

## Dieta de queixadas (*Tayassu pecari*) por DNA metabarcoding de fezes na região do Parque Nacional das Emas (Goiás, Brasil)

Diet of white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) through DNA metabarcoding of scats in the Emas National Park region (Goiás, Brazil)

Luanne Helena Augusto Lima  
Centro Nacional de Pesquisa e  
Conservação de Mamíferos  
Carnívoros - ICMBio.  
luannelima@gmail.com

Mariella Butti de Freitas Guilherme  
Centro Nacional de Pesquisa e  
Conservação de Mamíferos  
Carnívoros - ICMBio.

Renata Alonso Miotto  
EcoMol Consultoria e Projetos.

Ricardo Ribeiro da Silva  
Tropical Sustainability Institute.

Christian Niel Berlinck  
Centro Nacional de Pesquisa e  
Conservação de Mamíferos  
Carnívoros - ICMBio

### RESUMO

*Tayassu pecari* é uma espécie ameaçada de extinção que tem o Parque Nacional das Emas como importante refúgio no Cerrado. Nesta região, *T. pecari* é identificada como espécie-problema devido aos danos causados às plantações, em especial ao cultivo de milho. Para identificar a constituição da dieta dos queixadas, este trabalho utilizou DNA metabarcoding em fezes. Foram encontradas 80 espécies de plantas em 47 famílias, em 16 amostras de fezes utilizando o barcode trnL. Foi observado que existe uma constituição alimentar distinta para cada um dos cinco pontos de coleta, dois dentro do Parque e três fora, e que a diversidade na dieta é maior nas amostras de dentro do Parque. Destaca-se a presença de soja, cana de açúcar, brachiaria e, em grande proporção, milho. Os resultados permitiram identificar 21 espécies que podem responder positivamente ao fogo, seja em nível de gênero ou de família, indicando que queimas prescritas na época correta podem aumentar a disponibilidade de alimentos para os queixadas no interior do Parque.

Palavras-chave: DNA ingerido (iDNA). Conservação. Espécie ameaçada. Manejo do fogo.

### ABSTRACT

*Tayassu pecari* is an endangered species that has the Emas National Park as an important refuge in the Cerrado biome. In this region, *T. pecari* is identified as a problem species due to the damage caused to crops, especially in maize farming. This work used DNA metabarcoding in scats to identify the composition of the white-lipped peccaries diet. Eighty plant species in 47 families were found among 16 scat samples by using the trnL barcode. It was observed that there is a distinct food constitution for each five sampled areas, two inside the Park and three outside and that the diversity in the diet is greater in the samples collected inside the Park. The presence of soybean, sugar cane, brachiaria, and, in a larger proportion, corn, stands out. The results allowed us to identify 21 species that can respond positively to fire, either at the genus or family level, indicating that prescribed burning at the correct time can increase the food availability for peccaries within the Park.

Keywords: Ingested DNA (iDNA). Conservation. Endangered species. Fire management.

**Recebido:** 02/05/2022 **Aprovado:** 20/07/2022

## INTRODUÇÃO

A espécie *Tayassu pecari* (queixada) possui diversas funções ecológicas como predador de grandes sementes, dispersor de pequenas sementes, engenheiro de ecossistema e também presa de grandes felinos (Altrichter et al., 2011). A ausência dos queixadas no ecossistema pode causar uma cascata de impactos negativos, incluindo a redução das populações de onça-pintada (Aranda, 1994, Paviolo et al., 2006), mudanças nos recursos de frutos e na estrutura da vegetação, aumento de roedores-praga e doenças associadas, e um empobrecimento geral das comunidades de plantas e de animais selvagens (Galetti et al., 2015).

Nas avaliações de espécies ameaçadas de extinção global e nacional, *T. pecari* está listada como Vulnerável (VU), (Keuroghlian, et al., 2013, Keuroghlian et al., 2012). Altrichter et al. (2012) estimam que a espécie foi extinta em 21% da sua distribuição original nos últimos 100 anos e está particularmente em risco em ecossistemas mais xéricos, especialmente na Caatinga, no Cerrado e nos Pampas. Especificamente para o Cerrado, cerca de 77% da área têm baixa e média probabilidade de sobrevivência da espécie e apenas 18% da distribuição atual no bioma foi considerada como área onde a espécie está conservada (Taber et al., 2008, Altrichter et al., 2012).

A perda de habitat em grande escala, principalmente devido às plantações de culturas temporárias, torna o Parque Nacional das Emas (PNE) um importante refúgio para os queixadas e para outras espécies no bioma Cerrado (Klink & Machado, 2005). Identificadas como espécie-problema, os queixadas são perseguidos pelos fazendeiros do entorno do PNE, que chegam a abater todo o bando. Muitos proprietários de terras utilizam veneno como um método barato e oculto, que não atrai a atenção das autoridades ambientais (Lima et al., 2019). Jácomo et al. (2013) tiveram seu estudo interrompido no PNE, porque 11 indivíduos que estavam sendo monitorados por telemetria, do total de 13, foram mortos em retaliação ao ataque às plantações.

Uma descrição da amplitude da dieta dos queixadas é fundamental para implementar medidas de manejo da espécie, possibilitando o estabelecimento de cevas (diversionary feeding), visando a redução do conflito com os agricultores (Massei et al., 2011). Esta espécie consome e danifica culturas como soja e milho, o que causa prejuízos econômicos e a torna alvo de retaliação (Lima et al., 2019). As cevas, uma das estratégias para manter os animais dentro da Unidade de Conservação, podem ocorrer com alimentação de origem externa ou favorecendo espécies vegetais nativas, aumentando sua disponibilidade aos animais (Garshelis et al., 2017).

O DNA metabarcoding é uma técnica que permite identificar as interações das

espécies e, assim, monitorar a biodiversidade e o funcionamento do ecossistema (Evans et al., 2016), como por exemplo identificar a composição da dieta de determinado indivíduo a partir da análise molecular das fezes. Esta técnica de identificação taxonômica em larga escala é baseada em análises de sequências de DNA (Pompanon et al., 2011, Riaz et al., 2011). Regiões curtas de um ou de alguns genes são utilizadas como marcadores, estas sequências são padronizadas e chamadas de códigos de barras de DNA (DNA barcodes) (Valentini et al., 2008). Em relação aos estudos de dieta convencionais, que se baseiam na identificação morfológica de restos não digeridos em fezes, o DNA metabarcoding, mostrou ter maior sensibilidade, maior resolução taxonômica e apresentar melhor custo-benefício (Pompanon et al., 2012).

