INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA -INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA EVOLUTIVA

Conhecer para conservar: *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), da genética de populações à seleção do habitat

Gabriel Augusto Leite

Manaus, Amazonas
Dezembro, 2017

Gabriel Augusto Leite

Conhecer para conservar: *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), da genética de populações à seleção do habitat

Orientadora: Dra. Izeni Pires Farias

Coorientador: Dr. Carlos Augusto Peres

Tese apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

Manaus, Amazonas

Dezembro, 2017

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PPG GCBEv
GENÉTICA, CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA EVOLUTIVA

INPA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

BRASIL
GOVERNO FEDERAL

ATA DA DEFESA PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, CONSERVAÇÃO E BIOLOGIA EVOLUTIVA

No dia 1º de Dezembro de 2017, às 08:30 horas, na Sala de aulas do PPG GCBEV, Campus II-INPA, reuniu-se a Banca Julgadora da **DEFESA PÚBLICA de DOUTORADO**, composta pelos seguintes Doutores(as), membros titulares: Renato Cintra Soares, Mário Éric Cohn-Haft , Igor Luís Kaefer, Luíza Magalli Pinto Henriques e Marina Anciães; tendo como membros suplentes: Cintia Cornélius Frische e Jacqueline da Silva Batista, afim de proceder a arguição pública da **TESE** do estudante **GABRIEL AUGUSTO LEITE**, intitulada: **"Conhecer para conservar: *Crax globulosa (Aves: Cracidae), da genética de populações a seleção de habitat".*** O estudo foi conduzido sob a orientação da Dra. Izeni Pires Farias, da UFAM e coorientação do Dr. Carlos Augusto Peres.

Após a exposição da aula, dentro do tempo regulamentar, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Banca Julgadora, tendo recebido o conceito final:

☒ Aprovado por unanimidade	☐ Reprovado
☐ Aprovado por maioria	
Menção (se meritório):	
☐ Aprovado com "Distinção" (por maioria)	
☐ Aprovado com "Distinção e Louvor" (por unanimidade)	

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INPA GCBEv

Foi lavrada a ata e assinada pelos membros presentes da Banca Julgadora.

Renato Cintra Soares – INPA

Mário Éric Cohn-Haft - INPA

Igor Luís Kaefer – UFAM

Luíza Magalli Pinto Henriques – INPA

Marina Anciães – INPA

Dra. Gislene Almeida Carvalho-Zilse
Coordenadora do PPG GCBEv/INPA
PO. 041/2017 – INPA/MCTIC-PR

Esta Ata não tem efeito de conclusão de curso ou diplomação do estudante. Conforme Regulamento PPG GCBEv Art. 62 "Será conferido ao discente o título de MESTRE ou DOUTOR em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, desde que cumpridas às exigências das Agências de Fomento, dos regulamentos do PPG-INPA e do PPG GCBEv. Para obtenção do titulo, o estudante deve cumprir, ainda, o exigido nos Arts. 52 ao 55 do Regulamento Geral do INPA e Arts. 61 e 64 do Regulamento PPG GCBEv.

L 533 Leite , Gabriel Augusto

Conhecer para conservar: Crax globulosa (Aves:Cracidae), da genética de populações à seleção do habitat / Gabriel Augusto Leite . --- Manaus: [s.n.], 2017.
118 f.: il.

Tese (Doutorado) --- INPA, Manaus, 2017.
Orientador: Izeni Pires Farias
Coorientador: Carlos Peres
Área de concentração: Genética, Conservação e Biologia evolutiva

1- Mutum-piurí . 2. Crax globulosa . 3. Genética de populações . I. Título.

CDD 598.6

Sinopse:
Foram verificadas a estrutura e diversidade genética de populações de *Crax globulosa*, estimada a área de vida e seleção do habitat, além do estudo da biologia reprodutiva da espécie e elaboradas estratégias para sua conservação.

Palavras-chave: Conservação, diversidade genética, área de vida, duplo risco, reprodução

Dedicatória

Dedico esse trabalho as pessoas que me acolheram durante minha estadia na comunidade Monte Carmelo, uma experiência de vida bem maior que o campo em si.

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Izeni Pires Farias e seu marido Tomas, por abrir as portas do LEGAL, por aceitar me orientar mesmo não me conhecendo pessoalmente. Por garantir todas as condições para realização do meu projeto, por permitir minhas convicções e escolhas, pela animação que o trabalho irá dar certo. Obrigado pelo exemplo de compromisso e responsabilidade na formação de pessoas.

Ao meu co-orientador, Dr. Carlos Peres, que foi o primeiro a aceitar a me orientar nesse trabalho. Pela oportunidade de me fazer conhecer lugares remotos na Amazônia. Agradeço pelas contribuições científicas sempre muito pertinentes ao meu trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Evolução e Genética Animal da UFAM (LEGAL), Vitor, Priscila, Fabinho, Alexandre, Igor, Israela, Mario, Enzio, Rodrigo, pela sadia convivência diária durante as analaises, pelas contribuições e discussões, e pela ajuda na bancada, sempre muito importantes.

A minha amiga Sandra por me ajudar em muito na bancada durante as analyses geneticas, pela paciencia em me explicar pequenos detalhes de todo o processo.

As minhas amigas queridas que moram comigo, Mariana, Romina, Luisa, pelos anos de convivencia, paciencia, conversas, cervejas, conselhos, vocês são minha família.

A minha namorada Érika, pelo apoio, carinho nessa reta final do Doutorado. Por tentar me acalmar nos momentos de mais ansiedade e entender as minhas viagens a campo, na maioria das vezes longos dias.

A comunidade Monte Carmelo onde passei mais de um ano morando para coleta dos meus dados. Em especial ao meu ajudante de campo e amigo Delcimar “Bombom”. Que me ajudou nas coletas e me ensinou muitas coisas sobre a floresta. .

Aos meus amigos de longa data Zé e Guiliu e meu melhor amigo Rafael, que sempre me incentivaram para seguir esse rumo, pela curiosidade pelas coisas que eu fazia e pelas ótimas lembranças durante as conversas tomando uma gelada.

Aos meus pais, seu Luiz e dona Fátima, por sempre rezarem por mim e meu trabalho, por me fornecerema o bem mais precioso que podiam me dar a educação, embora as vezes as condições não eram sempre boas, nunca deixaram faltar nada.

À sociedade brasileira, que com seus tributos financiou minha formação principalmente no mestrado e doutorado.

Obrigado a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para e minha formação.

Epígrafe

"Escolhe um trabalho de que gostes, e não terás
que trabalhar nem um dia na tua vida."
Confúcio

Resumo

O planeta está passando por um novo processo de extinção em massa, mas diferente das anteriores, o principal responsável é o homem. Muitas espécies foram extintas sem ao menos conhecermos um pouco da sua história natural. O mutum-piurí (*Crax globulosa*) pertence a família Cracidae, uma das mais ameaçadas do Neotrópico com poucos estudos na área de genética e/ou ecologia. A espécie está ameaçada de extinção, com a caça, perda do habitat e baixa densidade populacional sendo os principais responsáveis. Nesse trabalho realizamos estudos avaliando a diversidade genética, estrutura populacional, tamanho efetivo populacional de cinco populações (quatro no Brasil e uma no Peru), com genes mitocondriais *ND2* e *ND5* e marcadores nucleares *SNPs*. Verificamos o tamanho da área de vida e seleção de habitat utilizando a técnica de telemetria VHF e pesquisamos a biologia reprodutiva da espécie no médio rio Juruá. O objetivo foi analisar se a espécie passa por uma redução na sua variabilidade genética, se as diferentes populações podem ser tratadas de forma distinta em futuras estratégias de manejo e se a escolha por determinado habitat aumenta o risco de extinção da espécie. Os resultados dos genes mitocondriais mostram que as populações possuem uma alta diversidade haplotípica, com três principais grupos biológicos, que a população do Peru não compartilha haplóticos com as populações do Brasil e que o índice *Fst* mostrou uma alta estruturação populacional. Os marcadores nucleares também mostraram uma diversidade genética média e as populações mostraram possuir seis grupos biológicos. O tamanho médio da área de vida foi de 283 ha, com uma seleção por habitats próximos a água e que alagam pelo menos de 6-8 meses ao ano, permanecendo sempre em floresta de várzea. A espécie se reproduz na época da seca (julho-setembro), construindo ninhos próximos a água. Devido a sua seleção por habitats próximo a corpos d'água na floresta de várzea, a espécie corre uma dupla ameaça, pois esses locais são os primeiros a serem desmatados e a espécie fica mais susceptível a caça, pelo fato desses locais serem muito utilizados pelos ribeirinhos. Uma das alternativas para a diminuição dessas ameaças é a criação de reservas de proteção integral na área de distribuição de *Crax globulosa*, além da educação ambiental, com objetivo de mostrar a população local a importância da espécie para o meio ambiente e para o homem. No que diz respeito ao manejo genético, é recomendado tratar as populações principalmente do Brasil e Peru de maneira distinta, pois apresentaram uma estruturação genética alta e não compartilhamento de haplótipos.

Abstract

To know is to conserve: *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), from population genetics to habitat selection

The planet is currently undergoing a new period of mass extinction, which differs from all previous events. This time the main culprit is man, with many species becoming extinct without even having been named and with little knowledge of their natural history. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) belongs to the Cracidae, one of the most endangered bird families of the Neotropics, with few genetic or ecological studies, particularly in Brazil. The species is Endangered, with hunting, habitat loss and low population density largely responsible for this status. This thesis describes studies that evaluated the genetic diversity, population structure, and effective population size of five populations of Wattled Curassow (four in Brazil and one in Peru), using mitochondrial genes (*ND2* and *ND5*) and nuclear markers (*SNPs*). For the population along the mid-Juruá river, home range size and habitat selection were verified using VHF telemetry, and the reproductive biology of the species was also investigated. The aim was to analyze whether Wattled Curassow is undergoing a reduction in its genetic variability, if the different populations can be treated as a single unit for future management strategies, and if habitat preferences may pose a particular conservation risk. Results from the mitochondrial genes show that populations have a high haplotype diversity, with three main biological groups; the Peruvian population does not share haplotics with populations in Brazil and the *Fst* index showed high population structure. Nuclear markers showed low genetic diversity, but populations showed to have six biological groups. The average home range area was 283 ha, with habitat preference for areas close to permanent water bodies and lowland forest that is seasonally flooded for at least five to eight months a year. Wattled Curassow reproduces in the dry season (July-September), when they build nests near to the water. Due to this selection of lowland forest habitats near to permanent water bodies, Wattled Curassow is placed in a clear case of double jeopardy since these sites are typically the most at risk to deforestation and the most susceptible to hunting pressure, since the banks of rivers, streams and lakes are heavily used by local people. Recommendations from this thesis include iniatives to reduce hunting pressure and habitat loss within the range of Wattled Curassow, such as adequate protection of preferred habitat and environmental education

to demonstrate their ecological importance. The high level of genetic structuring and lack of haplotype sharing also indicate that the genetic management of populations from Brazil and Peru should be conducted separately.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....**XII**

LISTA DE TABELAS .....**XIV**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES.....**XVI**

INTRODUÇÃO GERAL.....**1**

OBJETIVO GERAL.....**9**
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....**9**

Capítulo I – Artigo: Reproductive biology of the endangered wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia..... .....**10**

Capítulo II – Artigo: Coarse- and fine-scale patterns of distribution and habitat selection places an Amazonian floodplain curassow in double jeopardy……..…….**25**

Capítulo III – Artigo: Variabilidade e estruturação genética em populações de *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), utilizando marcadores mitocondriais e *SNPs*.....**50**

SÍNTESE.....**95**

REFERÊNCIAS GERAIS.....**96**

APÊNDICE A - Diet of the wattled curassow (*Crax globulosa*) on the Juruá river, Brazilian Amazon. Artigo submetido Journal Wilson Ornithology.....**101**

ANEXO A - Licença SISBIO.....**116**

Lista de Figuras

Introdução Geral

Figura 1. Macho de *Crax globulosa*. Fonte: WorldBird.net

Figura 2. Distribuição de *Crax globulosa* na região Amazônica. As localidades indicadas por polígonos vermelhos são locais onde a espécie existia; as demais localidades em verde são locais de registros conhecidos para as populações ainda existentes. Fonte: IUCN (2017).

Capítulo 1

Figure 1. Main places where *Crax globulosa* nests (bullets) were found in tributaries of the Jurua River. Flooded environments (várzea and paleo floodplains) are near the river and other tributaries, while *terra firme* farther and lighter.

Figure 2. Nest #2 built in the fork, with two eggs

Figure 3. Nest #5 built in *Aechemea sp*. post-predation.

Figure 4. Chick of *Crax globulosa,* approximately 10 days old, on 3 September 2016 in Macaco.

Capítulo 2

Figure 1. Study area in the Middle Juruá region of western Brazilian Amazonia, showing the forest and non-forest floodplain categories distinguished on the basis of ALOS ScanSAR images. Black-white line represents the 100% Minimum Convex Polygon (MCP) for the three monitored individuals of *Crax globulosa* across the study landscape.

Figure 2. Home range size of the three monitored individuals of *Crax globulosa* in the study area, using the estimator **(A)** Minimum Convex Polygon (95% MCP), **(B)** Fixed Kernel (95% FK), **(C)** Brownian Bridge Movement Model (BBMM 95%), **(D)** Adaptive Local Convex Hull (aLoCoH 95%) and **(E)** locations of all individuals.

