura 10 mostra o gráfico de $\delta^{15}\text{N}$ x Hg e sinaliza que os animais de natureza assimilaram à época de colheitas mais itens de origem animal, além de mostrar maiores taxas de mercúrio nos pelos de animais de natureza e em dois exemplares de animais jovens de cativeiro.

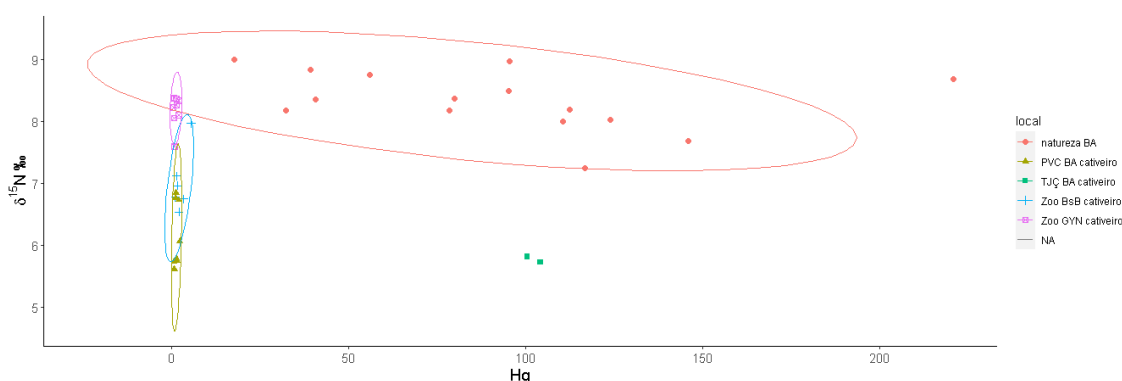


Figura 10: Gráfico de indicação dos níveis de Hg(ng/g) em relação aos níveis de $\delta^{15}\text{N}$.
Fonte: Autoria própria.

Dois filhotes de lobos que se encontram em cativeiro em recinto de aclimação para serem soltos, fazem parte de uma ninhada com cinco filhotes que nasceram na região da Trijunção e que a mãe era monitorada por pesquisadores. Em junho de 2020 o sinal do rádio colar parou e os pesquisadores foram até o ponto indicado e encontraram a mãe morta e os filhotes sozinhos, ainda observaram para ver se o pai os estava alimentando, porém tomaram a decisão de resgatá-los e cuidar deles. A ninhada inteira foi levada para a Fundação Jardim Zoológico de Brasília que cuidou deles até eles ficarem mais independentes, quando foram levados para locais diferentes - recintos de aclimação, com o propósito de aprenderem novos comportamentos como caça e forrageamento sozinhos e posteriormente, serem soltos. Dois desses cinco lobos voltaram para a fazenda Trijunção e os valores de Hg presentes nos pelos deles está bem maior do que os demais dos que estão em outros lugares. Dos cinco filhotes de lobos, foram analisados pelos de quatro animais, os dois primeiros estavam no Parque Vida Cerrado (PVC) os dois últimos estavam na Fazenda Trijunção, conforme Tabela 2. A diferença entre os valores leva à tendência de que a área da Trijunção possui níveis elevados de mercúrio.

Tabela 2: Diferenças dos teores de Hg em lobos da mesma ninhada.

Lobos Jovens	Hg(ng/g)	Local da colheita	Data da colheita
Seriguela	0,64074	Parque Vida Cerrado	Outubro 2021
Pequi	0,758269	Parque Vida Cerrado	Outubro 2021
Mangaba	100,4085	Fazenda Trijunção	Janeiro 2022
Araticum	104,0956	Fazenda Trijunção	Janeiro 2022

Fonte: Autoria própria.

Em estudo sobre a ocorrência de mercúrio em pelos de 13 lobos-guarás no interior e no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra (PNSC), a concentração de mercúrio variou de 0,62 a 9,80 hg(ng/g) (LEÃO, 2007). A autora considerou que os animais foram expostos à contaminação pelo mercúrio, mesmo estando distantes de fontes importantes desse elemento e que os pequenos mamíferos também estão expostos. Sugere que a assimilação do mercúrio pelos lobos seja em função de se alimentarem desses pequenos mamíferos e que, dentro do PNSC, as concentrações de mercúrio total estavam mais elevadas do que nas regiões do entorno (LEÃO, 2007).

A diferença significativa em relação ao mercúrio entre os pelos de lobos coletados no local da fazenda Trijunção e dos demais locais podem ser por três motivos plausíveis. O primeiro seria a presença desse metal naturalmente na região. Conforme Bisinoti & Jardim (2004), em solos argilosos, a concentração de Hg pode ser mais acentuada, os teores de argila nos solos da Fazenda Trijunção foram pesquisados por Albuquerque Filho e colaboradores (2019) e foram encontrados em termos de profundidade em 4 dos 5 perfis de solos estudados. Isso pode indicar que o solo naturalmente contém maior nível de mercúrio.

Outro fator, que pode re-emitir mercúrio na natureza, além das precipitações com o metal, a deposição pode ocorrer de forma seca pela dispersão pelo ar e inclusive com as queimadas. Em um estudo com a queima de biomassa, Melendez-Pérez (2014) conseguiu o cálculo da massa de Hg como sendo a diferença do estoque de Hg obtido de amostras de solo e de vegetação, antes e depois da queimada programada em uma estação experimental da EMBRAPA, no Acre. Os valores de emissão para queima de biomassa tiveram que ser calculados para cada tipo de biomassa, em separado: folhas, serapilheiras, madeiras, toras de diferentes diâmetros, o solo e sua profundidade também foram analisados. A queimada emitiu de volta o mercúrio presente no solo e na vegetação, a chamada emissão térmica total de mercúrio num total de $4,1 \pm 1,4$ g Hg ha⁻¹, onde 78% foi de serrapilheira e solo superficial e o menor percentual relativo à biomassa viva, partículas gasosas de mercúrio continuaram a ser liberadas no solo após a queimada. Em função disso, foi feito o levantamento dos pontos de

queimadas ao longo dos anos em que foram feitas as colheitas de pelos na região da Trijunção, conforme figura 11 a seguir, com base nas informações obtidas no Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, 2020e inferimos que há tendência de haver re-emissão de mercúrio também em forma de queimadas na região da Trijunção.