Para análise de dieta de herbívoros e onívoros, as sequências de duas regiões de locus único, trnL e rbcL, são amplamente utilizadas (Taberlet et al., 2007, Valentini et al., 2009, Mallot et al., 2018) pois estão localizadas no genoma do cloroplasto, prevenindo a amplificação de sequências da espécie animal alvo do estudo. São utilizados o conjunto de primers trnL-g e trnL-h para amplificar o loop P6 de trnL (Transfer RNA Leucine intron) (Taberlet et al., 2007, Valentini et al., 2009, Soininen et al., 2009) e o rbcLZ1 e rbcL19b são usados para amplificar uma pequena região do gene RbcL, que codifica a subunidade maior da enzima ribulose-1,5-bisfosfato (Poinar et al., 1998, Bradley et al., 2007). Hollingsworth e colaboradores (2011) apontam que existem desafios e dificuldades para utilizar DNA metabarcoding de plantas, como, por exemplo, a montagem de conjuntos de amostras de DNA que representem a diversidade botânica, apoiados por sequências de DNA indexadas de espécimes identificados taxonomicamente.

Este trabalho visa identificar as espécies vegetais consumidas pelos queixadas da região do PNE, utilizando ferramentas moleculares a partir de DNA fecal de diferentes bandos. Os resultados permitiram identificar plantas que respondem positivamente ao fogo, orientando esta ferramenta de manejo tanto para evitar a ocorrência de incêndios quanto avançar para seu uso na conservação de espécies ameaçadas. No Cerrado, bioma favorecido pelo fogo (Pivello, 2011), a queima estimula a floração e frutificação de muitas espécies vegetais (Pilon et al., 2018, Pilon et al., 2021). Maravalhas e Vasconcelos (2014) consideram o fogo um promotor de heterogeneidade ambiental e diversidade biológica. O levantamento das espécies e sua relação com regimes de fogo poderão subsidiar o Plano de Manejo Integrado do Fogo do PNE, orientando as queimas prescritas com objetivo de aumentar a disponibilidade e diversidade de alimento no interior da Unidade de Conservação (UC), reduzindo a movimentação das queixadas para áreas produtivas do entorno, diminuindo o consumo e o dano às plantações e consequentemente o conflito com os agricultores da região.

## **Materiais e Métodos**

### Área de estudo

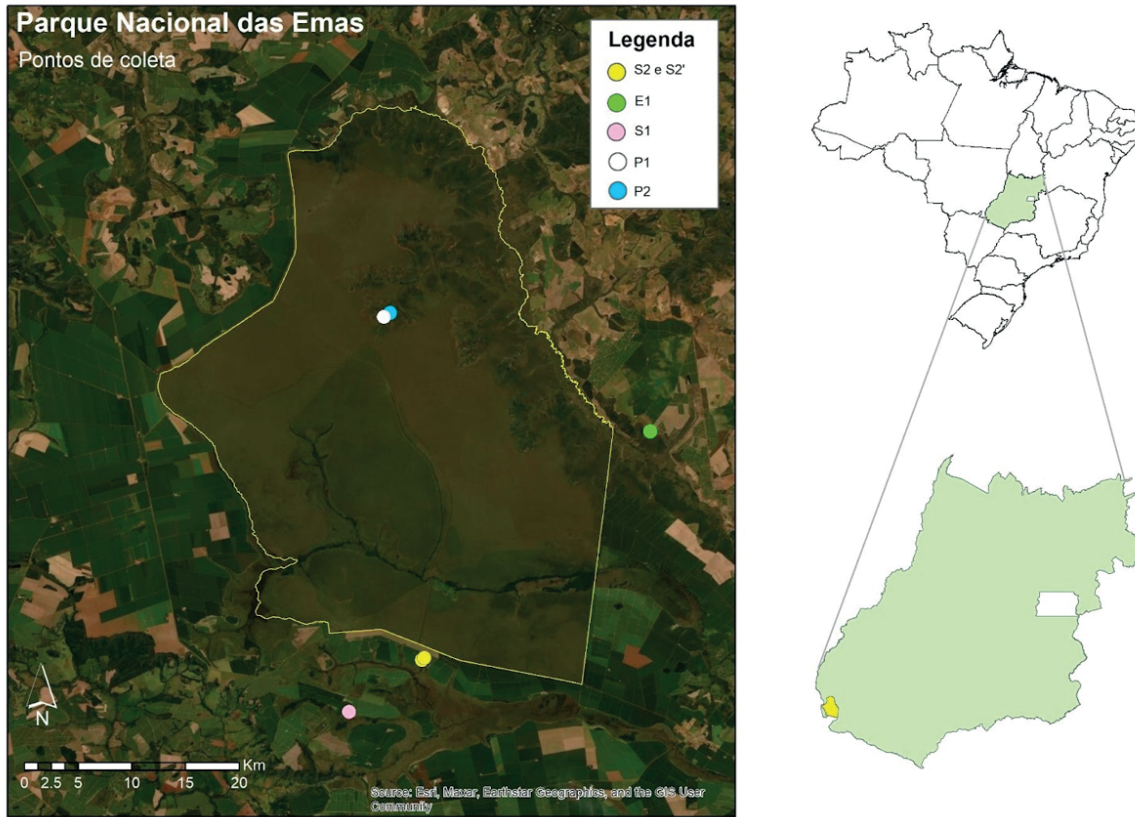
O Parque Nacional das Emas (PNE) localiza-se no Sudoeste do Estado de Goiás, abrange uma área aproximada de 132.000 hectares, distribuídos pelos municípios de Mineiros - GO, Chapadão do Céu - GO e Costa Rica - MS (IBAMA/MMA, 2004) (Figura 1). O Parque apresenta diversas fisionomias de cerrado, como campos limpos, campos sujos, cerrado sensu strictu, veredas e matas ciliares. Está situada em um dos extremos da Serra dos Caiapós e apresenta uma topografia plana com predominância de chapadões, chegando a 800 metros de altitude nas partes mais elevadas (IBAMA/MMA, 2004). Consiste em um mosaico de campos limpos (68,1%), campos típicos de savana, savana densa (cerrado sensu stricto: 25,1%), campos úmidos (4,9%) e florestas (1,2%) (Ramos-Neto & Pivello, 2000).

### Coleta de Amostras

Dezesseis amostras de fezes de *T. pecari* foram coletadas em cinco pontos, dois deles dentro do PNE (P1 e P2) e três deles fora (S1, S2 e E1). As amostras foram coletadas durante quatro campanhas de campo realizadas entre 31/05 e 08/06/2021 (Figura 1). No total, sete amostras foram coletadas em pontos dentro do PNE, e nove amostras foram coletadas fora. No ponto S2, foram realizadas coletas com intervalo de 5 dias (S2 e S2'). Os pontos de coleta foram definidos a partir de animais monitorados em bandos distintos de queixadas. Foi realizada busca ativa durante todo o dia considerando a área provável de encontro obtida através do sinal GPS dos rádio-colares, coletando-se alíquotas de 10 a 20 mL de todas as fezes encontradas.

Cada amostra foi acondicionada em um tubo estéril de 50 mL com sílica gel na proporção de 50%, mantidas em gelo e posteriormente congeladas a  $-6^{\circ}\text{C}$ . Todo o equipamento foi lavado com uma solução de água sanitária comercial a 10%, antes de ser usado e entre as amostragens, para evitar contaminação.