Figure 3. Density plot showing the distribution of records during the dry (black) and wet (grey) seasons for the monitored individuals of *Crax globulosa*, in relation to linear distances (m) to the nearest open waterbody.

Capítulo 3

Figura 1. Localização das cinco áreas de amostragem de *Crax globulosa* na região amazônica brasileira e peruana.

Figura 2. Gráficos gerados no programa BAPS que mostra o número de grupos biológicos para *C. globulosa* baseado nas sequências de *mtDNA*. Cada barra corresponde a um indivíduo e a sua cor representa o grupo ao qual pertence. São determinados três grupos: azul, vermelho e verde.

Figura 3. Rede de haplótipos baseada nas sequências de *mtDNA*, que mostra as relações genealógicas entre os indivíduos, gerada no programa HaploViewer. Cada círculo representa um haplótipo e os números indicam quantos indivíduos possuem esse haplótipo. Os haplótipos H1 e H2 foram os haplótipos mais frequentes. Os nós representam haplótipos provavelmente não amostrados.

Figura 4. Estrutura populacional determinada no programa *Structure* mediante inferência Bayesiana. Foram analisados 862 *SNPs* de 18 indivíduos de 4 localidades. A maior probabilidade posterior está associada com seis grupos biológicos. a) Gráfico individual; cada barra vertical representa um indivíduo; b) gráfico populacional.

Figura S1. Padrão multimodal foi identificado no *mismatch distribuition* da população do Pe, mostrando estabilidade histórica da população.

Figura S2. O gráfico de *mismatch distribuition* para as populações brasileiras mostra um padrão unimodal o que indica um cenário de expansão populacional recente.

Figura S3. Fluxo gênico bidirecional contemporâneo utilizando os marcadores *SNPs,* nas quatro populações de *Crax globulosa*. A grossura das setas indica a intensidade de migrantes.

Lista de Tabelas

Introdução Geral

Tabela 1. Espécies da família Cracidae ameaçadas de extinção no Brasil, segundo IUCN (2017) e MMA (2014). Pesquisas publicadas com as espécies em: Gen. Pop. = Genética de Populações, Est. Pop. =Estimativa populacional, Bio. Rep.= Biologia Reprodutiva, Área vida/Sel Hab= Área de vida ou seleção do habitat. B= Brasil, F= Fora do Brasil. N/O= Não ocorre fora do Brasil. X=Presente tese.

Capítulo 1

Table 1. Villages interviewed about *Crax globulosa* reproduction, with interviewees' age, sex, and time living in the community.

Table 2. Data for *C. globulosa* nests in the Juruá River Basin, Amazonas, Brazil. The first date is the day the nest was found; the second date is when it was predated or abandoned (nest #3 was not tracked). Ground = height from the ground (m), water = distance to water (m), DBH = diameter at breast height, SD = standard deviation.

Capítulo 2

Table 1. Detail of radio-tracking effort (number of locations recorded) from three Wattled Curassows (*Crax globulosa*) across the dry and wet seasons in the Médio Juruá region, Amazonas, Brazil, with the dates of capture/fitting and the last day of monitoring.

Table 2. Home range size estimates (mean ± SD) for Wattled Curassow (*Crax globulosa*) across the dry and wet seasons in the Médio Juruá region, Amazonas, Brazil.

Table 3. Bonferroni Confidence intervals for habitat selection by Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the Médio Juruá region, Amazonas, Brazil, showing the number of observed and expected locations (N) and proportional use (%) for each habitat type. Symbols represent the degree of habitat selection; (+): used more than expected, (-) used less than expected, (o) used as expected by chance.

Table 4. Comparison of Currasow studies showing sample effort, home range estimators used, home range size, and habitat use.

Table S1. Summary of IUCN Red List status for all Cracidae genera, with all curassows

in bold. EW = Extinct in the wild, CR = Critically Endangered, EN = Endangered, VU = Vulnerable, NT = Near Threatened, LC = Least Concern

Capítulo 3

Tabela 1. Número (*N*) de amostras de *Crax globulosa* utilizadas por localidades para as análises genéticas.

Tabela 2. Índices de diversidade genética e teste de neutralidade das populações de *C. globulosa*. *N* = número de indivíduos por localidade; Nh = número de haplótipos; *S* = número de sítios segregantes (polimórficos); $\hat{H}$, diversidade haplotípica de Nei; π, diversidade nucleotídica de Nei; Tamanho efetivo populacional de fêmeas (*Nef*) derivado de theta (θ); *D* (p), teste *D* de Tajima com valor de p (α = 0.05); teste *Fs* de Fu com valor de p (α = 0.05). *****Valores significativos em um nível de p<0.05.

Tabela 3. Estimativas indiretas do fluxo gênico (*Nm*; acima da diagonal) de diferenciação genética (*Fst*; abaixo da diagonal Φ_{ST}) nas comparações par a par entre as populações d*e Crax globulos*a a partir dos dados mitocondriais (*ND2* e *ND5*).

Tabela 4. MIGRATE-N estimativa de fluxo gênico entre populações par a par de *Crax globulosa.*

Tabela 5. Matriz dos valores de *Fst* nas comparações par a par entre as populações de *C. globulosa* a partir dos dados genômicos (*SNPs).*

Tabela 6. Coeficiente de endogamia (*Fis*); Tamanho efetivo populacional (*Nm*); Heterozigosidade observada (*Ho*) e; Heterozigosidade esperada (*He*) para as populações de *Crax globulosa*, utilizando marcadores *SNPs*.

Tabela 7. divMigrate-online estimativa de taxa relativa de *Nm* entre populações par a par de *Crax globulosa* utilizando marcadores *SNPs*.

Lista de Siglas e Abreviações

IUCN – União Internacional para Conservação da Natureza

IBAMA – Institudo Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recurso Naturais Renováveis

MMA – Ministério do Meio Ambiente

RDS – Reserva de Desenvolvimento Sustentável

Introdução Geral

Nos últimos 500 anos os seres humanos desencadearam uma onda de extinção, ameaça e declínio de populações locais, comparáveis em magnitude com as cinco anteriores extinções em massa da história da Terra (Barnosky *et al.,* 2011). Semelhante aos outros eventos de extinção, os efeitos da "Sexta extinção" se estendem à diferentes grupos taxonômicos, com alguns grupos e regiões particularmente afetados (e.g., espécies que habitam apenas ilhas) (Cardillo *et al.,* 2008).

O processo de redução das populações e extinção, conhecido como "Defaunação do Antropoceno", afetou e está afetando populações de animais de todo o planeta (Dirzo *et al.,* 2014). Estima-se que mais de 300 espécies de vertebrados terrestres tenham sido extintas desde o ano 1500, e que as populações restantes mostram em média 25% de declínio na sua abundância (Dirzo *et al.,* 2014). Dentre as aves, cerca de 150 espécies foram extintas e centenas de espécies passaram a estar à beira da extinção (BirdLife Internacional 2017a). Muitas dessas espécies foram extintas sem ao menos conhecermos sobre seus requerimentos ecológicos, tais como: reprodução, alimentação e uso do habitat.

Um exemplo recente no Brasil é a espécie *Cichlocolaptes mazarbarnetti*, um furnarídeo da mata atlântica nordestina descrito em 2014. Embora esteja inserido na categoria "Criticamente Ameaçado" segundo a IUCN (2017), a espécie pode ser considerada como provavelmente extinta, devido principalmente a perda de cerca de 95% do habitat (del Hoyo 2017; Mazar-Barnett e Buzzetti 2014; Pereira *et al.,* 2014). A espécie é conhecida em apenas duas localidades, com informações detalhadas apenas sobre sua vocalização (del Hoyo *et al.,* 2017). Portanto, conhecer melhor as espécies ameaçadas antes que sejam extintas, e se possível criar programas para sua conservação, é de extrema importância para que muitos processos ecológicos não sejam afetados.

Conservação da Avifauna Brasileira

Atualmente são conhecidas no Brasil cerca de 1.919 espécies de aves (277 endêmicas), distribuídas nos mais diversos ambientes (Piacentini *et al.,* 2015). A lista de espécies ameaçadas dentro do território nacional pode conter divergências, devido à falta de critérios e consenso na definição dos táxons ameaçados, gerando listas com números de espécies diferentes (Silveira e Straube 2008; MMA 2014; IUCN 2017). Dados atuais da BirdLife Internacional (2017b) revelam que 169 espécies ocorrentes no Brasil passam por algum tipo de ameaça, o que o torna líder mundial em espécies

ameaçadas (seguido pela Indonésia, Peru e China). Por outro lado, na última lista de espécies ameaçadas publicada pelo MMA (2014) esse número sobe para 233 táxons ameaçados.

No Brasil, apenas uma espécie (*Pauxi mitu*) é considerada extinta da natureza, existindo ainda entre duas a seis espécies consideradas praticamente extintas da natureza (MMA 2014; IUCN 2017). No bioma Amazônico, apesar de considerado baixo o número de espécies ameaçadas (40 espécies) em relação ao número de espécies da Mata Atlântica (mais de 100 espécies), esse número vem aumentando a cada década (Marini e Garcia 2005, Silveira e Straube 2008, IUCN 2017). As quatro categorias de ameaça aqui consideradas (i.e., Vulnerável, Em Perigo, Criticamente em Perigo de extinção e Extinto da Natureza) são definidas através de critérios que incluem: a taxa de declínio da população (entendida como o número de indivíduos por espécie), o tamanho e distribuição da população, a área de distribuição geográfica e o grau de fragmentação (IUCN 2017).

A extinção das espécies de maneira geral interfere em muitos processos, tal como a regeneração florestal, já que muitas espécies atuam como dispersoras de sementes, o que influencia no recrutamento de novas plântulas (Wright 2003). Um exemplo clássico são as espécies da família Cracidae (Ordem Galliformes) que contribuem em vários processos ecológicos, por apresentarem dieta muitas vezes composta por frutos e sementes de tamanhos variados, flores e/ou folhas, além de invertebrados (Brooks e Strahl 2000; Brooks 2006; Silveira e Straube 2008; del Hoyo 2017). O grupo compõe uma parte significativa da biomassa de vertebrados nos habitats onde vivem, e por serem bastante visados e suscetíveis à caça e a perda de habitat, estão passando por um processo de declínio populacional muito rápido (Collar *et al.,* 1997; IBAMA 2004; del Hoyo 2017). Se a caça e a perda de habitat reduzem as populações de cracídeos existentes, os processos ecológicos desenvolvidos pelas espécies do grupo são consequentemente afetados (Collar *et al.,* 1992; Petchey e Gaston 2002). Estudos indicam que tais espécies apresentam baixa taxa de recuperação da população e não toleram altos níveis de caça contínua (Begazo e Bodmer 1998; Barrio 2011).

Dentre os 50 táxons distribuídos na família Cracidae, 32% são considerados ameaçados de extinção. Sua distribuição abrange desde o sul do Texas (EUA) até a região do delta do Rio Paraná, entre a Argentina e Uruguai (Brooks 2006; del Hoyo 2017; IUCN 2017). São conhecidas no Brasil 22 espécies, sendo 12 destas espécies

consideradas ameaçadas de extinção segundo a IUCN (2017) e MMA (2014) (apesar do segundo órgão considerar três diferentes subespécies; Tabela 1). Poucos estudos existem atualmente em relação a ecologia e genética de populações destas 12 espécies, tanto para as espécies endêmicas do Brasil, quanto para as espécies distribuídas fora do território brasileiro (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies da família Cracidae ameaçadas de extinção no Brasil, segundo UICN (2017) e MMA (2014). Pesquisas publicadas com as espécies em: Gen. Pop. = Genética de Populações, Est. Pop. =Estimativa populacional, Bio. Rep.= Biologia Reprodutiva, Área vida/Sel Hab= Área de vida ou seleção do habitat. B= Brasil, F= Fora do Brasil. N/O= Não ocorre fora do Brasil. X=Presente tese.

	Categoria Ameaça		Gen. Pop.		Est. Pop.		Bio. Rep.		Dieta		Area Vida/Sel. Hab.		Distribuição	
Espécie	IUCN	MMA	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F	B	F
Crax globulosa	EN	EN	**X**	1*, 2	3,**X**	4,5	**6**	-	**X**	-	**X**	7	**X**	-
Crax alector	VU		-	-	-	8	-	-	-	9,10	-	11	-	12
Crax blumenbachii	EN	CR	13*	N/O	14	N/O	15	N/O	-	N/O	16	N/O	17	N/O
Crax fasciolata	VU		18	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crax fasciolata pinima	CR		-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O
Crax pinima		CR	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O
Pauxi mitu	EW	EW	20*	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	21	N/O
Penelope jacucaca	VU	VU	-	N/O	-	N/O	-	N/O	22	N/O	-	N/O	-	N/O
Penelope ochrogaster	VU	VU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penelope pileata	VU	VU	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O
Penelope superciliaris alagoensis		CR	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O
Aburria jacutinga	EN	EN	23*	-	24	-	-	-	25	-	-	-	26	27
Ortalis guttata remota		CR	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O	-	N/O

* População de cativeiro.