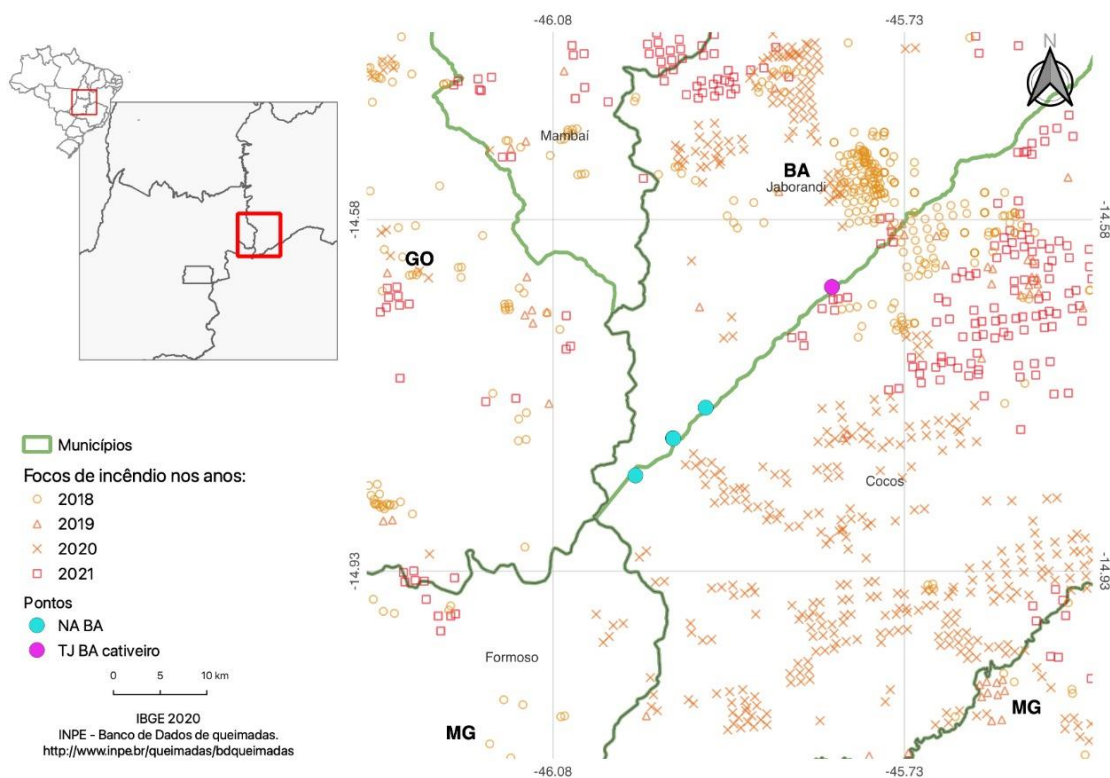


Figura 11: Ilustração com mapa do histórico de focos de queimadas nos anos de 2018 a 2021 na região da Trijunção.

Fonte: Dados coletados por autoria própria e mapa confeccionado por Wellington Coelho.

A principais reações do ciclo do mercúrio na natureza podem ocorrer na atmosfera, na água e em solo ou em sedimentos de oceanos, rios e lagos. Esses sedimentos poluídos pelo mercúrio podem servir como substrato para metilação deste metal por aproximadamente 100 anos (BISINOTI & JARDIM, 2004). Os garimpos de ouro são atividades que despejam grande quantidade de mercúrio em cursos de água, ou pela atmosfera. A partir desses dados, foi confeccionada a ilustração com mapa apresentado na figura 12, a seguir, que informa sobre as atividades de garimpo ativas e inativas na região da Trijunção, fundamentadas em informações obtidas nas bases de dados da Agência Nacional de Mineração (ANM), no Portal do Sistema de Informações Geográficas da Mineração – SIGMINE- última atualização 1 de julho de 2021, 10:44 (BRT)