Figura 1- Parque Nacional das Emas com locais de coleta de amostra de fezes.



Fonte: Os Autores, 2021.

### Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

O DNA foi extraído utilizando o kit comercial DNeasy PowerSoil kit (Qiagen), em triplicata por amostra. Os produtos da extração de cada réplica foram unidos em um único pool de DNA por amostra. Para monitorar eventuais contaminações, também foi realizada uma extração de DNA sem amostra (branco da extração). Para a construção da biblioteca de sequenciamento foram utilizados os primers g e h que amplificam a região trnL P6 loop (Robeson et al., 2018), além dos adaptadores do Nextera Index kit® (Illumina), cuja combinação única de index permitiram o reconhecimento de cada uma das amostras após o sequenciamento.

As reações de PCR foram realizadas em triplicatas, sendo monitoradas quanto a possíveis contaminações com a adição de controles positivos e negativos. Os produtos da PCR foram purificados com beads magnéticas (Agencourt AMPure XP® – Beckman Coulter), normalizados e reunidos em um único pool de sequenciamento. O pool foi então, quantificado com o reagente KAPA Biosystems Quantification Kit (illumina) e submetido a sequenciamento de nova geração (NGS) em plataforma illumina iSeq®, utilizando o

kit de sequenciamento iSeq 100 v2 300 ciclos (2x150pb) e 20% de phiX, com média de cobertura de 30.000 paired-end reads por amostra. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados nas dependências da EcoMol Consultoria e Projetos, em Piracicaba - SP.

## Análise das Sequências e Filtragem

Os dados brutos de sequenciamento foram baixados já demultiplexados e as reads foram combinadas em todas as combinações possíveis (forward, complement, reverse e reverse complement). Por meio dos softwares CUTADAPT (Martin, 2011) e DADA2 (Callahan, 2016) foi realizada a filtragem e limpeza das reads geradas (remoção das quimeras e bases indefinidas, remoção das sequências dos primers e demais erros de sequenciamento). O pipeline foi organizado em R (R Core Team, 2020). A partir das sequências remanescentes foram identificadas as sequências únicas presentes nas amostras (ASV - Amplicon sequencing variants), sendo elas submetidas à identificação taxonômica. Usando os pacotes DADA2 e PHYLOSEQ (Mcmurdie & Holmes, 2013), a cada uma das ASV foi atribuída uma contagem relativa à sua frequência na biblioteca. Por meio de um classificador desenvolvido por Wang et al. (2007) foi feita uma classificação baseada na associação entre as sequências geradas e as sequências do banco de referência (NCBI, 2021).

Por apresentar homologia com sequências de muitas espécies, o resultado da análise por bioinformática foi comparado com as informações constantes na plataforma Plants of the World Online (POWO, 2021) para identificar se a distribuição das espécies abrange a região centro-oeste do Brasil e se é endêmica ou introduzida no país. Também foi identificado se as espécies estão presentes no Cerrado e Mato Grosso por meio do site Flora do Brasil (2020).

A Análise de Componente Principal (PCA) foi usada para explorar a constituição da dieta pelos pontos amostrados, reduzindo os dados a um número menor de componentes, explicando a variância total nas variáveis. Para isso foram utilizados os Pacotes vegan (Oksanen et al., 2018) e ggfortify (Tang et al., 2016) no Software R (R Core Team, 2020).

## Resultados

Com o sequenciamento NGS de todas as 16 amostras de fezes (7 coletadas em pontos dentro do PNE e 9 fora) e após o processo de filtragem de sequências, foi obtido

total de 1.041.894 reads, com 223 ASVs referentes a 80 espécies de plantas (25 em nível de gênero) distribuídas em 47 famílias (Tabela 1). Nas amostras de dentro do PNE foram encontradas 51 espécies distribuídas em 36 famílias, enquanto fora do PNE, foram 42 espécies em 28 famílias, sendo que 13 espécies foram encontradas tanto dentro, como fora do Parque.

Tabela 1 – Número de espécies nativas e introduzidas, e frequência relativa por família, identificadas em amostras de fezes de queixadas coletadas dentro e fora do Parque Nacional das Emas por DNA metabarcoding.

	Dentro do PNE		Fora do PNE	
	Espécies nativas	Espécies introduzidas	Espécies nativas	Espécies introduzidas
<i>Acanthaceae</i>	1 (0,16%)	0	0	0
<i>Alstroemeriaceae</i>	1 (0,03%)	0	0	0
<i>Anacardiaceae</i>	1 (0,03%)	0	0	0
<i>Annonaceae</i>	1 (3,61%)	0	2 (3,08%)	0
<i>Apocynaceae</i>	3 (0,44%)	0	1 (0,14%)	0
<i>Arecaceae</i>	1 (1,50%)	1 (43,34%)	0	1 (0,20%)
<i>Aspleniaceae</i>	1 (0,06%)	0	0	0
<i>Asteraceae</i>	0	0	2 (1,20%)	0
<i>Bromeliaceae</i>	1 (0,07%)	0	0	0
<i>Burseraceae</i>	1 (0,37%)	0	0	0
<i>Calophyllaceae</i>	1 (0,78%)	0	1 (0,48%)	0
<i>Chrysobalanaceae</i>	1 (0,05%)	0	0	0
<i>Combretaceae</i>	1 (1,40%)	0	0	0
<i>Commelinaceae</i>	2 (2,97%)	1 (9,46%)	0	1 (13,83%)
<i>Convolvulaceae</i>	1 (2,99%)	1 (17,58%)	0	1 (0,86%)
<i>Cyperaceae</i>	2 (0,28%)	0	0	0
<i>Dilleniaceae</i>	0	0	1 (0,16%)	0
<i>Ebenaceae</i>	1 (0,88%)	0	0	0
<i>Eriocaulaceae</i>	3 (24,59%)	0	0	0
<i>Euphorbiaceae</i>	1 (0,38%)	0	2 (2,37%)	0