1= Hughes e Larson 2000, 2= Alvarez-Prada e Ruiz-García 2015, 3= Haugaasen e Peres 2008, 4= Hill *et al.,* 2008, 5= Alarcón-Nieto e Palacios 2008, 6=Leite *et al.,* 2017, 7= Luna-Maira *et al.,* 2013, 8= Thiollay 1994, 9= Érard *et al.,* 1991, 10= Jiménez *et al.,* 2001, 11= Denis *et al.,* 2016,12= Samuels *et al.,* 2014, 13= Diegues 2011, 14= Alves *et al.,* 2015, 15= Teixeira e Snow 1982, 16= Bernardo *et al.,* 2011, 17= Pacheco 2013, 18= Pereira e Wajntal 2001, 19= Desbiez e São Bernardo 2011, 20= Grau *et al.,* 2003, 21= Silveira *et al.,* 2004, 22= Valtuille 2016, 23= Oliveira Junior 2012, 24= Guix *et al.,* 1997, 25= Galetti *et al.,* 1997, 26= Guix 1997, 27= Bodrati e Cockle 2006.

O mutum-piurí (*Crax globulosa)*

A família Cracidae é formada por espécies de aves florestais de grande porte (mutuns, jacutingas, jacus, aracuans), e representa uma das famílias mais ameaçadas de extinção na região Neotropical (Brooks 2006). O mutum, *Crax globulosa* (Figura 1), apresenta entre 82 a 89 cm e pode pesar até 3kg. O macho é caracterizado pelo grande desenvolvimento de uma carúncula globulosa vermelha na base da maxila e dois lóbulos da mesma cor na base da mandíbula. A fêmea não apresenta esses glóbulos no bico, tem calções e abdômen ferrugíneo (machos são brancos) (Sick 1997; Haugaasen e Peres 2008).

Figura 1. Macho de *Crax globulosa*. Fonte: WorldBird.net

Conhecida popularmente como mutum-piurí, *Crax globulosa* é uma espécie endêmica da bacia Amazônica centro-oeste, e ocorre exclusivamente em florestas de várzea e em ilhas sazonalmente inundadas por rios de água branca no Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia (Figura 2) (Bennett 2000; Aranibar-Rojas 2006; Haugaasen e Peres 2008). Apesar da ampla distribuição geográfica, as populações são descontínuas e subpopulações são geralmente limitadas a menos de 250 indivíduos (Aranibar-Rojas 2006). Uma população remota pouco conhecida já foi registrada no sul da Colômbia na ilha Mocagua no Rio Amazonas (Bennett 2000; Bennett e Franco-Maya 2002), e em várias ilhas do rio Caquetá perto da fronteira com o Brasil (Bennett 2000; Alarcón-Nieto e Palacios 2005; Luna-Maira *et al.,* 2013). A espécie foi também comumente registrada anteriormente no Rio Apaporis, próximo ao Parque Nacional Chiriquibete (Colômbia), e atualmente é considerada extinta localmente (BirdLife Internacional 2017). Na Bolívia, a estimativa populacional é de 150 indivíduos, com densidade de 3,4 indivíduos/km^2 (Hill *et al.,* 2008).

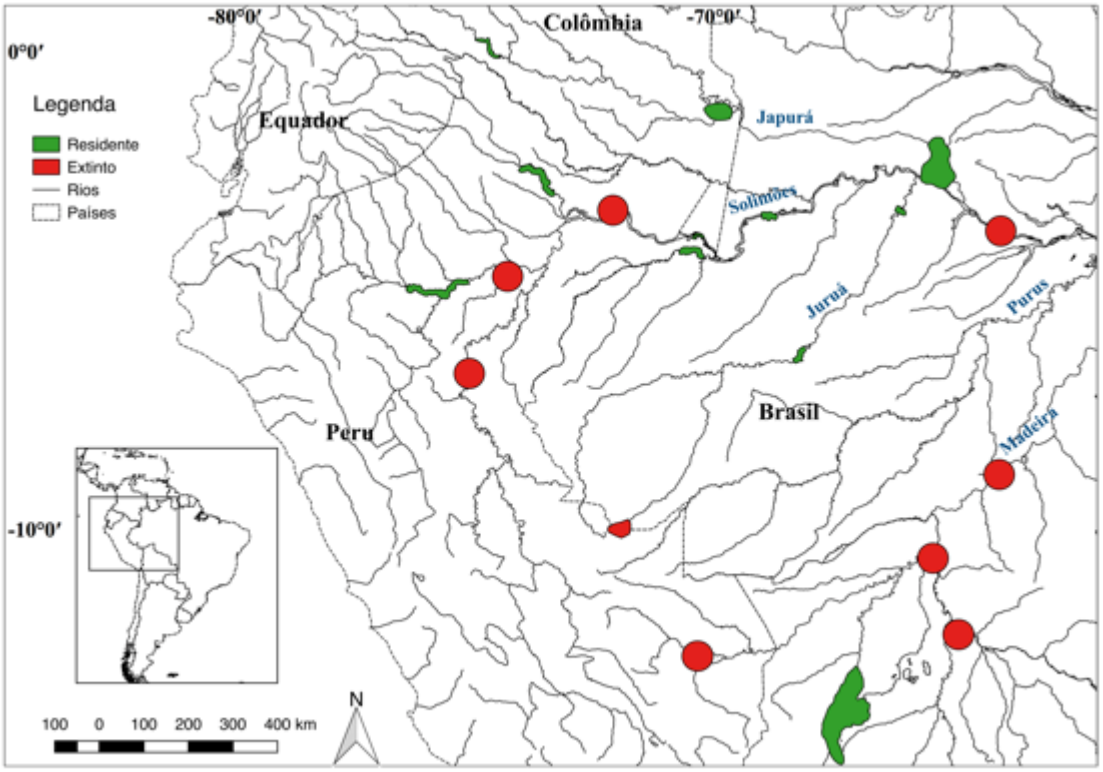


Figura 2. Distribuição de *Crax globulosa* na região Amazônica. As localidades indicadas por polígonos vermelhos são locais onde a espécie era conhecida e atualmente considerada extinta; as demais localidades em verde são locais de registros conhecidos para as populações ainda existentes. Fonte: IUCN (2017).

No Brasil, *Crax globulosa* ocorre em cinco localidades disjuntas, sendo três localidades bem conhecidas: médio Rio Juruá, Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Mamirauá (Santos 1998), e junção entre o Rio Solimões e Rio Purus. A espécie foi registrada na última localidade com alta abundância (0,56 indivíduos/km^2), dentro de uma pequena área de floresta de várzea (Haugaasen e Peres 2008). Segundo a BirdLife Internacional (2017), a RDS Mamirauá é considerada a localidade mais importante com uma população estimada em mais de 250 indivíduos.

Por ser composta de populações muito pequenas, em adição a estimativa de rápido declínio populacional, a espécie é considerada ameaçada de extinção (BirdLife Internacional 2017). A caça é a principal suspeita da causa do declínio, e um controle eficaz é urgentemente necessário. A espécie pode passar para a categoria "Criticamente Ameaçada" em um futuro breve, uma vez que informações sugerem declínio populacional maior do que o estimado (Santos 1998; Hennessey 1999; Bennett 2000). Adicionalmente, ocorre a perda de habitat apropriado para a espécie, 30,5 % do habitat dentro de sua área de distribuição ao longo de três gerações (35 anos), com base em um modelo de desmatamento na Amazônia (Soares-Filho *et al.,* 2006; Bird *et al.,* 2011).

Residente de florestas de várzeas e ilhas fluviais durante o ano inteiro (Begazo 1997; Santos

1998; Bennett 2000; Alarcón-Nieto e Palacios 2005), apresenta distribuição desigual nas áreas de floresta de várzea (Begazo 1997), principalmente pela restrição de água durante a estação da seca (Hill *et al.,* 2008). Diferente de outras espécies de mutuns, *Crax globulosa* utiliza o estrato arbóreo devido à falta de terra firme na floresta de várzea na estação chuvosa (Santos 1998; Bennett 2003). Uma observação distinta foi realizada em ilhas fluviais na Colômbia, onde indivíduos foram avistados no chão da floresta durante a estação da seca − quando a área de terra firme aumenta consideravelmente (Hill *et al.,* 2008; Luna-Maira *et al.,* 2013). No entanto, a maioria dos estudos sobre o uso de habitat baseiam-se em observações empíricas, resultando em uma lacuna de conhecimento (Bennett 2000).

Os indivíduos da espécie costumam forragear em pequenos grupos em terreno inundado. Alimentam-se de frutas, sementes, insetos, crustáceos aquáticos e pequenos vertebrados (Hennessey 1999; Bennett 2000). Durante a estação da seca a espécie está intimamente ligada à água, podendo permanecer entre 300 metros a até 3 km de distância do rio (Hill *et al.,* 2008; Luna-Maira *et al.,* 2013). Na estação chuvosa, podem possivelmente migrar da área de várzea para a floresta de terra firme, onde se alimentam de frutos e sementes da copa das árvores (Bennett 2000; Luna-Maira *et al.,* 2013). Informações sobre a reprodução da espécie são também escassos, existindo apenas relatos de filhotes encontrados em diferentes épocas do ano, sem detalhes sobre os ninhos ou tamanhos de ninhada (Bennett 2000; Luna-Maira *et al.,* 2013). Apenas recentemente, um estudo mostrou que a espécie constrói ninhos durante a estação seca, em árvores próximas à água em florestas de várzea e tamanho da ninhada de dois ovos (Leite *et al.,* 2017).

No âmbito da genética de populações, existem atualmente dois estudos com *Crax globulosa.* O primeiro trabalho foi realizado com uma população de cativeiro nos EUA, onde os autores desenvolveram cinco microssatélites para a espécie e verificaram a heterozigosidade genética dos indivíduos (Hughes e Larson 2000). O segundo estudo utilizou o gene mitocondrial *ND2* e os cinco marcadores microssatélites desenvolvidos para a espécie e verificou alta heterozigosidade e falta de estruturação entre as populações estudadas no Peru e Colômbia, (Alvarez-Prada e Ruiz-Garcia 2015). No Brasil, onde se concentra possivelmente as maiores populações da espécie, até o momento não existiam estudos relacionados a genética de populações.

Crax globulosa nos últimos anos teve sua população reduzida muito pela ação da caça e a perda do habitat, no que fez em 2010 seu status passar de "Vulnerável" para "Em Perigo de extinção" (BirdLife Internacional 2017). Estudos com sua biologia ainda são escassos, os principais envolvem censos populacionais na Colômbia e Bolívia (Hill *et al.,* 2008, Luna-Maira *et al.,* 2013), porém ambos trabalhos foram realizados na estação da seca, sem conhecimento do que ocorre com a espécie na estação da cheia. Além disso, informações sobre sua biologia reprodutiva são inexistentes, apenas com relatos de encontro de filhotes fora do ninho.

Adicionalmente, o nível de variabilidade e estrutura genética das populações da espécie foi muito pouco acessada, sendo um aspecto muito relevante, já que as populações estão fragmentadas. O conhecimento da estrutura e níveis de variabilidade genética são importantes dados para futuros planos de conservação e manejo da espécie, uma vez que a redução do número de indivíduos pode afetar os níveis de variabilidade genética dessas populações, podendo causar danos irreversíveis para a manutenção da espécie no futuro.

Objetivo Geral

A presente tese tem como objetivo principal avaliar a genética das populações, a área de vida, a seleção de habitat e a biologia reprodutiva de *Crax globulosa*. E ainda, verificar quais são as ameaças às populações e sugerir estratégias para o manejo e conservação da espécie.

Objetivos Específicos

- Verificar os níveis de variabilidade e estruturação genética dentro e entre cinco populações de *Crax globulosa;*
- Estimar a área de vida de *Crax globulosa*, e avaliar se a seleção do habitat pode representar alguma ameaça para as populações da espécie;
- Caracterizar o ninho, o tamanho da ninhada e verificar o período reprodutivo de *Crax globulosa;*
- Preencher lacunas no conhecimento biológico da espécie e consequentemente fornecer informações para auxiliar em planos de ação para a conservação da espécie.

Leite, G.A., Farias, I.P., Peres, C.A. & Brooks, D.M. 2017. Reproductive biology of the endangered Wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. *Journal of Natural History* 51: 677-687

Reproductive biology of the endangered Wattled Curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia

Gabriel Augusto Leite[1], Izeni Pires Farias[2], Carlos Augusto Peres[3] & Daniel M. Brooks[4]

[1]Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva. email: gabrielzoobio@hotmail.com

[2]Laboratório de Evolucão e Genética Animal, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, Av. Gen. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, CEP 69077-000, Manaus, AM, Brazil

[3]Centre for Ecology, Evolution and Conservation , School of Environmental Sciences, University of East Anglia , Norwich , NR4 7TJ , UK.

[4]Houston Museum of Natural Science, 5555 Herman Park Dr., Houston, Tx 77030-1799, USA

Abstract

The reproductive biology of *Crax globulosa* is virtually unknown, this knowledge comprised of only a few anecdotal notes. We found nine nests of *Crax globulosa* in the middle section of the Juruá River, western Brazilian Amazon, during the dry season. Nests averaged 22.5 m from water and 13.3 m above the ground. We observed two nest types: five made of twigs, leaves and vines, and four within a bromeliad. All nests contained two eggs, but six (67%) were subsequently predated. A female tagged with a transmitter nested twice during the same breeding season. A chick was monitored together with its parents for >10 months. In addition to hunting and habitat loss, nest predation could be another threat to this endangered species.