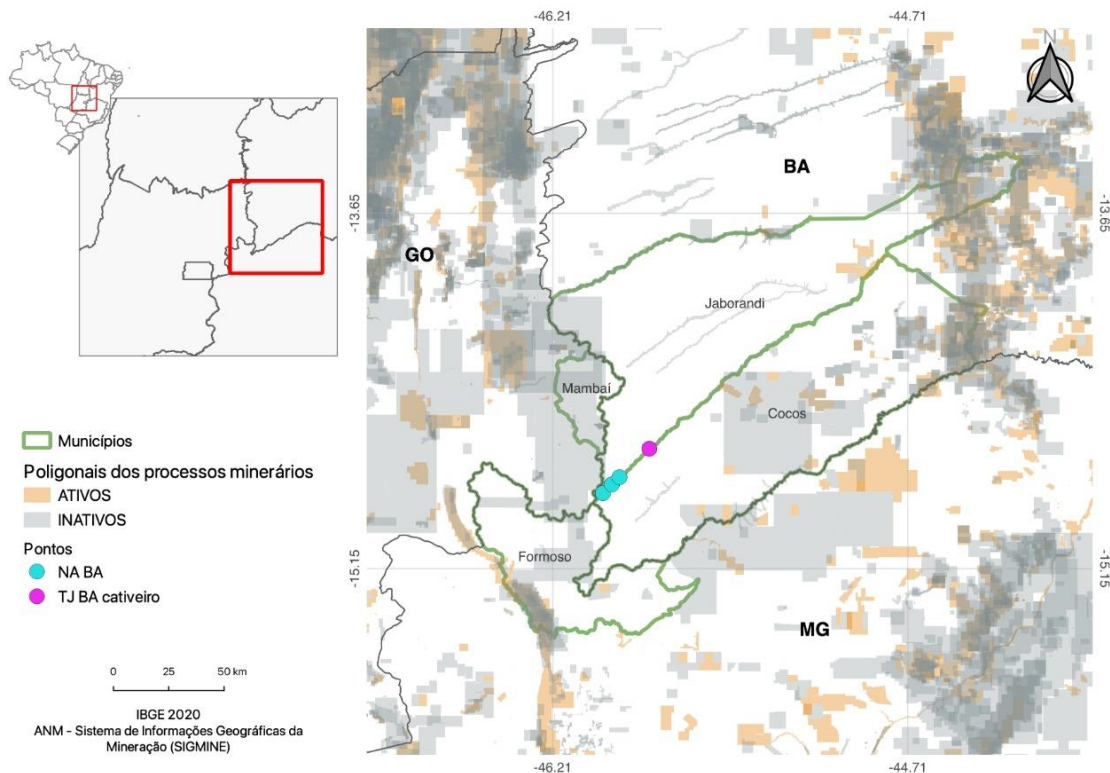


Figura 12: Ilustração com mapa de garimpos de ouro ativos e inativos nas proximidades de coletas

Fonte: Dados coletados por autoria própria e mapa confeccionado por Wellington Coelho.

Mesmo com certa distância de fontes de contaminação por garimpo e por meses, é possível haver contaminação na fauna local. Foi inferido que essas fontes podem ser uma das causas de níveis altos desse metal no local, bem como nos pelos dos animais amostrados.

4.4 Análise estatística entre as categorias jovem, adulto e idoso e $\delta^{13}\text{C}$ e em pelos de lobos em Cativoiro:

Para testar se houve diferença entre as categorias de idade dos lobos em cativoiro em relação ao $\delta^{13}\text{C}$ foi feito o teste de Kruskal-Wallis, dado que os resíduos do modelo não assumiram distribuição normal (Shapiro-Wilk: $W = 0.89$, $P = 0.01$). Os resultados mostraram que houve diferença no $\delta^{13}\text{C}$ dos pelos de lobos de cativoiro (Qui quadrado = 9.19; grau de liberdade: 2; $P = 0,01$). Após, foi feito o teste par a par de Wilcoxon para identificar quais categorias de idade se diferenciaram. Houve uma diferença significativa entre a categoria idoso e adulto ($P = 0,01$). Não houve diferença significativa entre jovem e adulto ($P = 0,47$) e entre jovem e idoso ($P = 0,06$). Veja figura 13 para detalhes.

Em relação à diferença significativa encontrada entre a categoria idosos e adultos, em relação ao $\delta^{13}\text{C}$, estudo indica que possa ser em função da assimilação diferenciada. Algumas

modificações anatômicas tais como a morfologia histológica do intestino, aonde canídeos mais velhos têm menor área de superfície das vilosidades duodenais e pouca altura das vilosidades jejunais do que canídeos mais novos. Essas mudanças podem afetar a digestão e a assimilação dos alimentos em canídeos com mais idade (KUSMUK, *et al.*, 2005). Portanto, infere-se que a assimilação nos idosos esteja ocorrendo de forma diferente, mas necessita-se de mais estudos complementares.

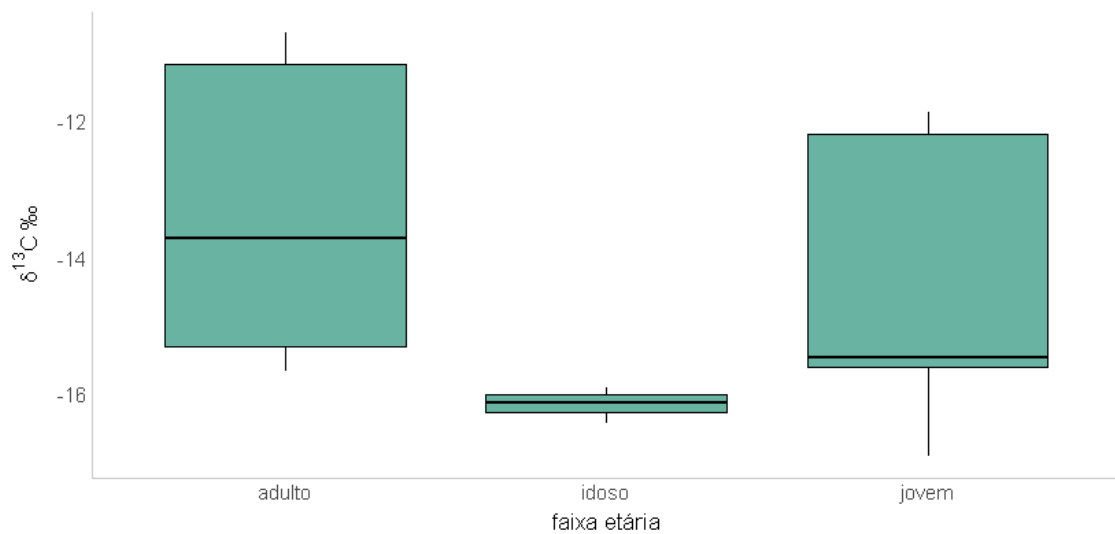


Figura 13: Gráfico da diferença significativa entre categoria adulto e idoso para $\delta^{13}\text{C}$
Fonte: Autoria própria

4.5 Análise estatística entre as categorias jovem, adulto e idoso e $\delta^{15}\text{N}$ e em pelos de lobos em Cativeiro:

Para testar se houve diferença entre as categorias de idade dos lobos em cativeiro em relação ao $\delta^{15}\text{N}$ foi feito o teste de Kruskal-Wallis, dado que os resíduos do modelo não assumiram distribuição normal (Shapiro-Wilk: $W= 0.90$, $P= 0.02$). Os resultados mostraram que não houve diferença no $\delta^{15}\text{N}$ dos pelos de lobos de cativeiro (Qui quadrado = 3.17; grau de liberdade: 2; $P= 0,20$).