<i>Fabaceae</i>	4 (10,68%)	1 (4,23%)	2 (0,40%)	1 (6,21)
<i>Gesneriaceae</i>	1 (0,30%)	0	0	0
<i>Heliconiaceae</i>	1 (0,81%)	0	0	0
<i>Lauraceae</i>	1 (6,66%)	1 (5,88%)	1 (0,87%)	0
<i>Malpighiaceae</i>	0	0	2 (1,32%)	0
<i>Malvaceae</i>	1 (0,07%)	0	0	0
<i>Marantaceae</i>	0	0	1 (0,12%)	0
<i>Melastomataceae</i>	0	0	3 (20,38%)	0
<i>Menispermaceae</i>	1 (0,08%)	0	0	0
<i>Metteniusaceae</i>	1 (2,39%)	0	1 (6,70%)	0
<i>Moraceae</i>	0	0	2 (0,26%)	1 (0,29%)
<i>Myristicaceae</i>	1 (2,80%)	0	1 (0,05%)	0
<i>Myrtaceae</i>	0	0	1 (0,10%)	0
<i>Onagraceae</i>	0	0	1 (12,65%)	0
<i>Piperaceae</i>	1 (30,11%)	0	0	0
<i>Poaceae</i>	1 (0,05%)	2 (19,51%)	2 (25,73%)	5 (78,61%)
<i>Polygonaceae</i>	0	0	1 (8,42%)	0
<i>Pteridaceae</i>	0	0	1 (0,10%)	0
<i>Rosaceae</i>	0	0	1 (0,59%)	0
<i>Rubiaceae</i>	1 (0,30%)	0	0	0
<i>Sapindaceae</i>	0	0	1 (0,07%)	0
<i>Sapotaceae</i>	1 (0,46%)	0	1 (6,15%)	0
<i>Siparunaceae</i>	1 (1,98%)	0	0	0
<i>Smilacaceae</i>	1 (0,51%)	0	0	0
<i>Solanaceae</i>	1 (0,12%)	0	1 (8,70%)	0
<i>Vitaceae</i>	1 (1,96%)	0	0	0
<i>Vochysiaceae</i>	1 (0,12%)	0	0	0
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>7</b>	<b>32</b>	<b>10</b>

Fonte: Os Autores, 2021.

A partir da frequência de reads é possível inferir quais espécies são mais encontradas nas amostras de fezes, indicando quais plantas são mais importantes na dieta dos queixadas. As famílias que apresentaram maior proporção registrada nas amostras do interior do Parque foram Piperaceae, Eriocaulaceae e Fabaceae, e fora da Unidade foram Poaceae, Melastomataceae e Onagraceae (Tabela 1). Além disso, observou-se que amostras de dentro da Unidade possuem 88% dos reads de espécies nativas e 12% de espécies introduzidas, enquanto nas amostras coletadas fora, a proporção foi de 54% e 46%, respectivamente.

Ao comparar a frequência de reads nas amostras (Figura 2), verificou-se que a diversidade de espécies vegetais é maior nas fezes coletadas dentro do Parque (P1 e P2), seguida pela amostra coletada a Leste (E1) e por último naquelas coletadas ao Sul (S1 e S2).

Para cada ponto de coleta, foi encontrada uma constituição alimentar distinta. Para as amostras coletadas a leste da UC, as espécies nativas *Solanum lycocarpum* (17%), *Coccoloba mollis* (16%), *Emmotum nitens* (13%) e *Pouteria* sp (12%), árvores do bioma Cerrado, apresentaram maior frequência. Para as amostras coletadas ao sul da UC, destacaram-se como espécies nativas: *Digitaria ternata* (24%), *Miconia* sp (22%), *Pennisetum polystachion* (*Setaria parviflora*) (19%), *Microlicia* sp (11%) na amostra S1, e *Ludwigia* sp (22%) na amostra S2'. Para dentro do PNE: *Piper arboreum* (33%), *Eriocaulon aquatile* (16%) na amostra P1, e *Hymenaea stigonocarpa* (14%) e *Emmotum nitens* (11%) na amostra P2.

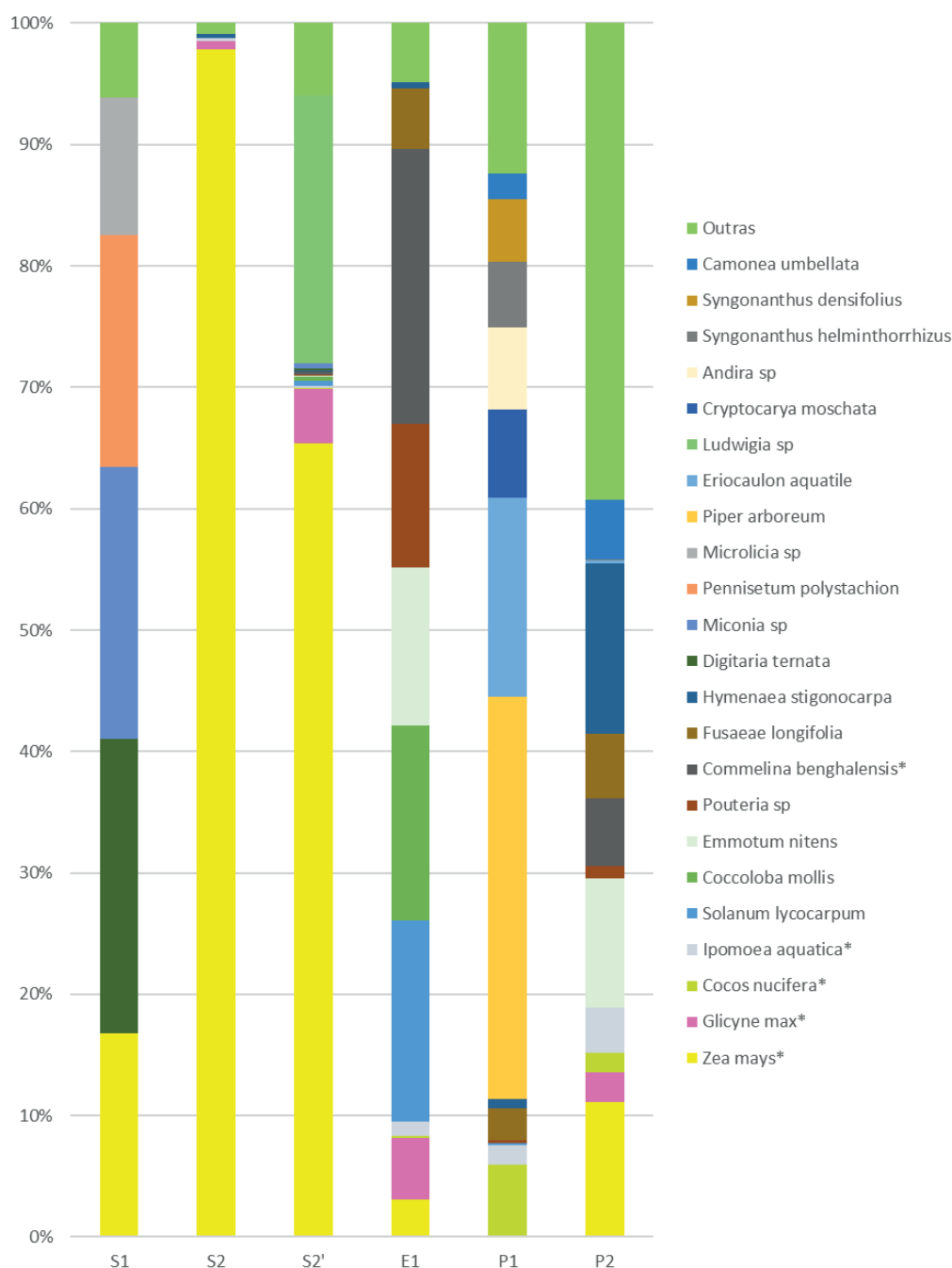
Nas amostras coletadas dentro da UC, foram identificadas 07 espécies exóticas (*Cocos nucifera*, *Commelina benghalensis*, *Glycine max*, *Ipomoea aquatica*, *Persea americana*, *Urochloa arrecta* e *Zea mays*), enquanto nas coletadas fora do Parque Nacional foram 11 espécies exóticas (*Cocos nucifera*, *Commelina benghalensis*, *Echinochloa stagnina*, *Eleusine coracana*, *Glycine max*, *Ipomoea aquatica*, *Morus celtidifolia*, *Mucuna pruriens*, *Saccharum officinarum*, *Urochloa humidicola* e *Zea mays*). Destas espécies, destaca-se em grande proporção *Zea mays*, que foi encontrada nas amostras S1 (17%), S2 (98%), S2' (66%), E1 (3%) e P2 (11%). Além de milho (*Zea mays*), também foram observadas outras espécies cultivadas na região: soja (*Glycine max*), cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) e *brachiaria* (*Urochloa humidicola* e *Urochloa arrecta*). *Commelina benghalensis*, conhecida como trapoeraba, é uma espécie originária do Sudeste Asiático, mas encontra-se amplamente distribuída pelo continente americano como planta infestante, foi encontrada na proporção de 23% nas amostras E1.