Keywords Bromeliad; chicks; nest; predation; hatching success

Introduction

The wattled curassow (*Crax globulosa*) is endemic to the western Amazon basin, occurring in western Brazil, southern Colombia, eastern Ecuador (problaly extirpated), eastern Peru and northern Bolivia (Bennett 2000; Brooks et al. 2006; Haugaasen and Peres 2008). The species is considered Endangered due to hunting, habitat loss and a small population size, estimated to have undergone a very rapid decline in numbers and range size (Brooks et al. 2006; BirdLife 2015). *Crax globulosa* may be elevated from Endangered in the near future, if new data suggest that the reduction in global population size is greater than current estimates (BirdLife 2015).

The species is a year-round resident in lowland forests and river islands (Begazo 1997; Santos 1998; Bennett 2003; Alarcón-Nieto and Palacios 2005). *Crax globulosa* appears to have a non-uniform distribution in lowland forest (Begazo 1997), mainly due to water restrictions during the dry season (Hill et al. 2008). Compared to other species of curassow, *Crax globulosa* is more arboreal due to a lack of dry land in the floodplain forest during the rainy (high-water) season (Garcia and Brooks 1997; Santos 1998; Bennett 2003).

Cracid reproduction may vary depending upon the season, among other factors, with most tropical species typically breeding during the rainy season (Delacour and Amadon 2004). It was once thought that most cracids were monogamous (Sick 1997), but there are anecdotal field observations of some species showing signs of polygyny, with one male and two or more females (Brooks et al. 2006; Gastañaga-Corvacho et al. 2011; Luna- Maira et al. 2013). Studies focused on the reproduction of wild cracid populations are scarce. In the case of curassows, only *C. daubentoni* has been studied intensively (Kvarnbäck et al. 2008). Details of *C. globulosa* reproduction have not been documented in detail until now.

Herein we provide the fi rst qualitative descriptions of the nest, clutch size and reproductive period of *C. globulosa*. This information is important in planning for conservation and management of this rare species.

Methods

Study area

The study was conducted along 11 km of both sides of two tributaries of the Juruá River (Marari and Macaco) within the Sustainable Development Reserve Uacari (Figure 1). This is part of the Juruá River Basin, and is located 130 km south of the town of Carauari, in the state of Amazonas, Brazil (– 5.7840S, – 67.7500W). This region is subject to a well defined seasonal rainfall regime, with a mean annual rainfall of 2400– 2800 mm (Sombroek 2001). There is also a strong seasonal oscillation in the river water discharge, with the low-water season occurring from July to October.

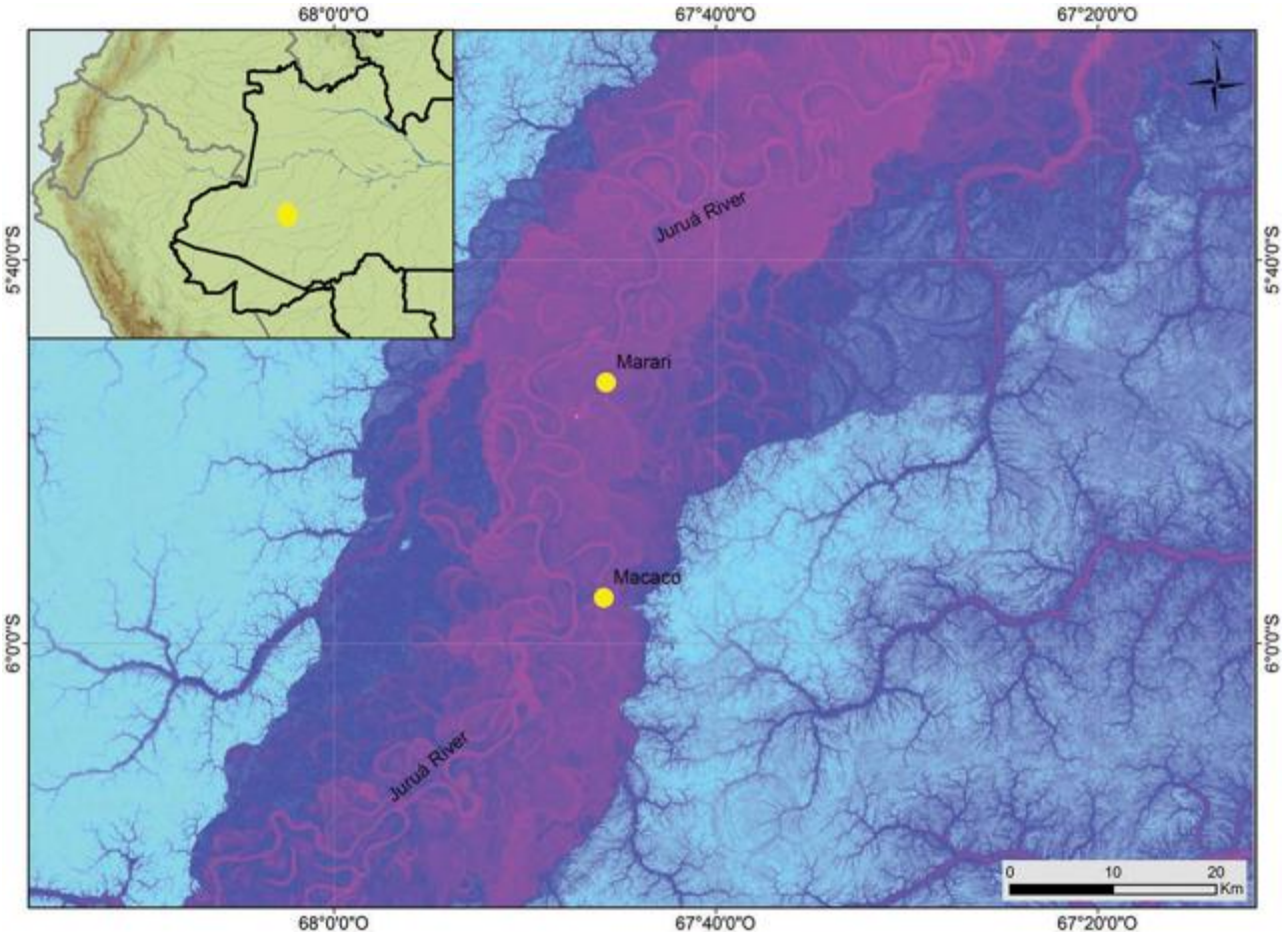


Figure 1. Main places where *Crax globulosa* nests (bullets) were found in tributaries of the Jurua River. Flooded environments (várzea and paleo floodplains) are near the river and other tributaries, while *terra firme* farther and lighter.

Nests and chicks

An intensive systematic search effort for *Crax globulosa* nests was carried out from August 2014 to October 2015, covering > 1 continuous year to insure periods of breeding activity were captured. Nests were located by hiking the banks of the Marari and Macaco rivers Monday through Friday, 06:00–10:00 hrs. At least two people searched for nests simultaneously, ≤ 300 m from the river, following methods of Luna-Maira et al. (2013). Trees were searched along with clues of a nest, including fallen eggshells and individuals taking flight from a tree. When a female was flushed from a tree, the location was recorded with a global positioning system (GPS), and a return trip was made the following day to determine whether the female was in the same tree. If the female was relocated the following day, the tree branches were climbed to check for a nest; if no evidence was found the site was discarded.

The following variables were measured when nests were located (mean and standard deviation [SD] are given for all measurements): distance to water (m), height from the ground (m), diameter at breast height (DBH, cm) of the host tree, and nest diameter (cm), height (cm) and depth

(cm). Additionally, the SD of the nearest distance to ground water and height were calculated. When the tree containing the nest could not be climbed, we used a rangefinder (Bushnell Yardage 450) tomeasure the height, and a camera with an 8-m stick to check the clutch size. The materials used to construct the nest (e.g. twigs, leaves, vines or other material) and clutch size were also recorded.

We put three camera traps on three nests (1 camera/nest) to monitor the presence of predators. Nests were visited every 2–3 days to see if they were still active, and which gender was incubating the eggs, based upon venter colouration (males white, or females rufous). Chick gender was also determined by venter colouration if they were old enough, and age was estimated by comparing photos of the chicks with captive individuals of known age.

Two adult females and a 3-month-old juvenile male (still associated with parents) were captured using an 'arapuca' trap (pyramid-shaped box trap made of sticks), tagged with backpack radio-transmitters (Biotracks Ltd, Dorset, UK), and tracked 15 days/month for 12 months. The females were monitored to determine where and when they nested, and the young male was monitored to determine how long he stayed with his parents. Analyses of ranging behaviour will be reported elsewhere.

A non-parametric Spearman correlation test was performed to verify whether a relationship existed between distance to the nearest water body and nest height. A positive correlation is hypothesised to occur, since the greater the distance to water, the greater height of the nest needed to facilitate escape from possible predators. Additionally, nests are more exposed to predators closer to the river because the creek's banks are more visible and therefore it is easier for predators to find prey.

Table 1. Villages interviewed about *Crax globulosa* reproduction, with interviewees' age, sex, and time living in the community.

Village	Coordinates		Age	Sex	Time living in village
Santa Barbara	4° 3'38"S	66°25'30"W	51	M	40
Tucumã	3°59'13"S	66°28'16"W	69	M	65
Joanico	3°52'18"S	66°23'21"W	47	M	47
Arapari	3°50'58"S	66°15'59"W	62	M	62
Limão	3°42'19"S	66°11'43"W	57	M	57
Escondido	3°35'23"S	66° 6'49"W	39	M	22
Boca do Jacaré	3°31'18"S	66° 7'55"W	35	M	18
Gaivota	2°58'32"S	65°57'11"W	59	M	51
Paranagua	3°24'39"S	66° 4'23"W	44	M	44

Antonina	3°15'15"S	66° 1'58"W	41	M	25
Xibauazinho	5°56'24"S	67°46'15"W	36 and 54	M	36 and 42
Mandioca	5°51'32"S	67°47'24"W	57	M	42
Preguiça	5°19'14"S	67°13'15"W	46	M	23
Boca do Xeruã	6° 3'15"S	67°48'47"W	28 and 49	M	28 and 32

Interviews

A total of 14 rural villages along the Juruá River were visited to conduct passive interviews with 16 residents (Table 1). The interviewed residents were selected by consulting the community, to determine which residents had the most experience hunting and fishing, as well as who had lived in the community the longest. Specific questions asked included: (1) Are you familiar with the nest of the mutum-piuri (*C. globulosa*)? and (2) Are you aware of any nests, past or present (i.e. number of nests, clutch sizes, season found, habitat type, location)?

Results

Nests

Nine active nests of C. globulosa were found (three in 2014, six in 2015) during the lowwater season, between July and September (Table 2); two nests were in Macaco and seven in Marari (Figure 1). All nests contained two white eggs and were on average located 22.5 m (SD = 24.7 m) from the water, at a mean height of 13.3 m (SD = 6.2 m). The correlation between nest height and distance to the water was positive but not significant, and weak ($r = 0.2$, $P = 0.6$).

Five nests were built between forks in the branches of trees (Table 2; Figure 2), and four nests were built within bromeliads (*Aechmea sp.*, Bromeliaceae, Figure 3; Table 2). Nests built between forks were shallow, round and basket-shaped, constructed with twigs and vines, and lined with both green and dry leaves. The bromeliad nests were built using the foundation of this epiphytic plant as a nest platform. The trees that contained nests always possessed vines, closed canopy or other individual bromeliads. Three of the bromeliad nests were 130, 175 and 210 m from one another, and found during the same week with a single vocalising male ≤50 m from the nests. Similarly, males were observed vocalising close to nests #1, 4 and 9. Only females incubated in all nests.

Figure 2. Nest #2 built in the fork, with two eggs.

Figure 3. Nest #5 built in *Aechemea sp*. post-predation.