CONCLUSÕES

Ao observarmos às razões isotópicas obtidas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, houve diferença significativa entre os pelos coletados de lobos-guarás em cativeiro dos lobos-guarás que vivem em natureza na região da Bahia, próximo aos estados de Goiás e a Minas Gerais.

Em relação aos valores de Hg, os lobos de natureza no local estudado, apresentam um teor desse metal nos pelos bem maior do que o apresentado em pelos de animais de cativeiro.

Em quanto à diferença significativa encontrada entre a categoria idosos e adultos, quando se analisa o $\delta^{13}\text{C}$ pode se inferir que esteja em função do processo de assimilação, pode ser que a assimilação nos idosos ocorrendo de forma diferente, podendo ser menos eficiente do que em animais mais novos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO – ANM , Sistema de Informações Geográficas da Mineração – SIGMINE. Disponível em (<https://dados.gov.br/dataset/sistema-de-informacoes-geograficas-da-mineracao-sigmine>); Acesso em 3/05/2022.

ALBUQUERQUE FILHO, M.R. de. Classificação de solos arenosos do grupo Urucuia com incremento de argila em profundidade. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SOLOS ARENOSOS, 3, 2019 **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Campo Grande, MS. Brasília, DF: EMBRAPA, 2019, p 9.

ALVES, Gustavo Henrique Zaia. **Isótopos de carbono e nitrogênio explicam diferenças em fontes de energia e segregação trófica de peixes em planícies de inundação Neotropicais. 2015**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, 2015.

AMBONI, M. P. M. **Dieta, disponibilidade alimentar e padrão de movimentação de lobo-guará, *Chrysocyon brachyurus*, no Parque Nacional da Serra da Canastra, MG. 2007**. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Manejo e Conservação da Vida Silvestre) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

AMBROSE S.H, DeNIRO M.J. The isotopic ecology of East African mammals. **Oecologia.**; 69(3):395-406. Jun 1986. doi: 10.1007/BF00377062. PMID: 28311342.

ARAGONA, M., & Setz, E. Z. F. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Mammalia: Canidae), during wet and dry seasons at Ibitipoca State Park, Brazil. **Journal of Zoology**, 254(1), 131–136. 2001. doi:10.1017/s0952836901000620

ARRUDA D. M., Fernandes-Filho, E. I., Solar, R. R., & Schaefer, C. E., Combining climatic and soil properties better predicts covers of Brazilian biomes. **The Science of Nature**, v. 104, n. 3, p. 1-10. 2017.

BAPTISTA, G., Kehrig, H. A., Di Benedetto, A. P. M., Hauser-Davis, R. A., Almeida, M. G., Rezende, C. E., ... & Moreira, I. Mercury, selenium and stable isotopes in four small cetaceans from the Southeastern Brazilian coast: influence of feeding strategy. **Environmental Pollution**, 218, 1298-1307. 2016.

BARBOSA, A. C.; José G DÓREA, J.G. Indices of mercury contamination during breast feeding in the Amazon Basin, **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Volume 6, Issue 2, Pages 71-79. 1998 ISSN 1382-6689, [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(98\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(98)00031-3).

BEKOF, M., Diamond, J., Mitton, J.B. Life-History Patterns and Sociality in Canids: Body size, reproduction and behavior. **Oecologia** Vol 50 (3): 386- 390. 1981. <http://www.jstor.com/stable/4216480>

BEN-DAVID, M., Flaherty, E. Stable isotopes in mammalian research: A beginner's guide. **Journal of Mammalogy** V. 93 (2012) 312-328. 2012. doi - 10.2307/41480342

BESTELMEYER, S. V.; WESTBROOK, C. Maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) predation on pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in Central Brazil. **Mammalia** (Paris), v. 62, n. 4, p. 591-595. 1998.

BIRCHALL, J., O'Connell, TC, Heaton, THE e Hedges, REM , As razões de isótopos de hidrogênio nas proteínas do corpo animal refletem o nível trófico. **Journal of Animal Ecology**, 74: 877-881. 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2005.00979.x>

BISINOTI, Márcia Cristina e Jardim, Wilson F.O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova** [online]. 2004, v. 27, n. 4 [Acessado 23 Maio 2022] , pp. 593-600. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400014>>. Epub 31 Jul 2004. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400014>.

BOESING, A. L., Marques, T. S., Martinelli, L. A., Nichols, E., Siqueira, P. R., Beier, C., ... & Metzger, J. P. . Conservation implications of a limited avian cross-habitat spillover in pasture lands. **Biological Conservation**, 253, 108898. 2021.

Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, v. 12, n. 3, p. 627-640, 1995.CAUT, S., Angulo E., and COURCHAMP F. Discrimination factors (D15N and D13C) in an omnivorous consumer: Effect of diet isotopic ratio. **Funct. Ecol.** 22: 255–263. 2008.

BUENO, A.A., Belentani, Sonia C.S. and Motta-Junior, J.C. Feeding ecology of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1815) (Mammalia: Canidae), in the Ecological Station of Itirapina, São Paulo state, Brazil. *Biota Neotropica* [online]. v. 2, n. 2 2002. [Accessed 1 September 2021] , pp. 1-9. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S1676-06032002000200007>>. Epub 11 June 2013. ISSN 1676-0611. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032002000200007>.

CARVALHO, C. T.; VASCONCELLOS, L. E. M. Disease, food and reproduction of the maned wolf: *Chrysocyon Brachyurus* (Illiger)(Carnivora, Canidae) in southeast in southeastBrazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 3, p. 627-640. 1995.

CAUT, S., Angulo E., and COURCHAMP F. Discrimination factors (D15N and D13C) in an omnivorous consumer: Effect of diet isotopic ratio. **Funct. Ecol.**, 22: 255–263. 2008.

CERLING, Thure E.; HARRIS, John M. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. **Oecologia**, v. 120, n. 3, p. 347-363, 1999.

CHUMCHAL, Matthew M., Drenner, R.W.. Factors influencing mercury accumulation in three species of forage fish from Caddo Lake, Texas, USA. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 8, p. 1158-1163, 2010.