Ao analisar a frequência de presença em amostras, a espécie exótica *Zea mays* e a nativa *Hymenaea stigonocarpa* (Jatobá do Cerrado) foram encontradas em 10 das 16

amostras, sendo estas, as plantas mais consumidas pelos queixadas no PNE, nesta época do ano. Outras espécies com frequência acima de 50% foram *Fusaea longifolia* (*Araticum*) e as exóticas *Ipomoea aquatica* e *Cocos nucifera*.

Quanto ao hábito, a maioria das espécies consumidas foram árvores, tanto nas amostras coletadas dentro, como fora do Parque, representando 37% e 51% das espécies encontradas. Os demais hábitos foram em ordem decrescente: ervas (37% e 33%), arbustos (13% e 12%), trepadeiras (10% e 2%) e palmeiras (4% e 2%).

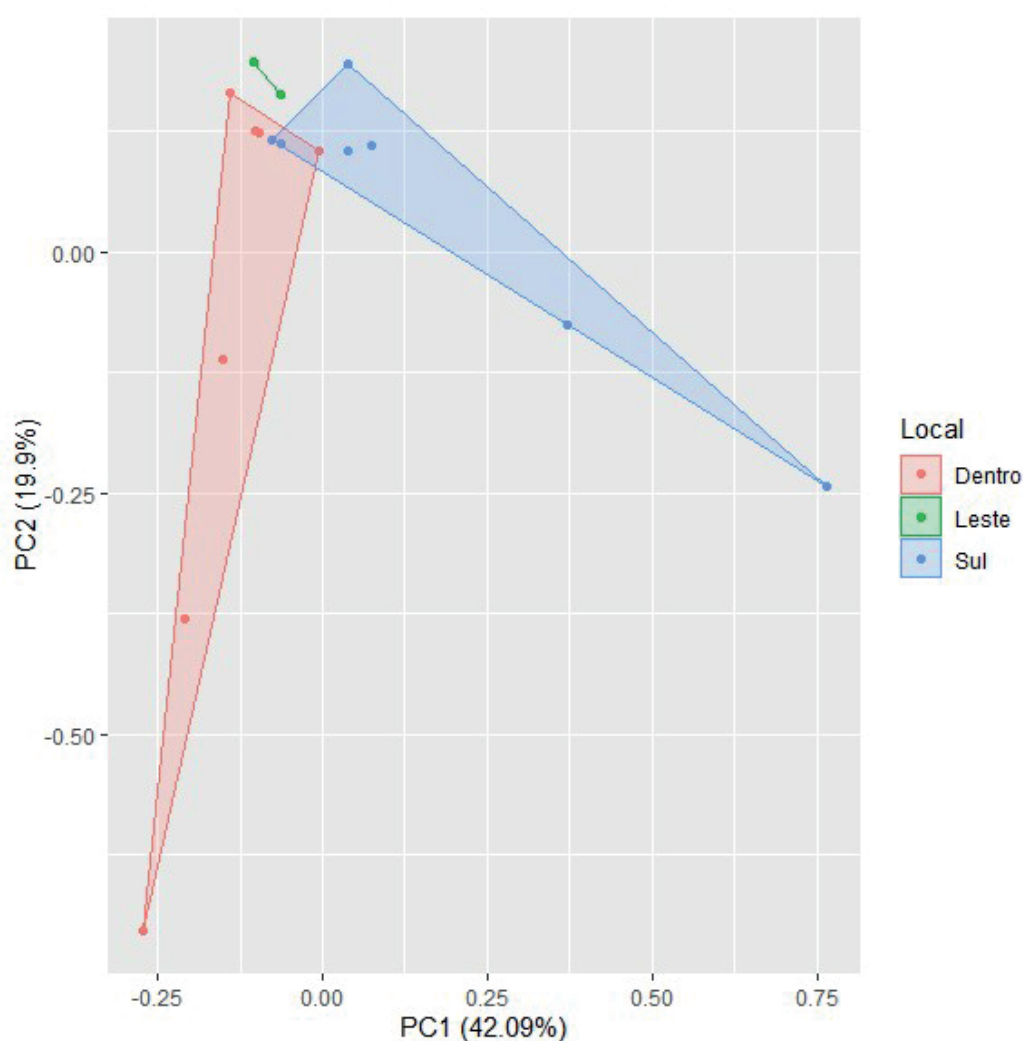
Figura 2 - Frequência relativa média das espécies de plantas encontradas por locais de coleta. \* espécies exóticas



Fonte: Os Autores, 2021.

A análise de Componentes Principais (PCA) do número de reads permitiu comparar a constituição das amostras. O primeiro eixo da PCA (Figura 3) explica 42,09% da variação e o segundo eixo, um adicional de 19,9%. Identificou-se que os dados se agruparam seguindo os locais de coleta, algumas amostras se distinguiram pela presença principal da espécie *Piper arborium* (dentro da UC), enquanto as amostras ao sul, por *Zea mays*. A maior parte das amostras se mantiveram próximas, sugerindo que as proporções de espécies vegetais consumidas foram semelhantes.

Figura 3 - Análise de Componentes Principais (PCA) - Biplot dos componentes PC1 e PC2 de número de reads por espécie vegetal identificada.



Fonte: Os Autores, 2021.