Table 2 – Data for *C. globulosa* nests in the Juruá River Basin, Amazonas, Brazil. The first date is the day the nest was found; the second date is when it was predated or abandoned (nest #3 was not tracked). Ground = height from the ground (m), water = distance to water (m), DBH = diameter at breast height, SD = standard deviation

Nest #	Date	Fate	Coordinates	Ground	Water	Height (cm)	Diameter (cm)	Depth (cm)	Nest Type	# of Eggs	Egg Mass (g)	Egg Size (mm)	Tree Sp.	DBH (m)
1	14 August 2014 17 August 2014	Predated	5°46'52"S, 67°45'44"W	9	14	23	38	6	Fork	2	136, 140	79.7 x 60.4, 80.5 x 60.6	*Eugenia sp.*	0.28
2	26 August 2014 05 September 2014	Abandoned	5°48'9"S, 67°46'54"W	9.1	3.5	24	46	7	Fork	2	200, 204	93. 5 x 62.9, 91.8 x 64.4	*Cassia leiandra*	0.21
3	22 August 2014	Inspected only once	5°57'35"S 67°45'41"W	9.6	31.6	11	34	-	Fork	2	-	-	*Sloanea rufa*	0.56
4	31 July 2015 19 August 2015	Predated by *Rupornis magnirostris*	5°46'52"S 67°45'51"W	10.5	5.8	15	36	5	Fork	2	-	-	*Eugenia sp.*	0.13
5	10 August 2015 14 August 2015	Predated	5°45'1"S 67°46'19"W	14.9	10.9	10	35	5	Bromeliad	2	184	88.8 x 61.4	Sapotaceae	0.5
6	08 August 2015 14 August 2015	Predated	5°45'1"S 67°46'13"W	11.6	21.4	-	-	-	Bromeliad	2	-	-	*Pouteira sp.*	0.33
7	07 August 2015 20 August 2015	Predated	5°45'5"S 67°46'13"W	29	89	-	-	-	Bromeliad	2	-	-	Fabaceae	0.67
8	22 August 2015 03 September 2015	1 chick hatched, other egg abandoned and predated	5°57'34"S 67°45'42"W	8.4	16.1	8	44	6	Fork	2	-	-	*Eugenia sp.*	0.24
9	30 September 2015 09 October 2015	Predated	5°46'57"S 67°45'59"W	18	11	-	-	-	Bromeliad	2	-	-	*Sloanea rufa*	1.03
SD				**6.2**	**24.7**	**6,25**	**4.56**	**0.74**	-	-	**29.21**	**5.72 x 1.51**	-	0.26
Mean				**13.3**	**22.5**	**15.2**	**38.8**	**5.8**		**2**	**173**	**86.8 x 61.9**		0.44

Six of the nine nests had their two eggs subsequently predated (67%), one had a chick hatch (11%), and one was abandoned (11%; Table 2). Of the nine nests, containing a total of 18 eggs, only one chick hatched (6% hatch rate); the other egg in that clutch did not hatch and the egg was predated after the female abandoned the nest to care for the new chick (Table 2). A camera trap placed on nest #4 fi lmed a roadside hawk (*Rupornis magnirostris*) attacking the female curassow, which fl ew to the ground, whereupon the hawk consumed both eggs. The same female of nest #4 was marked with a very high frequency (VHF) transmitter and recorded incubating a new clutch (nest #9) after a 38-day interval. The new nest was 100 m from nest #4 and was in a different species of tree, but again was predated (Table 2).

Chicks

On 5 October 2014, a chick of approximately 1 week of age was encountered with its parents in Marari. On the same day at a distance of 350 m, a young male (approximately 3 months old) was observed vocalising on top of a *Byrsonima sp*. tree.

Also in October 2014, a pair of adults was observed with two juvenile males of about 3 months of age in Marari. One of the juvenile males was captured and tagged with a VHF transmitter and monitored for 1 year, always in the company of an adult female and the other juvenile male, and on some occasions also with an adult male. This young male accompanied his mother until July 2015 (at approximately 1 year of age), when we began to see this individual alone or with other groups. On 3 September 2015, a chick of about 10 days old (Figure 4) was found with two adult females and one male in Macaco.

Interviews

Interviews with 16 local informants from 14 villages resulted in 151 nest reports, always in várzea. Virtually all respondents (99%) reported two eggs per clutch, with only two nests containing three eggs. Respondents invariably indicated that the breeding season is always during the dry season (June–October), and nests were always built ≤ 50 m from water and supported by at least five different species of trees (*Eugenia sp*., *Vitex cimosa*, *Ocotea sp*., *Ficus sp*. and *Byrsonima sp*.).

Figure 4. Chick of *Crax globulosa*, approximately 10 days old, on 3 September 2016 in Macaco.

Discussion

The breeding season of *Crax globulosa* in the Jurua River during the dry season is consistent with Caquetá River reports in Colombia (Bennett 2000). Wattled curassows only reproduced when land was available, following the receding floodwaters in várzea floodplain forest. This is important so that chicks could walk after hatching, and were old enough to fly once the water level began to rise again, creating flooded forest conditions.

The location of the nests can be attributed to wattled curassows' close association with water, or in floodplain forest habitats with a high density of plants and vines that would help conceal the nest from predators (Hill et al. 2008; Luna-Maira et al. 2013), as well as a safe location high above ground. Such nest locations are also important to permit a quick escape route, fl ying across a stream, which would be diffi cult for a terrestrial predator to track. Another species of curassow, *C. daubentoni*, usually builds nests along forest edges in order to hide from potential predators (Kvarnbäck et al. 2008).

The clutch size of two eggs we observed is consistent with other species in the genus *Crax* (Brooks et al. 2006; Kvarnbäck et al. 2008), as well as a female wattled curassow observed with two chicks on a fl uvial island in the Caquetá River (Luna-Maira et al. 2013). Our observations show that the female incubates the eggs while the male remains close by to help guard the nest, as observed in other species of curassows (Delacour and Amadon 2004).

In captivity the females may have more than one clutch per season when eggs are removed or broken, but there are no reports of multiple clutches in wild populations (Todd et al. 1992). This behaviour was observed only in *Mitu salvini* and *Crax alector* after a 20-day interval following nest predation, with the new nest built higher than the fi rst nest (Delacour and Amadon 2004), as noted herein for *C. globulosa*.

The 13.3 m mean nest height from the ground is greater than the average of other *Crax* nests studied to date (9– 11 m); however, the nest diameter, height and depth are similar (Delacour and Amadon 2004; Kvarnbäck et al. 2008). The two differently structured nest types seem to be a fi rst for the genus, and we report the fi rst observed use of a bromeliad (Delacour and Amadon 2004; Kvarnbäck et al. 2008). However, nesting in a bromeliad has been reported for other cracids including *Penelope, Ortalis, Chamaepetes* and *Oreophasis* (Greeney and Erazo 2005; Londoño et al. 2007; Toledo-Lima et al. 2013).

Reproductive success is almost unknown for most of the species in the family, with the exception of Ortalis vetula, of which 65% of 135 monitored nests were successful with chicks hatched (4% abandoned, 30% predated) (Marion and Fleetwood 1978). Nest predation by capuchin monkeys (*Cebus spp*.) was reported in *Crax daubentoni*, *C. alector* and *C. blumenbachii* (Delacour and Amadon 2004; Kvarnbäck et al. 2008; Canale and Bernardo 2016). Of all nests we followed throughout the incubation period, only one chick hatched, accounting for only a 6% reproductive success rate. The high predation rate may be due to the high abundance and diversity of terrestrial and arboreal predators in the Juruá River Basin (Patton et al. 2000). We recorded several bands of monkeys of various species (*Cebus albifrons*, *Saimiri sciureus* and *Alouatta seniculus*), as well as individual marsupials (*Didelphis marsupialis*), snakes (*Boa constrictor*, *Epicrates cenchria*) and birds of prey, including the *R. magnirostris* that predated one of the clutches.

Polygyny in *C. globulosa* seems likely given the observation of three females attending nests close to one another at the same time, with a single male in the area, although only paternity analyses can confi rm polygamy with certainty. In Colombia and Bolivia, a male was found withmultiple females (Bennet 2000; Hill et al. 2008; Luna-Maira et al. 2013). Most researchers report that cracids are monogamous, but a few observations show that polygamy may occur in the family, with species such as *Oreophasis* and *Ortalis* in addition to other species of curassows exhibiting this mating strategy (Sick 1997; Brooks et al. 2006).

The separation of the male chick after staying with the mother in the natal range for 10 months may have been due to an adult male ousting the chick at the onset of the breeding season. Alternatively, this period may be linked to the seasonally inundated várzea forest where the species lives, because during the wet season we observed flocks of ≥5 individuals feeding on several species of fruiting trees.

Hunting and habitat loss are the main reasons for rapid declines in cracid populations. For example, during a single year (2008) the Jurua River basin experienced 3.2% forest loss totaling 6194 km (Trancoso et al. 2009). As *C. globulosa* is naturally rare and restricted to seasonally fl ooded lowland forest, it has a limited window of opportunity for reproductive activity, combined with a high predation rate. Consequently, the species is teetering on the threshold of unsustainable population recruitment, assuming that these populations are still demographically viable. The combination of unsustainable harvest, habitat loss and high levels of nest predation may well continue to drive many remaining populations of this species to extinction in the future.

Acknowledgements

This publication is part of the Projeto Médio Juruá series (www.projetomediojurua.org). We thank FAPEAM for the scholarship granted. Also, thanks to Dianes Gomes Marcelino for help with the map.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Neotropical Bird Club [Grant].

References

Alarcón-Nieto G, Palacios E. 2005. Confirmation of a second population for Colombia of the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the lower Caquetá River. Ornitol Col. 3:97–99.

Barrio, J. 2011. Hunting pressure on cracids (Cracidae: Aves) in forest concessions in Peru. Revista Peruana de Biologıa 18: 225–230.

Begazo AJ. 1997. [News about the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in Peru]. Bull Cracid Spec Group. 5:1–18.

Bennett SE. 2000. The status of the Piuri (*Crax globulosa*) in Colombia - a brief overiew. Bull Cracid Spec Group. 10:18–22.

Bennett SE. 2003. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) on Isla Mocagua, Amazonas, Colombia. Bull Cracid Spec Group. 16:21–28.

Birdlife International [Internet]. 2015. Species factsheet: *Crax globulosa*; [cited 11 Nov 2015]. Available from: http://www.birdlife.org/.

Brooks DM, Cancino L, Pereira SL. 2006. Conserving cracids: the most threatened family of birds in the Americas. Houston (TX): Misc. Publ.Houston Mus. Nat. Sci.

Canale GR, Bernardo CS. 2016. Predator-prey interaction between two threatened species in a Brazilian hotspot. Biota Neotrop. 16:1–4.

Delacour J, Amadon D. 2004. Curassows and related birds. Barcelona (Spain): Lynx Edic. Garcia C, Brooks DM. 1997. Evolution of *Crax* sociobiology and phylogeny using behavioral and ecological characters. In: Strahl SD, Beaujon S, Brooks DM, Begazo AJ, Sedaghatkish G, Olmos F, editor. The Cracidae: their biology and conservation. Bellingham (WA): Hancock House Publ.; p. 401–410.

Gastañaga-Corvacho M, Macleod R, Brooks DM, Hennessey B. 2011. Distinctive morphology, habitat and vocalizations of *Pauxi* (unicornis) *koepckeae*: evidence for species rank. Ornitol Neotrop. 22:267–279.

Greeney HF, Erazo SL. 2005. A nest of the Sickle-winged Guan (*Chamaepetes goudotii tschudii*). Bull Cracid Spec Group. 21:43–46.

Haugaasen T, Peres CA. 2008. Population abundance and biomass of large-bodied birds in Amazonian flooded and unflooded forests. Bird Cons Intl. 18:87–101.

Hill DL, Aranibar-Rojas H, Macleod R. 2008. Wattled Curassows in Bolivia: abundance, habitat use, and conservation status. J Field Orn. 79:345–351.

Kvarnbäck J, Bertsch C, Barreto G. 2008. Nest site selection and nesting success of the Yellowknobbed Curassow (*Crax daubentoni*) in a fragmented landscape in the Venezuelan Llanos. Ornitol Neotrop. 19:347–352.

Londoño GA, Muñoz MC, Rios MM. 2007. Density and natural history of the Sickle-winged Guan

(*Chamaepetes goudotii*) in the Central Andes, Colombia. Wilson J Orn. 119:228–238.

Luna-Maira L, Alarcón-Nieto G, Haugaasen T, Brooks DM. 2013. Habitat use and ecology of Wattled Curassows on islands in the lower Cauetá River, Colombia. J Field Orn. 84:23–31.

Marion WR, Fleetwood RJ. 1978. Nesting ecology of the plain Chachalaca in south Texas. Wilson Bull. 90:386–395.

Patton JL, da Silva MNF, Malcolm JR. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. Bull Am Mus Nat Hist. 244:1–306.

Santos PMRS. 1998. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) at Mamirauá (Amazonas, Brazil). Bull Cracid Spec Group. 7:13–19.

Sick H. 1997. Ornitologia brasileira. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.

Sombroek W. 2001. Spatial and temporal patterns of Amazon rainfall - Consequences for the planning of agricultural occupation and the protection of primary forests. Ambio. 30:388–396.

Todd W, Plasse C, Eckart C. 1992. Curassow husbandry manual. Houston (TX): Houston Zool. Gardens.

Toledo-Lima GS, Junior TMO, Macario P, Oliveira DV, Pichorim M. 2013. Notes on reproductive biology of two species of cracids in northeastern Brazil. Wilson J Orn. 125:665–666.

Trancoso R, Carneiro Filho A, Tomasella J, Schietti J, Forsberg BR, Miller RP. 2009. Deforestation and conservation in major watersheds of the Brazilian Amazon. Environ Cons. 36:277–288.

Leite, G.A., Farias, I.P., Gonçalves, A.L.S., Hawes, J. & Peres, C.A. Coarse- and fine-scale patterns of distribution and habitat selection places an Amazonian floodplain curassow in double jeopardy. Manuscrito submetido para *PeerJ*.