CODRON, J, Avenant NL, Wigley-Coetsee C, Codron D. Carnivore stable carbon isotope niches reflect predator-prey size relationships in African savannas. **Integr Zool**.13(2):166-179. doi: 10.1111/1749-4877.12290. PMID: 29168617. 2018 Mar.

DE ARO Galera, L., Abdalla Filho, A. L., Reis, L. S., de Souza, J. L., Hernandez, Y. A., & Martinelli, L. A. . Carbon and nitrogen isotopic composition of commercial dog food in Brazil. **PeerJ**, 7, e5828. 2019

DE BRITO, L. D. J. M., Gomes, P. D., da Rosa, G. B., & Freitas, V. S. . Comportamento e biologia reprodutiva de fêmea de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1815) sob cuidados humanos. **Brazilian Journal of Science**, 1(5), 65-75. 2022

DIETZ, J. M. Ecology and social organization of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). **Smithsonian Contributions to Zoology** 392:1–51. 1984 .

DIETZ, J.M.. *Chrysocyon brachyurus* - **Mammalian Species**. 234: 1-4. 1985

EMMERT, L. **Dieta e Uso do Habitat pelo Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1815) na Floresta Nacional de Brasília. 2012**. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. Publicação PPGRFL.DM – 178/2012. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 86p, 2012

FACURE, K. G.; MONTEIRO FILHO, EL A. Feeding habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae), in a suburban area of southeastern Brazil. **Mammalia** (Paris), v. 60, n. 1, p. 147-149. 1996.

FERNANDES, F. A.S. , Rheingantz, M.L., Genes, L., Kenup, C.F., Galliez, M., Cezimbra, T., Cid, B., Macedo, L., Araujo, B.B.A., Moraes, B.S., Monjeau, A, , Pires, A.S. Rewilding the Atlantic Forest: Restoring the fauna and ecological interactions of a protected area, *Perspectives in Ecology and Conservation*,15 308–314. 2017.

FOX-DOBBS, K., Bump, J.K., Peterson, R.O., Fox, D.L. Koch, P.L.. Carnivore-specific stable isotope variables and variation in the foraging ecology of modern and ancient wolf populations: case studies from Isle Royale, Minnesota, and La Brea. **Can. J. Zool**. 85: 458-471. 2007. doi: 10.1139/Z07-018

FRANÇA, J., Saad, F. M. O. B., Saad, C. E. P., Silva, R. C., & Reis, J. S. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40, 222-231. 2011.

FRANCESCHINI, Júlia Vasconi. **Influência da paisagem na dieta de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger 1815). 2020** Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista – UNESP São José do Rio Preto,. 81 f. 2020.

FRANCO, Marcos Alberto Lima; DE CARVALHO, Matheus C.; DE REZENDE, Carlos Eduardo. Revisão sobre o uso de ferramentas múltiplas em estudos tróficos de comunidade de peixes. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 9, n. 3, p. 172-185.2014.

FREITAS, E.P., Rahal, S.C., Ciani, R.B. Physical and behavioral disturbance in aging dogs and cats. **Archives of Veterinary Science**, V.11 n.3 p 26-30. 2006. ISSN 1517-784X

GANNES, L.Z., Del Rio, C.M., Koch, P. Natural Abundance Variations in Stable Isotopes and their Potential Uses in Animal Physiological Ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 119 (3), 725-737. 1998. doi: 10.1016 / s1095-6433 (98) 01016-2

GASPAR, M. T. P. . **Sistema Aquífero Urucuia: caracterização regional e propostas de gestão. 2006** Tese de Doutorado. Instituto de Geociências. Universidade de Brasília, Brasília. 2006.

HOEFS, J. Stable Isotope Geochemistry. Springer Textbooks in Earth Sciences, Geography and Environment Eighth edition. 2018. ISBN 978-3-319-78526-4 ISBN 978-3-319-78527-1 (eBook). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-78527-1>

ILLIGER, K. 1804–1811 [1815]. *Überlick der Säugethiere nach ihrer Verteitung über die Welttheile*. Akademie der Wissenschaften Berlin Abhandlungen, v. 1811, p. 39-159, 1804.

INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 2020. Portal do Monitoramento de Queimadas e Incêndios Florestais. Disponível em <http://www.inpe.br/queimadas>. Acesso em 22/05/22.

JÁCOMO, A. T. A. **Nicho alimentar do Lobo Guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1911) no Parque Nacional das Emas – GO. 1999** Mestrado em Ecologia. Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Goiás. 32 p, 1999

JUAREZ, K.M., MARINHO-FILHO, J. Diet, Habitat Use, and Home Ranges of Sympatric Canids in Central Brazil, **Journal of Mammalogy** , Volume 83, Issue 4, November 2002, Pages 925–933, [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2002\)083<0925:DHUAHR>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2002)083<0925:DHUAHR>2.0.CO;2)

KEHRIG, H.A.; FERNANDES, K.W.G.; MALM, O.; SEIXAS, T.G.; DI BENEDITTO, A.P.M.; SOUZA, C.M.M. Trophic transference of mercury and selenium in the Northern Coast of Rio de Janeiro. **Química Nova**, 32(7):1822-1828. 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000700026>

KLINK, C.; MACHADO, R. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, [s. l.], v. 1, ed. 1, p. 147-155, julho/2005

KORSTIAN, J.M., Chumchal, M.M., Bennett, V.J., Hale, A.M. Mercury contamination in bats from the Central United States. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 37 (1) :160–165. 2018.

KURTEN, E.L. Cascading effects of contemporaneous defaunation on tropical forest communities. **Biol. Conservation**, 163, 22-32. 2013. doi: 10.1016 / j.biocon.2013.04.025.