Ao analisar as espécies vegetais encontradas na dieta dos queixadas, foi verificado que *Crotalaria balansae* é uma espécie que se beneficia com a passagem de fogo, aumentando sua abundância, recolonizando áreas queimadas por germinação de sementes (Pillon et al., 2021). Outras 20 espécies são de gêneros ou famílias que pos-

-suem alguma relação positiva com a ocorrência de fogo, são elas: *Ananas nanus*, *Andira sp*, *Byrsonima coccolobifolia*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Cissampelos sp*, *Diospyros sp*, *Echinolaena gracilis*, *Erythroxylum sp*, *Forsteronia leptocarpa*, *Myrcia magnolifolia*, *Rhynchospora emaciata*, *Rhynchospora velutina*, *Ruellia sp*, *Sida cordifolia*, *Smilax sp*, *Solanum lycocarpum*, *Stigmaphyllon sp*, *Syagrus sp* em nível de gênero e *Alchornea sp*, *Alibertia edulis*, *Anadenanthera colubrina*, *Astraea sp*, *Baccharis dracunculifolia*, *Dalbergia villosa*, *Digitaria ternata*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Maprounea sp*, *Mikania sp*, *Pennisetum polystachion* e *Psychotria hoffmannseggiana* em nível de família (Pilon et al. 2020, Fidelis & Zironi, 2021).

## Discussão

A espécie *T. pecari*, é majoritariamente herbívora e alimenta-se de frutas, sementes, brotos, raízes e folhas (Kiltie & Terborgh 1983) e está associada principalmente a florestas, sendo o cerrado menos relevante na composição nutricional da espécie (Desbiez et al., 2010). No PNE, são encontradas fitofisionomias típicas do bioma Cerrado com predominância de fisionomias abertas: campos limpos, campos sujos e campos cerrados, que ocupam 78,5% da área. Formações florestais são pouco representadas (1,2%) e encontradas ao longo dos cursos d'água e áreas úmidas (Ramos-Neto & Pivello, 2000). O PNE é considerado um relicto da distribuição de queixadas no Cerrado e vem sendo ameaçado pela expansão da agricultura desde a década de 80 (Redford, 1985).

Os queixadas distinguem-se dos demais ungulados neotropicais por formarem grandes bandos, atingindo a marca de centenas de animais (Kiltie & Terborgh, 1983). A espécie possui alta mobilidade, percorrendo distâncias maiores em ambientes de baixa cobertura florestal (Jorge et al., 2019) e estima-se que um bando possa caminhar cerca de 10 km em deslocamentos de longa-distância (Jorge et al., 2020). No PNE foram encontrados bandos de 15 a 135 indivíduos e com áreas de vida médias de 86.6 km<sup>2</sup> (Jácomo et al., 2013). Ao considerar o tempo de 96h que o alimento demora para passar pelo trato digestivo de indivíduos da espécie *Tayassu tajacu* (Elston et al., 2005), as amostras utilizadas neste estudo podem ser de locais de alimentação distantes do ponto de coleta, portanto, a constituição da dieta depende do local que o bando se alimentou e não do ponto onde foi coletada a amostra. Como foram encontradas 13 espécies comuns entre os pontos fora e dentro da UC, inclusive *Zea mays*, infere-se que os animais transitam pelo PNE e seu entorno.

Utilizando a técnica de DNA metabarcoding a partir de amostras de fezes foram encontradas 80 espécies vegetais consumidas pela espécie *T. pecari*. Esta técnica vem

sendo utilizada em estudos de dieta de diferentes espécies e mais uma vez mostrou uma melhor resolução do que o estudo baseado em observação direta e análise de conteúdo estomacal, que identificou 16 plantas (Barreto et al., 1997) e com armadilhamento fotográfico (Galetti et al., 2015) que identificou 33 espécies vegetais consumidas por *T. pecari*.

Na composição da dieta dos queixadas, as famílias que se destacaram quanto ao número de espécies nativas foram Fabaceae, Eriocaulaceae, Apocynaceae e Melastomataceae, enquanto Piperaceae e Poaceae apresentaram altos valores de frequência de reads. As famílias Fabaceae e Apocynaceae, são a segunda e a oitava família mais ricas em espécies, de acordo com um levantamento florístico do PNE, realizado entre 1998 e 1999 (Batalha & Martins, 2007), refletindo nos dados encontrados. Já para espécies introduzidas, Poaceae e Arecaceae se destacaram pela frequência de reads, ou seja, pelo consumo em alta proporção, de *Zea mays* (milho) e *Cocos nucifera* (coco) de acordo com os resultados obtidos.

A espécie *T. pecari* é conhecida por se alimentar extensivamente de lavouras, particularmente milho e, em menor grau, soja, sorgo e milheto, todas cultivadas nas proximidades do PNE (Jácomo et al., 2013). Ao investigar os habitats mais utilizados por quatro grupos de queixadas em uma paisagem agrícola na região sul do PNE, Painkow Neto et al. (2019) observaram que os animais selecionaram positivamente lavouras de milho e de cana-de-açúcar para movimentação e uso. Neste estudo encontramos consumo preferencial de milho nas amostras coletadas ao sul da Unidade. Milho também esteve presente nas amostras coletadas a leste e inclusive nas amostras coletadas dentro do Parque. Além do milho, foram encontradas soja (*Glycine max*) e cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), culturas encontradas na região do entorno, e *brachiaria* (*Urochloa humidicola* e *Urochloa arrecta*), que além de ser usada para formação de pastos, está presente dentro do Parque como planta invasora. Outras espécies exóticas encontradas foram coco (*cocos nucifera*) e abacate (*Persea americana*) que são plantas associadas a presença humana devido ao consumo dos seus frutos. Também como espécies introduzidas, foram identificadas *Commelina benghalensis*, conhecida como trapoeraba, considerada uma erva daninha em diversas plantações e *Ipomoea aquatica*, espinafre d'água, macrófita aquática comumente encontrada em corpos d'água podendo sufocar espécies nativas devido ao seu crescimento rápido.

Os resultados demonstram uma maior diversidade de espécies nas coletas realizadas dentro da Unidade de Conservação, inclusive com maior proporção de espécies nativas. Neste estudo, destacaram-se as espécies nativas *Hymenaea stigonocarpa* (Jatobá do Cerrado) e *Fusaea longifolia* (Araticum) por serem encontradas em maior número de amostras e também *Solanum lycocarpum* (Lobeira) *Coccoloba mollis* (Folha-Grande),

*Emmotum nitens* (Casca de Anta), *Pouteria* sp (Abiu), *Digitaria ternata*, *Miconia* sp (Canela de Velho), *Pennisetum polystachion* (*Setaria parviflora*) (Capim Elefante), *Microlicia* sp (Roxinha), *Ludwigia* sp (Cruz de Malta), *Piper arboreum* (Fruto de Morcego) e *Eriocaulon aquatile* pela maior proporção de reads, sendo esses os alimentos encontrados em maior proporção nas amostras de fezes. Galetti et al. (2015), encontrou *Hymenaea stigonocarpa* e espécies de *Pouteria* e *Miconia* como alimentos de queixadas no Pantanal, corroborando nossos resultados.