Coarse- and fine-scale patterns of distribution and habitat selection places an Amazonian floodplain curassow in double jeopardy

Gabriel A. Leite[1,2 *], Izeni P. Farias[2], André Luis Souza Gonçalves[3], Joseph E. Hawes[4], and Carlos A. Peres[5]

[1] Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil

[2] Laboratório de Evolucão e Genética Animal, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil

[3] Grupo de Pesquisas em Mamíferos Amazônicos (GPMA), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil

[4] Department of Biology, Anglia Ruskin University, Cambridge, CB1 1PT, UK

[5] Centre for Ecology, Evolution and Conservation, School of Environmental Sciences, University of East Anglia, Norwich NR4 7TJ, UK

* Corresponding author: Gabriel A. Leite, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2936 Av. Andre Araújo, Petrópolis, Manaus CEP 69.067-375, Brazil. Email: gabrielzoobio@hotmail.com

Target journal: Animal Conservation (word limit = 4,000 excl. refs, tables, figs)
Running head (max 8 words): Habitat selection by Wattled Curassow
Word count = 4,230 (incl. abstract)

Abstract

Patterns of habitat selection are influenced by local productivity, resource availability and predation risk. Species have taken millions of years to hone the macro- and micro-habitats they occupy, but these may now overlap with contemporary human threats within natural species ranges. Wattled Curassow (*Crax globulosa*), an endemic galliform species of the western Amazon, is threatened by both hunting and habitat loss, and is restricted to white-water floodplain forests of major Amazonian rivers. In this study conducted along the Juruá River, Amazonas, Brazil, we quantified the ranging ecology and fine-scale patterns of habitat selection of the species. We estimated the home range size of *C. globulosa* using conventional VHF telemetry. To estimate patterns of habitat selection, we used geo-locations of day ranges to examine the extent and intensity of use across the floodplain, which were then compared to a high-resolution flood-map of the study area. We captured two females and one male, which were monitored for 13 months between September 2014 and September 2015. Average home range size was 283 ha, based on the 95% aLoCoH estimator. Wattled Curassows selected areas of prolonged flood-pulses (6-8 months/year) and had a consistent tendency to be near open water, usually in close proximity to river banks and lakes, especially during the dry season. Amazonian floodplains are densely settled, and the small portions of floodplain habitat used by Wattled Curassows are both most accessible to hunters and most vulnerable to deforestation. As a result, the geographic and ecological distribution of Wattled Curassows places them at much higher extinction risk at multiple spatial scales, highlighting the need to consider habitat preferences within their conservation strategy.

Keywords: conservation, Cracids, ecology, *várzea*, floodplain forest, telemetry

Introduction

Understanding how animals use landscapes to meet their resource demands (e.g. food, water, and breeding habitat) and how these animals establish and use their home ranges is vital to interpret the potential vulnerability of species to extinction and to successfully design subsequent wildlife management programmes (Morrison, Marcot & Mannan, 1998, Willems & Hill, 2009). Habitat availability, movement patterns and habitat use are driven by the abundance, availability and distribution of resources, as well as by the landscape structure in which they are distributed (e.g. habitat patches and connectivity between them) (Willems & Hill, 2009, Beyer *et al.,* 2010). Recording movement patterns and habitat use is particularly crucial for threatened taxa. However, this information is often most lacking when populations occur at low densities or are difficult to observe due to evasive behaviour (Rechetelo *et al.,* 2016), or sheer remoteness and inaccessibility of habitat.

It is important to incorporate habitat selection studies and data on population abundance into conservation planning (Caughley, 1994), particularly in terms of assessing both demographic and geographic definitions of rarity (Williams et al. 2009). Demographically rare species are typically expected to find some relief from direct anthropogenic threats, such as hunting, as a result of their low densities, unless they represent a particularly valuable commodity (e.g. ivory) whose value may rise with increased rarity (McClenachan et al. 2016). However, habitat specialization is also important in determining a species' ability to persist in human-disturbed landscapes (Vergara & Armesto, 2009). Unlike habitat generalists, which can change their habitat selection pattern over time as expected by habitat selection theory (Latta & Faaborg, 2002), more specialized species are confined to a narrow spectrum of habitat types, potentially placing them under additional threats.

Habitat loss is a leading driver of population declines and local extinctions, particularly in the tropics, where species may be lost even before habitat associations have been understood and remedial options considered. This effect is even more critical for species that are naturally rare and endemic to restricted areas (Stattersfield *et al.,* 2008, Pimm & Jenkins, 2010). Projections using human impacts on land use and climate change show that bird species with restricted distributions and specialized habitat requirements tend to lose 50% of their range size within 50 years, placing them under a double jeopardy of extinction (Jetz, Wilcove & Dobson, 2007). To further compound the problem, restricted geographic distributions may potentially place species at risk from heightened levels of hunting pressure (Collar, Wege, Long 1997).

The Cracidae, belonging to the order Galliformes, are endemic to the Neotropics and one of the most threatened avian families (Collar, Wege, Long 1997), with 24 species listed in some threat category (1 EW, 6 CR, 8 EN, 9 VU; Table S1). As large terrestrial gamebirds, they are notably vulnerable to human disturbances through both habitat loss and selective hunting (del Hoyo, 2017).

A clear warning of the danger is provided by the Alagoas Curassow (*Mitu mitu*), which has been recently driven to extinction in the wild by the combination of forest fragmentation and hunting, and now survives only in captivity (BirdLife International 2016b). Although cracids serve important ecological roles as seed dispersers, most species have not been studied in detail in terms of their habitat relationships, either because they have a small population, are restricted to inaccessible areas or exhibit cryptic behaviour (Delacour & Amadon, 2004).

The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) is endemic to the Amazon basin where it occurs in river islands and floodplain forests that are seasonally flooded by white-water rivers in Brazil, Colombia, Ecuador, Peru and Bolivia (Collar *et al.,* 1992, Bennett, 2003, Haugaasen & Peres, 2008). Rapid population declines, to current estimates of just 250-1000 birds, has placed *C. globulosa* on both the Brazilian and IUCN Red Lists as an Endangered Species (Hennessey, 1999, Bennett, 2000, BirdLife International, 2016a). As a range-restricted species under threat from both habitat loss and hunting, the Wattled Curassow is a prime example of a species where detailed information on its patterns of habitat selection could help inform conservation action. Here, we used radio-telemetry to study the home range size and use of space of *C. globulosa*, quantifying its preferred small-scale habitat mosaic within Amazonian floodplain forests and investigating how this preference may affect the future prospects of populations of this species.

Materials and Methods

Study area

The study was carried out within the Uacari Sustainable Development Reserve (RDS Uacari; 632,949 ha), Carauari municipality, in the state of Amazonas, Brazil. This state-managed reserve, established in 2005, comprises upland *terra firme* forest and seasonally-flooded *várzea* forest along the margins of the white-water Juruá River that flows through it. *Várzea* soils are nutrient rich, as a result of the deposition of pre-Andean alluvial sediments (Furch 1997) during the annual flood pulse event (Junk et al. 1989), with a plant community characterised by fast growth rates but lower wood density and forest stature than adjance *terra firme* forests (Hawes et al. 2012). We conducted fieldwork in *várzea* floodplain forests along the Marari stream (5°45’05’’S, 67°46’17’’W), a tributary on the right bank of the Juruá River.

The Médio Juruá region has a wet, tropical climate with a mean annual rainfall of 3,679 mm (2008-2010; Bauana Field Station; 5°26’19’’S, 67°17’12’’W). Precipitation patterns (dry season: May-October; rainy season: November-April) correspond closely to the prolonged inundation period in *várzea* forests (terrestrial phase: July-December, aquatic phase: January-June) (Hawes & Peres 2016), where the flood depth can reach up to 7.5 m (Junk et al. 2011). Mean monthly values of river discharge range from 135 to 1,407 m^3/sec (1973-2010; Porto do Gavião; Petrobrás S.A.),

with the period of highest water discharge in January-May. Pronounced changes in habitat structure occur as a result of this marked seasonality, although flood depth and inundation period vary considerably with local topography (Hawes et al. 2012), influencing the distribution of both terrestrial and aquatic vertebrates (Hawes & Peres 2014, Endo et al. 2016).

Home range size

We used VHF radio-telemetry to quantify movement patterns and the home range size of *C. globulosa*. We captured birds using wooden traps locally known as "arapucas". In all, 30 traps were built, which were set from Monday to Friday afternoon and checked twice daily, over 70 days between September and November 2014. To maximize capture rates, traps were mounted at sites where the species had been previously observed during intensive line-transect surveys. Each captured individual was blinded with a hood and its legs were tied to reduce stress. First, a blood sample from the wing was drawn and then a VHF transmitter was fitted. This entire procedure, which had been tested previously on simulated runs using domestic chickens, lasted no more than 10 to 15 min.

Captured individuals were tagged with backpack-type transmitters (150.00 to 150.99 MHz), manufactured to specification by Biotrack Ltd/Lotek Wireless Inc (Dorset, UK). Transmitters were black, had a battery life of 18 months, and weighed 46 g, equivalent to ~1.8% of the body mass of an adult *C. globulosa* (~2,500 g), or well below the maximum recommended limit of 3% (Kenward 2001). An R-1000 model receiver (Communications Specialists, Inc, CA, US) and a three-element Yagi antenna were used to locate signals from the transmitters. Data were collected on a systematic basis between September 2014 and October 2015.

Each tagged individual was monitored once daily, morning or afternoon, at least three times a week, for at least 12 months. When the radio-transmitter signal was located, we stealthly approached any given individual until direct visual observations were possible although all birds eventually fled as they were approached, with no clear indication that they were becoming habituated to observers over time. We recorded flock size (alone or with other individuals), position (on the ground or perched, in which case height above ground was recorded), and the straight-line distance to the nearest body of open water. The waypoint location where each individual was first observed was recorded using a GPS (Garmin Map 60) as soon as the animal moved elsewhere, or observations were no longer possible. Day-range locations were carried out at any time of day (06:00h –17:00h), but each location day was started by targeting a different focal individual to prevent the same bird from being recorded at the same time of day.

Habitat selection

To identify local habitat preferences, we used ranging data from a total of 579 locations obtained from three *C. globulosa* monitored with VHF transmitters. The floodplain forest habitats of the study area were classified according to the spatial distribution of inundation periods using a floodmap with a resolution of 90 m. We used a classification of areas subjected to different inundation regimes based on multi-temporal (2006-2011) remote sensing data of the entire study area. These data were obtained by the Advanced Land Observing Satellite (ALOS) Phased Array type L-band Synthetic Aperture Radar sensor (PALSAR) system, using a 100-m spatial resolution (see Hawes et al. 2012). Synthetic Aperture Radar (SAR) sensors can generate appropriate data sets to map flooded forests, due to their ability to overcome problems of forest canopy cover, atmospheric and illumination conditions, and provide reliable measurements of the flood extent in wetland habitats (Arnesen et al. 2013). Based on a time series of 12 different ScanSAR scenes, a total of seven different forest categories were distinguished for this study: unflooded *terra firme* and paleovarzea forests, and *várzea* forests with the following mean flooding periods: <1 month/year, 1-2 months/year, 3-5 months/year, 6-8 months/year, and 9-12 months/year. In addition, we mapped all areas lacking vegetation cover, such as permanent open-water habitats (lakes, and river channels), and sandy and alluvial sediment beaches of the main river and connecting levees. To calculate the area of each forest category, we used a 100% Minimum Convex Polygon (MCP) as a representation of its availability in relation to all floodplain habitat types (Fig. 1).

Data analysis

Home range size

Location data were analyzed using ArcGis 10.2.2 software (ESRI, 2014). Five different estimators were used to calculate the home range size of *C. globulosa*, in order to compare results with other cracid studies: Minimum Convex Polygon (95% MCP); Fixed Kernel (95% FK), Brownian Bridge Movement Model (95% BBMM), and Adaptive Local Convex Hull (95% aLoCoH). We used a Kruskall-Wallis test to test for differences between the home range sizes generated by the different estimators, using low sensitivity to extreme values and low amplitude of the results as criteria in selecting the most representative estimators of home range size (Bernardo *et al.,* 2011). We estimated home range sizes throughout the full year of monitoring and used a Wilcoxon signed-rank test to test for differences between dry and wet seasons.

Habitat selection

To assess habitat selection, we used the availability method, which compares the proportion of points sampled in a given habitat type with the proportion of expected points in the same habitat

(Neu et al. 1974, Canavelli et al. 2003), with selection assumed to occur if habitat use is disproportionate to its overall local availability (Johnson, 1980; Alldredge & Griswold 2006). We used a chi-squared test to determine if habitat use was disproportionate to habitat availability (i.e. differences between observed and expected values), and a Wilcoxon test to determine if there was any difference in habitat choice between wet and dry seasons (Thomas & Taylor 2006), with the Bonferroni Confidence Interval used as necessary to account for multiple comparisons (Neu et al. 1974, Cherry, 1996). We included open water and non-vegetated areas even though they were not observed to be used, as their exclusion would not affect any analyses (Aebischer et al. 1993, Buskirk & Millspaugh 2006).

We calculated the distance to the nearest water source (oxbow lake, stream, river) for each location recorded, and used a Pearson correlation to determine the relationship between the frequency of records in the landscape and the distance to open water, with the hypothesis that the number of records would decline with increasing distance from water. Finally, we used a Student's *t*-test to test for a difference in the distance to water between dry and wet seasons. All statistical analyses were conducted in R (Core Team, 2014).

Results

Home range size

Our overall trapping effort (70 days × 30 traps = 2,100 trap-days) successfully captured only three *C. globulosa* (a fourth individual escaped the trap). The locations of the three *C. globulosa* individuals, two females and one male, were monitored continuously for 12 to 13 months. All individuals remained in the same area of floodplain forest as their point of capture throughout the duration of monitoring. Our total of 579 positional records were well distributed across individuals and seasons (Table 1), with a mean of 192 points per individual that were used to calculate home range sizes (Table 2). The estimator with the lowest variance was aLoCoH, with a mean home range of 283 ± 214 ha (Fig. 2, Table 2). Average home range sizes in the wet (159 ± 62 ha) and dry seasons (146 ± 86 ha) were not statististically different (Wilcoxen: $V = 2$, $p = 0.75$) and there were no significant differences between the estimators used (Kruskal-Wallis: $H = 3$, $p = 0.39$). In 51.4% of observations (n = 298) the tracked individual was not alone, with a flock size range of 2-7 and mode of 2 (n = 142).