KUZMUK, K. N., Swanson, K. S., Tappenden, K. A., Schook, L. B., Fahey, G.C. Dieta e Idade Afetam Morfologia Intestinal e Concentrações de Produto Final Fermentativo do Intestino Grosso em Cães Adultos Jovens e Idosos, **The Journal of Nutrition**, Volume 135, Edição 8, Agosto de 2005, Páginas 1940–1945, <https://doi.org/10.1093/jn/135.8.1940>

LAYMAN, CA, Araujo, MS, Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, CM, Harrison, E., Jud, ZR,... Bearhop, S. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. **Biological Reviews**, 87 (3), 545–562. 2011. doi: 10.1111 / j.1469-185x.2011.00208.x

LEÃO, R. S. **Ocorrência de mercúrio em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e componentes da dieta do Parque Nacional da Serra da Canastra e áreas do entorno de Minas Gerais, Brasil. 2007.** Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Departamento de Biologia, 2007.

LEBEL, Jean, Mergler, D., Branches, F., Lucotte, M., Amorim, M., Larribe, F., Dolbec, J. Neurotoxic Effects of Low-Level Methylmercury Contamination in the Amazonian Basin, **Environmental Research**, Volume 79, Issue 1, 1998, Pages 20-32, ISSN 0013-9351, <https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3846>.

LETNIC , M. , Ritchie , E.G. , and Dickman , C.R. Top predators as biodiversity regulators: the dingo *Canis lupus dingo* as a case study . **Biological Reviews**, 87, 390 – 413, 2012.

LUCCHESE, G. Agrotóxicos: construção da legislação. Brasília: Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados, 2005, 11 p. Disponível em: <<http://bd.camara.gov.br/bd/handle/bdcamara/2227>>.

LYNCH, D.W. . Selected toxic metals in Ohio's upland wildlife. M.Sc. thesis, Ohio. Ohio State University, Ohio. 1973.

MAGIOLI, Marcelo. **Ecologia trófica, funcional e isotópica de mamíferos terrestres da Mata Atlântica. 2018.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

MARCUZZO, Francisco Fernando Noronha; CARDOSO, Murilo Raphael Dias; FARIA, Thiago Guimarães. Chuvas no cerrado da região Centro-Oeste do Brasil: análise histórica e tendência futura. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v.6, n.2, p.112-130 , Goiânia.

MARQUES, T. S., Brito, E. S., Lara, N. R., Beloto, L. M., Valadão, R. M., Camargo, P. B. D., Verdade, L. M. The trophic niche of *Mesoclemmys vanderhaegei* (Testudines: Chelidae): evidence from stable isotopes. **Zoologia** (Curitiba), 34. 2017.

MARTINELLI L A, Nardoto, G.B., Soltangheisi, A., Reis, C.R.G., Abdalla-Filho, A.L., Camargo, P.B., & Vieira, S.A.. Determinando o funcionamento do ecossistema em biomas

brasileiros através das concentrações foliares de carbono e nitrogênio e razões isotópicas estáveis. **Biogeoquímica**, v. 154, n. 2, pág. 405-423. 2021.

MARTINELLI, L.A.; OMETTO, J.P.; FERRAZ, E.S.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO P.B.; MOREIRA, M.Z. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. São Paulo: **Oficina de Textos**, v. 1, 144 p. 2009.

MECH, L.D., Boitani, L. Wolf social ecology, In *Wolves: behavior, ecology and conservation*. University of Chicago Press, Chicago. pp. 1-34. 2003. https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=xL0IEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&ots=SaCLMnoS-w&sig=qihTGaeP_rWB0ofnxDEBjarFePs#v=onepage&q&f=false

MELLENDEZ-PEREZ, J. J., Fostier, A. H., Carvalho Jr, J. A., Windmöller, C. C., Santos, J. C., & Carpi, A. Soil and biomass mercury emissions during a prescribed fire in the Amazonian rain forest. **Atmospheric Environment**, 96, 415-422. 2014.

Method 1631E, Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry; U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology, **Engineering and Analysis Division** (4303), Washington, DC; Aug 2002.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. Diário Oficial da União: Imprensa Nacional, ano 2014, v. 1, n. 245, p. 121-126, 17 dez. 2014. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/biodiversidade/fauna-brasileira/avaliacaodorisco/PORTARIA_N%C2%BA_444_DE_17_DE_DEZEMBRO_DE_2014.pdf. Acesso em: 15 maio 2021.

MISSAGIA, R., Patterson, B., Perini, F. Stable isotope signatures and the trophic diversification of akodontine rodents. **Evolutionary Ecology**, 33. 2019. doi - 10.1007/s10682-019-10009-0

MOTTA JUNIOR, J. C.; Queirolo, D.; Bueno, A. A.; Belentani, S. C. Fama injusta: novas informações sobre a dieta do lobo-guará podem ajudar a preservá-lo. **Ciência hoje**, São Paulo, v. 31, n. 185, p. 71-73, 2002.

MOTTA-JUNIOR, J. C., Martins, K. The frugivorous diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* in Brazil: ecology and conservation. In: *Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation*. CAB International, Wallingford, Oxfordshire.: p. 291-303. 2002.

MOTTA-JUNIOR, J. C.; TALAMONI, S.A.; LOMBARDI, J.A.; SIMOKOMAKI, K. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in central Brazil. **Journal of Zoology**, v. 240, n. 2, p. 277-284, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05284.x>

NAGASHIMA, J.B., Songsasen, N. Canid Reproductive Biology: Norm and Unique Aspects in Strategies and Mechanisms. **Animals** 11, 653. 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11030653>

NARDOTO, G. B., Godoy, P. B. D., Ferraz, E. S. D. B., Ometto, J. P. H. B., & Martinelli, L. A. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and swine tissues. **Scientia Agricola**, 63, 579-582. 2006.

O'CONNEL, T.C., Hedges, R.E.M. Investigations into the effect of diet on modern human hair isotopic values. **American Journal of Physical Anthropology**. Vol. 108 Issue 4: 404-425. 1999. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199904\)108:4<409::AID-AJPA3>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199904)108:4<409::AID-AJPA3>3.0.CO;2-E)

ODUM, H T. Systems ecology; An introduction. United States: N. p., 1983. **Web**.