Os queixadas são classificados como frugívoros, acima de 50% da dieta é composta de frutos, mas também se alimentam de folhas, sementes, raízes e pequenos animais (Desbiez et al. 2009, Keuroghlian et al., 2010). Neste estudo a maioria das espécies identificadas são árvores, arbustos e palmeiras (55%) que podem fornecer frutos e sementes, mas também foram encontradas ervas e trepadeiras (45%), que podem fornecer folhas e raízes como alimento.

Muitas plantas do Cerrado possuem uma resposta positiva a passagem do fogo, podendo florescer e produzir mais frutos e sementes, outras estratégias de espécies adaptadas são a rebrota da porção aérea e rápido crescimento vegetativo (Pilon et al., 2020). Todas essas respostas podem ser vantajosas para o aumento da disponibilidade de recursos alimentares. Das espécies vegetais identificadas na dieta de queixadas, a *Crotalaria balansae* e mais 20 espécies possuem alguma indicação de favorecimento pelo fogo (Pilon et al. 2020, Fidelis & Zironi, 2021), seja em nível de gênero ou de família. Este resultado sugere que utilizar queimas prescritas na época correta objetivando prevenir incêndios, pode também aumentar a heterogeneidade ambiental, podendo ser uma estratégia para aumentar a disponibilidade de alimentos para os queixadas no interior do Parque. Isso poderia reduzir os impactos econômicos à agricultura, bem como os conflitos entre o setor produtivo e a área protegida, além de melhorar o status de conservação da espécie.

Recomenda-se pesquisas para avaliar a relação entre as espécies nativas consumidas pelos queixadas e o fogo durante regimes de fogo distintos, considerando-se queima prescrita, fogo de raio, aceiros com fogo e incêndio, bem como em épocas diferentes do ano, considerando-se a fase fenológica das espécies alvo.

#### Agradecimento

Este estudo contou com apoio financeiro do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD Brasil). Agradecemos à equipe da Tropical Sustainability Institute (TSI) por viabilizar a realização das coletas de amostras.

## Referências Bibliográficas

- Altrichter, M., Taber, A., Beck, H., Reyna-Hurtado, R., Lizarraga, L., Keuroghlian, A., & Sanderson, E. W. (2012). Range-wide declines of a key Neotropical ecosystem architect, the Near Threatened white-lipped peccary *Tayassu pecari*. *Oryx*, 46(1), 87–98
- Aranda, M. (1994). Importancia de los pecaríes (*Tayassu* sp) en la alimentación del jaguar (*Panthera onca*). *Acta Zoológica Mexicana*, 62, 11-22
- Barreto, G., Hernandez, O., & Ojasti, J. (1997). Diet of peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*) in a dry forest of Venezuela. *Journal of Zoology*, 241, 279-284
- Batalha, M. A., & Martins, F. R. (2007). The Vascular Flora of the Cerrado in Emas National Park (Central Brazil): a Savanna Flora Summarized. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(2), 269-277
- Bradley B. J., Stiller M., Doran-Sheehy D. M., Harris T., Chapman C. A., Vigilant L., & Poinar H. (2007). Plant DNA sequences from feces: potential means for assessing diets of wild primates. *American Journal of Primatology*, 69(6), 699-705
- Callahan, B.J., Mccurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J., & Holmes, S.P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583
- Desbiez, A. L. J., Bodmer, R. E., & Tomas, W. M. (2010). Mammalian densities in a Neotropical wetland subject to extreme climatic events. *Biotropica*, 42(3), 372–378
- Desbiez, A. L. J., Santos, S., Keuroghlian, A., & Bodmer, R. (2009). Niche Partitioning Among White-Lipped Peccaries (*Tayassu pecari*), Collared Peccaries (*Pecari tajacu*), and Feral Pigs (*Sus Scrofa*). *Journal of Mammalogy* 90, 119-128
- Elston, J. J., Klinksiek, E. A., & Hewitt, D. G. (2005). Digestive Efficiency of Collared Peccaries and Wild Pigs. *The Southwestern Naturalist*, 50(4), 515–519
- Evans, D.M., Kitson, J.J.N., Lunt, D.H., Straw, N.A., & Pocock, M.J.O. (2016). Merging DNA metabarcoding and ecological network analysis to understand and build resilient terrestrial ecosystems. *Functional Ecology*, 30, 1904-1916
- Fidelis, A., Zirondi, H.L. 2021. And after fire, the Cerrado flowers: A review of post-fire flowering in a tropical savanna. *Flora*, 280, 151849
- Flora do Brasil 2020. (2022) Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>
- Galetti, M., Camargo, H., Siqueira, T., Keuroghlian, A., Donatti, C., Luisa, M., Jorge, M. L. Pedrosa, F., Kanda, C. Z., & Ribeiro M.C. (2015) Diet Overlap and Foraging Activity between Feral Pigs and Native Peccaries in the Pantanal. *Plos One*, 10(11), e0141459
- Garshelis, D., Baruch-Mordo, S., Bryant, A., Gunther, K., & Jerina, K. (2017). Is diversionary feeding an effective tool for reducing human–bear conflicts? Case studies from North America and Europe. *Ursus*, 28, 31-55
- Hollingsworth, P.M., Graham, S.W., & Little, D.P. (2011) Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *Plos One*, 6(5), e19254
- IBAMA/MMA. (2021) Plano de Manejo do Parque Nacional das Emas. [https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/parna\\_emas.pdf](https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/parna_emas.pdf).

Jácomo, A., Furtado, M., Kashivakura, C., Marinho-Filho, J., Sollmann, R., Torres, N., & Silveira, L. (2013). White-lipped peccary home-range size in a protected area and farmland in the central Brazilian grasslands. *Journal of Mammalogy*, 94, 137-145

Jorge, M.L.S.P., Keuroghlian, A., Bradham, J., Oshima, J.E.F., Ribeiro, M.C. (2019). White-Lipped Peccary Movement and Range in Agricultural Lands of Central Brazil. In: Reyna-Hurtado, R., Chapman, C. (eds) *Movement Ecology of Neotropical Forest Mammals*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-03463-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-03463-4_4)

Jorge, MLSP, Bradham, JL, Keuroghlian, A, Oshima, JEF, Ribeiro, MC. (2021) Permeability of Neotropical agricultural lands to a key native ungulate—Are well-connected forests important?. *Biotropica*. 53: 201 – 212

Keuroghlian, A., Desbiez, A., Reyna-Hurtado, R., Altrichter, M., Beck, H., Taber, A., & Fragoso, J.M., (2022 apr 18) *Tayassu pecari*. The IUCN Red List of Threatened Species <https://www.iucnredlist.org/species/41778/44051115>