Habitat selection

The 100% MPC landscape macromosaic for all three Wattled Curassows monitored had a overall area of 3,249 ha, although *C. globulosa* used almost all forest types, the contingency test indicated that observed use differed from the null expectation if forest types were selected randomly

(Chi-square: $\chi^2 = 52.98$, gl = 7, p <0.001). Wattled Curassows showed positive selection for areas of low-lying *várzea* forest that are flooded 6-8 months/year, with double the number of expected locations obseverd if habitats were selected according to availability (Table 3). Other forest habitats had fewer observations than expected and no observations were made in open water or non-vegetated areas, and the paleovarzea habitats were not within the 100% MPC (Fig 3). Moreover, there was no difference in habitat selection between the dry and wet seasons (Wilcoxen: $V = 8$, p = 0.68).

Locations were consistently recorded near open water, with 83% of records (n = 521) less than 300 m from a stream or lake, and the farthest linear distance ever recorded from water being 930 m. The probability of encountering *C. globulosa* significantly decreased with increasing distance from any given waterbody (Pearson: r = -0.95, p <0.001), and this preference for proximity to water was even greater during the dry season (mean ± SD: 112 ± 83 m) compared to the wet season (184 ± 105 m), with a significant difference between seasons (Student's *t*-test: $t = –8.82$, df = 518.81, p<0.001, Fig. 3). During the wet season, when the annual flood pulse effectively rendered all terrestrial habitat unavalable within low-lying floodplains, individuals were always recorded within the crowns of canopy trees (n = 272). In the dry season, we recorded individuals on the ground in 33.3% of observations (n = 102) and perched in trees in 66.7% of observations (n = 205).

Discussion

Home range size

On the basis of the smallest home range size of the four estimators we used, our three *C. globulosa* showed a larger mean home range size (283 ha) than other species of curassows studied to date with telemetry: *C. daubentoni* 149–197 ha (Bertsch & Barreto, 2008), *C. alector* 185 ha (Bernal & Mejía, 1995), *C. blumenbachi* 125 ha (Bernardo *et al.,* 2011) and *M. salvini* 72–155 ha (Santamaría & Franco, 1994, Parra *et al.,* 2001). However, most species have not been studied for a full year (Table 4). Results are also not easily comparable since analyses used different estimators and species exhibit different habitats and feeding habits. In most studies of home range size in Galliformes, MCP and Kernel estimators have been the most often used (Bernardo, 2010) although these estimators potentially overestimate home range sizes and frequently associate tracked individuals with sites that they do not use. Had we considered only these estimators in our study, the home range size of *C. globulosa* would be estimated at 500–800 ha, an estimate well above the more conservative value we considered (aLoCoH: 283 ha), although differences between estimators were not significant.

Our finding that all tracked birds remained within the floodplain forest throughout the monitoring period, despite the availability of permanently unflooded *terra firme* forest only 3.5 km

from the area monitored and paleovarzea forest only 100 m, suggests that speculation that *C. globulosa* exhibits lateral migration to adjacent *terra firme* forests during the wet season (BirdLife International, 2016a, del Hoyo, Kirwan & Christie 2017) may be mistaken. Instead, we report consistent horizontal and vertical movements within the mature *várzea* floodplain forest in response to the rise and fall of floodwaters. One explanation for the persistence of *C. globulosa* in *várzea* forests during the wet season could be the elevated fruit production at this time (Hawes & Peres, 2016), which provides a key food resource for the species (Ayres, 1993, Haugaasen & Peres, 2005). Therefore, although home ranges do not shift to unflooded *terra firme* during the wet season, seasonal movements to track fruit production within the spatially heterogenous *várzea* floodplain habitat, coupled with the consistency in *C. globulosa* home range sizes across dry and wet seasons, may explain why we recorded a larger home range size than in other curassow species.

Habitat selection

The strong preference we found for forest habitat near waterbodies and for forest experiencing flooding for at least 6–8 months/year has also been observed for *C. globulosa* in Bolivia and Colombia, where the chance of detection decreases considerably at distances >250 m from water (Hill, Aranibar-Rojas & Macleod, 2008, Luna-Maira *et al.,* 2013). These previous studies only took place in the dry season but, taken together with our more comprehensive sample over a complete annual cycle, these findings point strongly to a very narrow pattern of habitat selection by *C. globulosa*, thereby confirming its strict riverine or lacustrine floodplain distribution (Collar *et al*., 1992). Other curassow species, such as *C. blumenmachii* in south-east Brazil, also show a similar relationship with water (Collar *et al*., 1992, Bernardo, 2010).

Although the floodplain forest in our study region covers a large area, our findings indicate that *C. globulosa* shows a restricted preferences for much narrower floodplain areas that are (i) flooded for prolonged periods, and at that (ii) near the banks of oxbow lakes, perennial streams or rivers. Movements away from the banks during the wet season may possibly reflect searching for food resources or an avoidance of hunters due to their greater exposure when in the forest canopy. Another important consideration is the breeding requirements of *C. globulosa*, with reproduction only occurring in the dry season when chicks are able to walk on the ground after hatching but with nests also located near open water, presumably to facilitate escape from predators (Leite *et al*., 2017). Dry season foraging may also contribute to the preference for areas close to lake or river banks, where there is a greater supply of other food resources such as fish, insects, and crustaceans (Decalour & Amadon, 2004), as well as mineral pebbles that have been found in the stomach contents of some individuals and may serve to aid mechanical digestion within the gizzard (G. Leite, unpubl. data), much like it has been proposed for other large-bodied cracids (Peres and van

Roosmalen, 1996).

Double-jeopardy habitat use

The pattern of habitat selection confirmed by our study places the Endangered *C. globulosa* in a clear case of habitat use double-jeopardy in relation to congruent spatial patterns of human-induced threats. This is consistent with other threatened species for which small to large scale patterns of spatial requirements converge with high risk of direct and indirect human-induced mortality. For example, both marine and terrestrial megafauna are placed in double-jeopardy due to their large body size and the high commercial value of body parts such as elephant ivory and shark fins, with their market value increasing with species rarity (McClenachan, Cooper & Dulvy, 2016). Other research verifying patterns and causes in endangered Neotropical birds, found that 78% of all endangered species have a distribution of less than 50,000 km^2 and 57% are confined to wet forests, with habitat loss and intensive human exploitation as the main threats (Collar, Wege, Long 1997).

Firstly, *C. globulosa* is threatened by its restriction to seasonally flooded *várzea* forest which, due to its high and annually renewed soil nutrient levels, is one of the Amazonian ecosystems most influenced by human activities with a 48% reduction in coverage over the last 35 years in the lower Amazon region alone (Renó *et al.,* 2011, Junk & Piedade, 2005). *Várzea* forests are typically the first to be deforested in regions settled by riverine human populations, as they provide timber and easily accessible sites for the construction of new houses, as well as the planting of temporary monocultures such as cassava and grass pastures for domestic herbivores (Renó *et al.,* 2011). Although floodplain forests cover an area of between 60,000-100,000 km^2 of the Amazon (Junk, 1997), *C. globulosa* populations have an increasingly fragmented distribution within this area (BirdLife International, 2016a), elevating their vulnerability to further deforestation.

In addition to the general threat associated with a distribution restricted to *várzea* forests, remaining *C. globulosa* populations succumb to a second threat as a result of their faithful preference for habitats close to open water or those that remain flooded for 6-8 months, since this habitat selection greatly increases their vulnerability to hunting. Rivers are the primary transport network in the Amazon and people have inevitably settled along them, leading to the highest levels of human population density, and therefore demand for wild animal protein, occurring in areas closest to *várzea* forests. The higher levels of hunting associated with greater accessibility are responsible for driving declines in the abundance of a wide range of game species, including gamebirds (Peres & Lake, 2003). Finally, the most accessible areas within these flooded forests, such as riverbanks, streams and lakes, are precisely the areas preferred by *C. globulosa*, with human threats further intensified during the dry season when hunters can easily explore *várzea* forests on foot.

This combination of factors increases the level of threat to the Wattled Curassow in the near future since, even at low densities, their habitat preferences place them at increased risk of extinction from habitat loss or hunting. There are three established forest reserves in our study region in the Médio Juruá, but these are classified as extractive or sustainable-use reserves, which do not prohibit hunting or logging. Hunting may have declined since the extensive commercial harvests of the 20th century skin trade (Antunes *et al.,* 2016), but current levels may continue to threaten not only populations of gamebirds such as *C. globulosa* (Michalski & Peres 2017) but also other species that depend on floodplain forests. Avoiding the fate of the Alagoas Curassow, *M. mitu*, (BirdLife International 2016b) and improving the outlook for those species placed in similar double-jeopardy situations is unlikely to be acheived without conservation measures that account for their specific habitat requirements. For example, expanding a well-enforced protected area system, and ensuring that sufficiently large areas are protected from subsistence hunting, may be more successful if incorporating a zonal approach that targets protection of riparian habitat. A focus on environmental education could also disseminate the ecological importance of *C. globulosa*, including their movement patterns and subsequent role in seed dispersal, in maintaining the dynamic floodplain ecosystem and other species that depend upon it.

Acknowledgments

We thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) for a PhD scholarship granted to GAL, internal funding from Anglia Ruskin University to JEH, and Bombom for help during the field work. This study was partly supported by a Darwin Initiative for the Survival of Species (DEFRA/UK) grant under Project 20-001 led by CAP. This publication is part of the Projeto Médio Juruá series (www.projetomediojurua.org).

References

Aebischer, N.J., Robertson, P.A. & Kenward, R.E. (1993). Composition analysis of habitat use from animal radio-tracking data. *Ecology* **74**, 1313–1325.

Alldredge, J.R. & Griswold, J. (2006). Design and analysis of resource selection studies for categorical resource variables. *J. Wildl. Manage.* **70**, 337–346.

Antunes, A.P., Fewster, R.M., Venticinque, E.M., Peres, C.A., Levi, T., Rohe, F., Shepard, G.H., Röhe, F. & Shepard Jr., G.H. (2016). Empty forest or empty rivers? A century of commercial hunting in Amazonia. *Sci. Adv.* **2**, e1600936–e1600936.

Ayres, J.M. (1993). *As matas de várzea de Mamirauá: médio rio Solimões*. *Estud. Mamirauá*. Brasilia: CNPq e Sociedade Civil Mamirauá.

Bennett, S. (2003). The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) on Isla Mocagua, Amazonas, Colombia. *Bull. Cracid Spec. Gr.* **16**, 8–27.

Bennett, S. (2000). The status of the piurí (*Crax globulosa*) in Colombia: a brief overview. *Bull. Cracid Spec. Gr.* **10**, 18–22.

Bernal, X. & Mejía, C. (1995). *Uso del espacio por un grupo de Crax alector*. Bogotá.

Bernardo, C.S.S. (2010). *Reintrodução de mutuns-do-sudeste Crax blumenbachii (Cracidae) na Mata Atlântica da Reserva Ecológica de Guapiacu (Cachoeiras deMacacu, RJ, Brasil)*. PhD thesis, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, Brazil.

Bernardo, C.S.S., Lloyd, H., Olmos, F., Cancian, L.F. & Galetti, M. (2011). Using post-release monitoring data to optimize avian reintroduction programs: A 2-year case study from the Brazilian Atlantic Rainforest. *Anim. Conserv.* **14**, 676–686.

Bertsch, C. & Barreto, G.R. (2008). Abundancia y área de acción del paují de copete (*Crax daubentoni*) en los Llanos Centrales de Venezuela. *Ornitol. Neotrop.* **19**, 287–293.

Beyer, H.L., Haydon, D.T., Morales, J.M., Frair, J.L., Hebblewhite, M., Mitchell, M. & Matthiopoulos, J. (2010). The interpretation of habitat preference metrics under use-availability designs. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 2245–2254.

BirdLife International. (2016a). *Crax globulosa*. *IUCN Red List Threat. Species 2016*. http://www.iucnredlist.org/details/22678537/0

BirdLife International. (2016b). *Mitu mitu*. *IUCN Red List Threat. Species 2016*. http://www.iucnredlist.org/details/22678486/0

Brooks, D., Cancino, L. & Pereira, S. (2006). Conserving cracids: the most threatened family of birds in the Americas. *Misc. Publ. Houst. Museum Nat. Sci.* **6**.

Buskirk, S.W. & Millspaugh, J.J. (2006). Metrics for studies of resource selection. *J. Wildl. Manage.* **70**, 358–366.

Canavelli, S.B., Bechard, M.J., Woodbridge, B., Kochert, M.N., Maceda, J.J. & Zaccagnini, M.E.

(2003). Habitat use by Swainson's hawks on their austral wintering grounds in Argentina. *J. Raptor Res.* **37**, 125–134.

Caughley, G. (1994). Directions in conservation biology. *J. Anim. Ecol.* **63**, 215–244.

Cherry, S. A. (1996). A comparison of confidence interval methods for habitat use-availability studies. *J. Wildlife Management*, **60**, 653–658.

Collar, N.J., Gonzaga, J.P., Krabbe, N., Madrono-Nieto, A., Naranjo, L.G., Parker, T.A. & Wege, D.C. (1992). *Threatened Birds of the Americas: the ICBP/IUCN Red Data Book*. *BirdLife Int.* 3rd edn. Cambridge: International Council for Bird Preservation.