OLIVEIRA, A. C. B.. **Isótopos estáveis de C e N como indicadores qualitativo e quantitativo da dieta do tambaqui (*Colossoma macropomum*) da Amazônia Central. 2003.** Tese de doutorado, Piracicaba, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. 86 p. 2003.

PEREIRA, S., Machado, F., Borges, D., Santos, A., Pereira, W., Silva, J. Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*): características gerais, mitológicas e seu conhecimento popular na região noroeste de Minas Gerais. **Revista Acadêmica: Ciência Animal** V- 17. 2019. doi-10.7213/1981-4178.2019.17002

PETERSON, R.O., Ciucci, P. The wolf as a carnivore, In *Wolves: behavior, ecology and conservation*. Edited by L.D. Mech and L. Boitani. **University of Chicago Press**, Chicago. pp.104-130. 2003.

POHLERT T (2014). *_The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR)_*. R package, <<https://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>>.

POST, D. M. Using Stable Isotopes To Estimate Trophic Position: Models, Methods, And Assumptions. **Ecology**, 83(3), 703–718. 2002. doi:10.1890/0012-9658(2002)083[0703:usitet]2.0.co

QUEIROLO, D., Moreira, J., Soler, L., Emmons, L., Rodrigues, F., Pautasso, A., . . . Salvatori, V. Distribuição histórica e atual do lobo-guará quase ameaçado *Chrysocyon brachyurus* na América do Sul. **Oryx**, 45 (2), 296-303. 2011. doi:10.1017/S0030605310000372

R Core Team (2022). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REIS, Thaís Rovere Diniz. **Agentes infecciosos e dieta de carnívoros e domésticos em áreas de silvicultura do Alto Paranapanema: implicações para a conservação.** 2011. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba,. 221 p. 2011.

RIBAS, B. P. **Mapeamento isotópico do leite de bovinos de produtores no Centro Oeste Paulista. 2020.** Beatriz Pavoni Ribas. - Botucatu, Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2020.

RICKLEFS, Robert F. A Economia da Natureza: Um livro-texto em ecologia básica, **Editora Guanabara Koogan S.A.** R.J. Ed.3 1996 470 p.

RODRIGUES, F. H. G. **Biologia e conservação do lobo-guará na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF. 2002.** Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2002.

RODRIGUES, F. H. G.; HASS, A.; LACERDA, A. C. R.; GRANDO, R. L. S. C.; BAGNO, M. A.; BEZERRA, A. M. R.; SILVA, W. R. Feeding habits of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the Brazilian Cerrado. **Mastozoología Neotropical**, v. 14, n. 1, p. 37-51, 2007.

SCHOENINGER, M.J. DeNiro, M.J. Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Volume 48, Issue 4, Pages 625-639, 1984. ISSN 0016-7037, [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(84\)90091-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(84)90091-7).

SCOLFORO, José Roberto Soares. Características e produção das fisionomias do Cerrado em Minas Gerais. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L. de (Ed.). Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**. cap. 16. Embrapa Cerrados (CPAC), p. 505 - 610, 2008.

SILVA, C.V, De Barros, F., De Souza, C.F.V. MARKETED IN. 2010. Qualidade Nutricional De Rações Secas Para Cães Adultos Comercializadas Em Lajeado-RS. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v. 4, n. 02, p. 153-160, 2010.

SILVA, Carlos Alberto da. **Especiação do mercúrio na cadeia trófica pelágica de uma costa sujeita a ressurgência. 2006.** Cabo Frio-RJ. Tese (Doutorado em Geoquímica Ambiental). – Universidade Federal Fluminense . 124 f. 2006.

SMITH, T.G. Armstrong, Mercury in Seals, Terrestrial Carnivores, and Principal Food Items of the Inuit, from Holman, N. W.T.. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**. 32(6): 795-801. 1975. <https://doi.org/10.1139/f75-104>

SOARES, A.C. **O que se sabe sobre a dieta de Chrysocyon brachyurus (Carnivora: Canidae) no Brasil? 2020.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. 2020. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.3317>

SOUZA, F.H., da Silva E. C., Bocchiglieri, A. A neotropical canid as seed disperser in semiarid areas of Brazil, **Acta Oecologica**, Volume 111, 2021,103735,ISSN 1146-

609X,<https://doi.org/10.1016/j.actao.2021.103735>.(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1146609X21000345>).

SOUZA, V. P., LINS, F. A. F. Recuperação do ouro por amalgamação e cianetação: problemas ambientais e possíveis alternativas. Rio de Janeiro, **CETEM/CNPq**, 26 p. 1989.

SUTOH, M., T. KOYAMA, AND T. YONEYAMA. Variations of natural ^{15}N - Abundances in the tissues and digest of domestic animals. **Radioisotopes** 36: 74–77. 1987.

TERBORGH, J. Maintenance of diversity in tropical forests, *Biotropica*. **Lawrence**, Volume 24: 283-292. 1992.

VELOSO, A. C., Soares, A. C., Custódio, A. E. I., de Sá, A., Júnior, V. J. P., Roel, C. F. C., & Carvalho, E. Dispersão De Sementes De Lobeira Pelo Lobo-Guará (*Chrysocyon brachyurus*) Em Área De Cerrado, Com Reflorestamento De Eucalipto Como Matriz De Entorno-Minas Gerais. 3o **Simpósio Multidisciplinar Sobre Relações Harmônicas Entre**, p. 37.

WILSON, E.O. Biodiversidade. Rio de Janeiro: **Nova Fronteira** 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Casa/overview/Exposição ao mercúrio: um grave problema de saúde pública, segunda edição. 8 abril 2021. <https://www.who.int/pt/publications/i/item/9789240023567>

XAVIER, F. (Comp.). Convenção Internacional sobre o mercúrio é acordada por mais de 140 países: Publicadas. **Ascom/IBAMA**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/publicadas/convencao-internacional-sobre-o-mercurio-e-acordada-por-mais-de-140-paises>

ANEXOS:



Figura 14: Fotografia do preenchimento do copo de estanho para pesagem.