Keuroghlian, A., Léonard, A., Desbiez, J., De Mello Beisiegel, B., Medici, E. P., Gatti, A., Rossano, A., Pontes, M., Bueno De Campos, C., Farah De Tófoli, C., Amorim, E., Junior, M., Cavalcanti De Azevedo, F., Medeiros De Pinho, G., Luís, J., Cordeiro, P., Da, T., Santos Júnior, S., Aparecida De Moraes, A., Mangini, P. R., Flesher, K., Rodrigues, L. F., Bonjorne De Almeida, L., Barber, R. E (2022 apr 5). Avaliação do Risco de Extinção do Queixada *Tayassu pecari* Link, 1795, no Brasil. Ano II, 1, 3–11, 2012. [http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/biodiversidade/fauna-brasileira/avaliacao-do-risco/ungulados/Tayassu\\_pecari\\_queixada.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/biodiversidade/fauna-brasileira/avaliacao-do-risco/ungulados/Tayassu_pecari_queixada.pdf)

Kiltie, R.A., & Terborgh, J. (1983). Observation on the behavior of Rain Forest peccaries in Peru: why do White-lipped peccaries form heds? *Zeitschrift fur Tierpsychologie*, 62, 241-255

Klink, C. A., & Machado, R.B. (2005). Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology* 19, 707–713

Lima, M., Augusto, C.A., Ilan, M.I., Junior, C.A.S., Costa, G.M., & Santos, R.C. (2019) The paradoxical situation of the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) in the state of Mato Grosso, Brazil. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 17, 36–39

Mallott, E. Garber P.A., & Malhi R.S. (2018). trnL outperforms rbcL as a DNA metabarcoding marker when compared with the observed plant component of the diet of wild white-faced capuchins (*Cebus capucinus*, Primates). *Plos One*, 13(6), e0199556

Maravalhas, J., & Vasconcelos, H.L. (2014). Revisiting the pyrodiversity-biodiversity hypothesis: long-term fire regimes and the structure of ant communities in a Neotropical savanna hotspot. *Journal of Applied Ecology*, 51, 1661 – 1668

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet Journal*, 17(1), 10–12

Massei, G., Roy, S., & Bunting, R. (2011). Too many hogs? A review of methods to mitigate impact by wild boar and feral hogs. *Human-Wildlife Interactions*, 5(1), 79–99

Mcmurdie, P.J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *Plos One*, 8(4), e61217

NCBI, National Center for Biotechnology Information (2021) GenBank® Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P.R., O'hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2018). *vegan: Community Ecology Package*. Disponível em <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Paviolo, A., De Angelo, C., Di Blanco, Y., Ferrari, C., Di Bitetti, M., Kasper, C.B., Mazim, F.D., Soares, J.B.G., & Oliveira T.G. (2006) The Need of Transboundary Efforts to Preserve the Southernmost Jaguar Population in the World. *Cat News*, 45, 12-14

Pilon, N.A.L., Hoffmann, W.A., Abreu, R.C.R., & Duringan, G. (2018) Quantifying the short-term flowering after fire in some plant communities of a cerrado grassland. *Plant Ecology & Diversity*, 11(3), 259-266

Pilon, N.A.L., Cava, M.G.B., Hoffmann, W.A., Abreu, R.C.R., Fidelis, A., & Durigan, G. (2021) The diversity of post-fire regeneration strategies in the cerrado ground layer. *Journal of Ecology*, 109(1), 154-166  
Pivello, R. (2011). The use of fire in the Cerrado and Amazonian Rainforest of Brazil: Past and Present. *Fire Ecology* 7(1), 24-39

Painkow Neto, E. *Uso e Seleção de Hábitats por Queixadas (Tayassu pecari) em Paisagem Agrícola na Região Sul do Parque Nacional Das Emas*. 2019. 16p Dissertação (Mestrado Profissional em Conservação da Biodiversidade e Desenvolvimento Sustentável) - Instituto de Pesquisas Ecológicas, Nazaré Paulista, 2019.

Pompanon F., Coissac E., & Taberlet P. (2011). Metabarcoding, a new way to analyze biodiversity. *Biofuture*, 319, 30-32

Pompanon F., Deagle B.E., Symondson W.O.C., Brown D.S., Jarman S.N., & Taberlet P. (2012). Who is eating what: Diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, 21(8), 1931–1950

POWO, Plants of the World Online. (2021) Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

Ramos-Neto, M. B., & Pivello, R. (2000). Lightning Fires in a Brazilian Savanna National Park: Rethinking Management Strategies. *Environmental Management*, 26(6), 675–684

Redford, K. H. (1985). Emas National Park and the plight of the Brazilian cerrados. *Oryx*, 9(4), 210–214

Riaz T., Shehzad W., Viari A., Pompanon F., Taberlet P., & Coissac E. (2011) EcoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, 39(21), e145

Robeson, M., Khanipov, K., Golovko, G., Wisely, S., White, M., Bodenchuck, M., Smyser, T., Fofanov, Y., Fierer, N., & Piaggio, A. Assessing the utility of metabarcoding for diet analyses of the omnivorous wild pig (*Sus scrofa*). *Ecology and Evolution*, 8(1), 185-196.

- Taber, A., Chalukian, S., Altrichter, M., Minkowski, K., Lizarraga, L., Sanderson, E., Rumiz, D., Edsel, A., Angelo, C., Antunez, M., Ayala, G., Beck, H., Bodmer, R., Salvador, B., Cartes, J., De Bustos, S., Eaton, D., Emmons, L., Estrada, N., & Zapata-Ríos, G. El Destino de los Arquitectos de los Bosques Neotropicales: Evaluacion de la Distribucion y el Estado de Conservacion de los Pecaries Labiados y los Tapires de Tierras Bajas. Pigs, Peccaries and Hippos Specialist Group (IUCN/SSC), Tapir Specialist Group (IUCN/SSC), Wildlife Conservation Society, and Wildlife Trust. 2008
- Poinar, H.N., Hofreiter, M., Spaulding, W.G., Martin, P.S., Stankiewicz, B.A., Bland, H., Evershed, R.P., Possnert, G., & Pääbo S. (1998). Molecular coproscopy: dung and diet of the extinct ground sloth *Nothrotheriops shastensis*. *Science*, 281 (5375), 402-406
- Soininen, E., Valentini, A., Coissac, É., Miquel, C., Gielly, L., Brochmann, C., Brysting, A., Sønstebø, J. H., Ims, R., Yoccoz, N., & Taberlet, P. (2009). Analyzing diet of small herbivores: The efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures. *Frontiers in Zoology*. 6, 16
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermat, T., Corthier, G., Brochmann, C., & Willerslev, E. (2007). Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*, 35(3), e14
- Tang Y, Horikoshi M, & Li W. (2016). ggfortify: Unified Interface to Visualize Statistical Result of Popular R Packages. *The R Journal*, 8(2), 474–485
- Valentini, A., Pompanon F., & Taberlet, P. (2008). DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(2), 110-117
- Valentini, A., Miquel, C., Nawaz, M.A., Bellemain, E., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Cruaud, C., Nascetti, G., Wincker, P., Swenson, J.E., & Taberlet, P. (2009). New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 51-60
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., & Cole, J.R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied Environmental Microbiology*, 73(16), 5261-7526