Fonte: Acervo particular.



Figura 15: Fotografia da pesagem da amostra.

Fonte: Acervo particular.



Figura 16: Fotografia do fechamento do copo de estanho.

Fonte: Acervo particular.

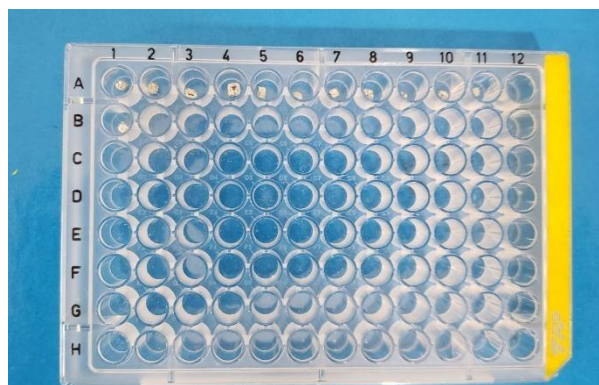


Figura 17: Fotografia do preenchimento com as amostras nos poços das placas.

Fonte: Acervo particular.



Figura 18: Fotografia das placas devidamente identificadas.

Fonte: Acervo particular.

Tabela 3: Informações das amostras de pelos coletados referentes à localização, sexo, categoria etária, quando possível e períodos de colheita.

Local (sigla)	Latitude Datum Sirgas 2000	Longitude Datum Sirgas 2000	Sexo	Categoria	Data da colheita
Zoo BsB Cativeiro	-15,850405	-47,940225	macho	jovem	11/2021
			fêmea	idoso	09/2021
			macho	idoso	09/2021
			fêmea	adulto	09/2021
			fêmea	adulto	09/2021
PVC BA cativeiro	-12,07741667	-45,674	fêmea	idoso	09/2021
			fêmea	jovem	10/2021
			fêmea	jovem	10/2021
			fêmea	idoso	10/2021
			fêmea	adulto	10/2021
			macho	adulto	10/2021
			macho	jovem	10/2021
			macho	jovem	10/2021
Zoo GYN cativeiro	-16,683497	-49,274618	fêmea	jovem	10/2021
			fêmea	jovem	10/2021
			macho	jovem	10/2021
			fêmea	jovem	10/2021
			fêmea	adulto	10/2021
			macho	adulto	10/2021
			fêmea	adulto	10/2021
TJÇ BA cativeiro	-14,64397222	-45,80213889	fêmea	jovem	01/2022
			macho	jovem	01/2022
Natureza BA	-14,79461	-45,96055	macho	SI*	12/2020
	SI	SI	fêmea	SI	03/2020
	-14,79487	-45,96008	fêmea	SI	05/2021
	SI	SI	macho	SI	05/2021
	SI	SI	fêmea	SI	09/2021
	SI	SI	macho	SI	05/2021
	SI	SI	SI (cadáver)	SI	04/2019
	SI	SI	fêmea	SI	07/2020
	SI	SI	fêmea	SI	04/2019
	SI	SI	fêmea	SI	03/2020
	SI	SI	fêmea	SI	12/2018
	-14,831729	-45,997864	macho	SI	09/2019
	-14,76419	-45,92794	macho	SI	05/2021
SI	SI	macho	SI	12/2018	
SI	SI	macho	SI	05/2021	

Fonte: autoria própria

* A sigla SI (sem informação) da tabela 3, se refere à ausência de dados da respectiva amostra.

Tabela 4: Rações utilizadas nas dietas em cativeiro e principais ingredientes.

Royal Canin Adult	Filhote Royal Canin Puppy Max	Ração Team Breeder Farmina	Ração Hepática Royal Canin	Ração Gran Plus Adulto Frango E Carne	Ração Gran Plus Filhote Carne E Arroz
Quirela de arroz, milho integral moído e glúten de milho mod. Genét.por <i>Bacillus t.</i> e <i>Streptomyces v.</i> , farinha de vísceras de aves, farinha de proteína isolada de suíno, gordura suína, fígado de frango, óleo de peixe refinado, gordura de frango, vitaminas (A,C,E,D3 ,B1,B2,B6 ,B12,PP) e outros ingredientes	Farinha de vísceras de aves, quirela de arroz, milho integral moído, farelo de glúten de milho, farinha de torresmo, gordura de frango, gordura suína, óleo de peixe refinado, sulfato de condroitina , extrato de marigold, extrato de yucca, vitaminas,(A,C,E,D3, B1,B2,B6, B12,PP) e outros ingredientes.	Farinha de vísceras de aves, quirela de arroz, grãos de milho, grãos de sorgo, glúten de milho -60, farelo de trigo, óleo de frango, óleo de peixe, aditivos prebióticos (FOS e MOS), metionina, hidrolisado de fígado suíno, extrato de yucca, vitaminas (A,D3,E,B1 ,B2,B6, B12, C, biotina, niacina) e outros ingredientes.	Quirela de arroz, hidrolisa do de soja, milho integral moído, gordura de frango, gordura suína, óleo de peixe refinado, levedura enriquecida com selênio, vitaminas (A, C,E,D3,B 1,B2,B6, B12,PP, K3) e outros ingredientes.	Farinha de vísceras de aves, farinha de carne e osso de bovinos, quirela de arroz, grão de milho 1, farelo de glúten de milho-601, grão de sorgo, feijão bandinha 2, óleo de aves, farelo de trigo, hidrolisado de fígado de aves e suínos, vitaminas (A,D3,E,K3, B1,B2,B6,B 12) e outros ingredientes.	Farinha de carne e osso de bovinos, farinha de vísceras de aves, quirela de arroz, grão de milho1, farelo de glúten de milho-601, grão de sorgo, feijão bandinha 2, óleo de aves, farelo de trigo, hidrolisado de fígado de aves e suínos, vitaminas (A,D3,E,K 3,B1,B2,B6 ,B12) e outros ingredientes.

Fonte: autoria própria