Collar, N.J., Wege, D.C. & Long, A.J. (1997). Patterns and causes of endangerment in the new world avifauna. *Ornithol. Monogr*, **48**, 237-260.

del Hoyo, J.C.-A. (2017). Family Cracidae (Chachalacas, Guans and Currassows). In *Handbook of the Birds of the World Alive*. del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (Eds). Barcelona: Lynx Edicions.

del Hoyo, J., Kirwan, G.M. & Christie, D.A. (2017). Wattled Curassow (*Crax globulosa*). In *Handbook of the Birds of the World Alive*. del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (Eds). Barcelona: Lynx Edicions.

Delacour, J. & Amadon, D. (1973). *Curassows and related birds*. Barcelona/New York: Lynx Edicions/American Museum of Natural History.

ESRI (Environmental Systems Research Institute). (2014). Arc GIS Version 10.2.2.

Folt, C.L., Nislow, K.H. & Power, M.E. (1998). Implications of temporal and spatial scale for Atlantic salmon (*Salmo salar*) research. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **55**, 9–21.

Haugaasen, T. & Peres, C.A. (2005). Tree phenology in adjacent Amazonian flooded and unflooded forests. *Biotropica* **37**, 620–630.

Haugaasen, T. & Peres, C.A. (2008). Population abundance and biomass of large-bodied birds in Amazonian flooded and unflooded forests. *Bird Conserv. Int.* **18**, 87–101.

Hawes, J.E. & Peres, C.A. (2016). Patterns of plant phenology in Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *Biotropica* **48**, 465–475.

Hawes, J.E. & Peres, C.A. (2014). Fruit–frugivore interactions in Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *J. Trop. Ecol.* **30**, 381–399.

Hawes, J.E., Peres, C.A., Riley, L.B. & Hess, L.L. (2012). Landscape-scale variation in structure and biomass of Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *For. Ecol. Manage.* **281**, 163–176.

Hennessey, A. (1999). Status of the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the lower Beni River area of Bolivia. *Bull. Cracid Spec. Gr.* **8**, 15–18.

Hill, D.L., Arañibar-Rojas, H. & MacLeod, R. (2008). Wattled Curassows in Bolivia: abundance,

habitat use, and conservation status. *J. F. Ornithol.* **79**, 345–351.

Jetz, W., Wilcove, D.S. & Dobson, A.P. (2007). Projected impacts of climate and land-use change on the global diversity of birds. *Plos Biol*. **5**, 1211–1219.

Johnson, D.H. (1980). The comparison of usage and availability measurements for evaluating resource preference. *Ecology* **61**, 65–71.

Junk, W.J. (1997). General aspects of floodplain ecology with special reference to Amazonian floodplains. In *The Central Amazon Floodplain: ecology of a pulsing system. Ecological Studies 126*: 3−20. Junk, W.J. (Ed). Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.

Junk, W.J. & Piedade, M.T.F. (2005). The Amazon River Basin. In *The World's Largest Wetlands: Ecology and Conservation*: 63–117. Fraser, L. & Keddy, P. (Eds). Cambridge: Cambridge University Press.

Kenward, R. (2001). *A Manual for Wildlife Radio Tagging*. London: Academic Press.

Latta, S.C. & Faaborg, J. (2002). Demographic and population responses of Cape May Warblers wintering in multiple habitats. *Ecology* **83**, 2502–2515.

Leite, G.A., Farias, I.P., Peres, C.A. & Brooks, D.M. (2017). Reproductive biology of the endangered wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. *J. Nat. Hist.* **51**, 677–687.

Luna-Maira, L., Alarcón-Nieto, G., Haugaasen, T. & Brooks, D.M. (2013). Habitat use and ecology of Wattled Curassows on islands in the lower Caquetá River, Colombia. *J. F. Ornithol.* **84**, 23–31.

Mayor, S.J., Schneider, D.C., Schaefer, J.A. & Mahoney, S.P. (2009). Habitat selection at multiple scales. *Ecoscience* **16**, 238–247.

McClenachan, L., Cooper, A.B. & Dulvy, N.K. (2016). Rethinking trade-driven extinction risk in marine and terrestrial megafauna. *Current Biol*. **26**, 1640–1646.

Michalski, F. & Peres, C.A. (2017). Gamebird responses to anthropogenic forest fragmentation and degradation in a southern Amazonian landscape. *PeerJ* **5**, e3442.

Morrison, M.L., Marcot, B.G. & Mannan, W.R. (1998). *Wildlife-habitat relationships: concepts and applications*. 2nd edn. The University of Wisconsin Press.

Neu, C.W., Byers, C.R. & Peek, J.M. (1974). A technique for analysis of utilization-availability data. *J. Wildl. Manage.* **38**, 5.

Parra, J.L., Agudelo, M., Molina, Y. & Londoño, G. (2001). Use of space by a pair of Salvin's Curassows (*Mitu salvini*) in northwestern Colombian Amazon. *Ornitol. Neotrop.* **12**, 189–204.

Peres, C.A. & von Roosmalen, M.G.M. (1996). Avian dispersal of mimetic seeds of *Ormosia lignivalvis* by terrestrial granivores: deception or mutualism? *Oikos* **75**, 249–258.

Peres, C.A. & Lake, I.R. (2003). Extent of nontimber resource extraction in tropical forests:

Accessibility to game vertebrates by hunters in the Amazon basin. *Conserv. Biol.* **17**, 521–535.

Pimm, S.L., Jenkins, C.N. & Martiny, J.B.H. (2010). Extinctions and the practice of preventing them. In *Conservation Biology for All*. Sodhi, N.S. & Ehrlich, P.R. (Eds). .

R Development Core Team. (2014). R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Rechetelo, J., Grice, A., Reside, A.E., Hardesty, B.D. & Moloney, J. (2016). Movement patterns, home range size and habitat selection of an endangered resource tracking species, the black-throated finch (*Poephila cincta cincta*). *PLoS One* **11**, e0167254.

Renó, V.F., Novo, E.M.L.M., Suemitsu, C., Rennó, C.D. & Silva, T.S.F. (2011). Assessment of deforestation in the Lower Amazon floodplain using historical Landsat MSS/TM imagery. *Remote Sens. Environ.* **115**, 3446–3456.

Santamaria, M. & Franco-Maya, A.M. (1994). *Historia Natural del Paujil Mitu salvini y densidades poblacionales de los Crácidos en el Parque Nacional Natural Tinigua-Amazonía-Colombia*. Bogotá.

Sombroek, W. (2001). Spatial and temporal patterns of Amazon rainfall. *Ambio* **30**, 388–396.

Stattersfield, A.J., Crosby, M.J., Long, A.J. & Wege, D. (1998). *Endemic bird areas of the world: priorities for biodiversity conservation*. Cambridge: BirdLife International (Conservation Series 7).

Thomas, D.L. & Taylor, E.J. (2006). Study designs and tests for comparing resource use and availability II. *J. Wildl. Manage.* **70**, 324–336.

Todd, B.D., Bergeron, C.M., Hepner, M.J. & Hopkins, W.A. (2011). Aquatic and terrestrial stressors in amphibians: A test of the double jeopardy hypothesis based on maternally and trophically derived contaminants. *Environ. Toxicol. Chem*. **30**, 2277–2284.

Vergara, P.M. & Armesto, J.J. (2009). Responses of Chilean forest birds to anthropogenic habitat fragmentation across spatial scales. *Landsc. Ecol.* **24**, 25–38.

Willems, E.P. & Hill, R.A. (2009). Predator-specific landscapes of fear and resource distribution: effects on spatial range use. *Ecology* **90**, 546–555.

Figure legends

Figure 1. Study area in the Middle Juruá region of western Brazilian Amazonia, showing the forest and non-forest floodplain categories distinguished on the basis of ALOS ScanSAR images. Black-white line represents the 100% Minimum Convex Polygon (MCP) for the three monitored individuals of *Crax globulosa* across the study landscape.

Figure 2. Home range size of the three monitored individuals of *Crax globulosa* in the study area, using the estimator **(A)** Minimum Convex Polygon (95% MCP), **(B)** Fixed Kernel (95% FK), **(C)** Brownian Bridge Movement Model (BBMM 95%), **(D)** Adaptive Local Convex Hull (aLoCoH 95%) and **(E)** locations of all individuals.

Figure 3. Density plot showing the distribution of records during the dry (black) and wet (grey) seasons for the monitored individuals of *Crax globulosa*, in relation to linear distances (m) to the nearest open waterbody.

Figure 1.

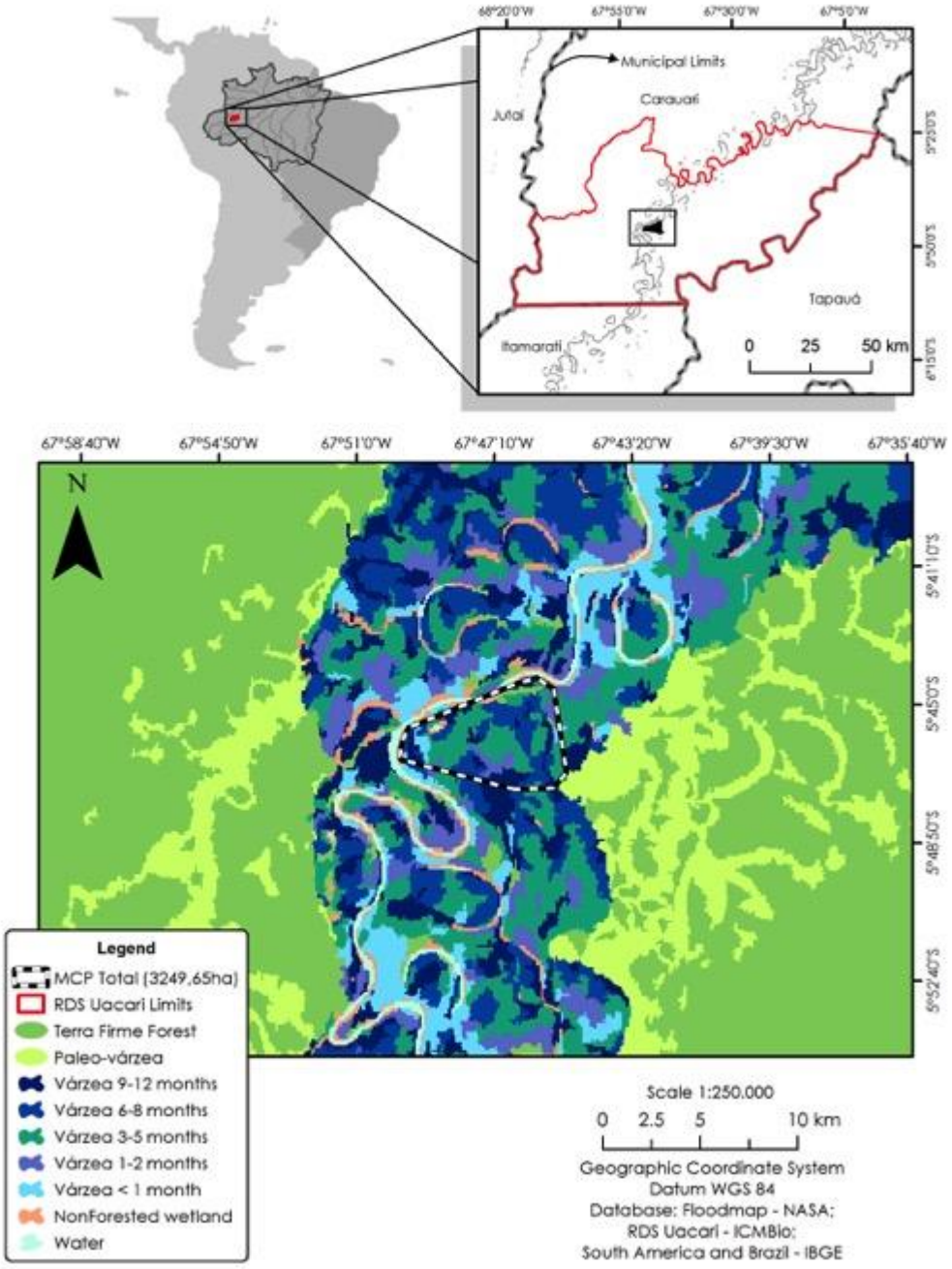

68°20'0"W
67°55'0"W
67°30'0"W
67°5'0"W
Municipal Limits
Carauari
Juruá
Tapauá
Itamarati
0 25 50 km
5°25'0"S
5°0'0"S
6°15'0"S
67°58'40"W
67°54'50"W
67°51'0"W
67°47'10"W
67°43'20"W
67°39'30"W
67°35'40"W
N
5°41'10"S
5°45'0"S
5°48'50"S
5°52'40"S
Legend
MCP Total (3249,65ha)
RDS Uacari Limits
Terra Firme Forest
Paleo-várzea
Várzea 9-12 months
Várzea 6-8 months
Várzea 3-5 months
Várzea 1-2 months
Várzea < 1 month
NonForested wetland
Water
Scale 1:250.000
0 2.5 5 10 km
Geographic Coordinate System
Datum WGS 84
Database: Floodmap - NASA;
RDS Uacari - ICMBio;
South America and Brazil - IBGE

Figure 2.

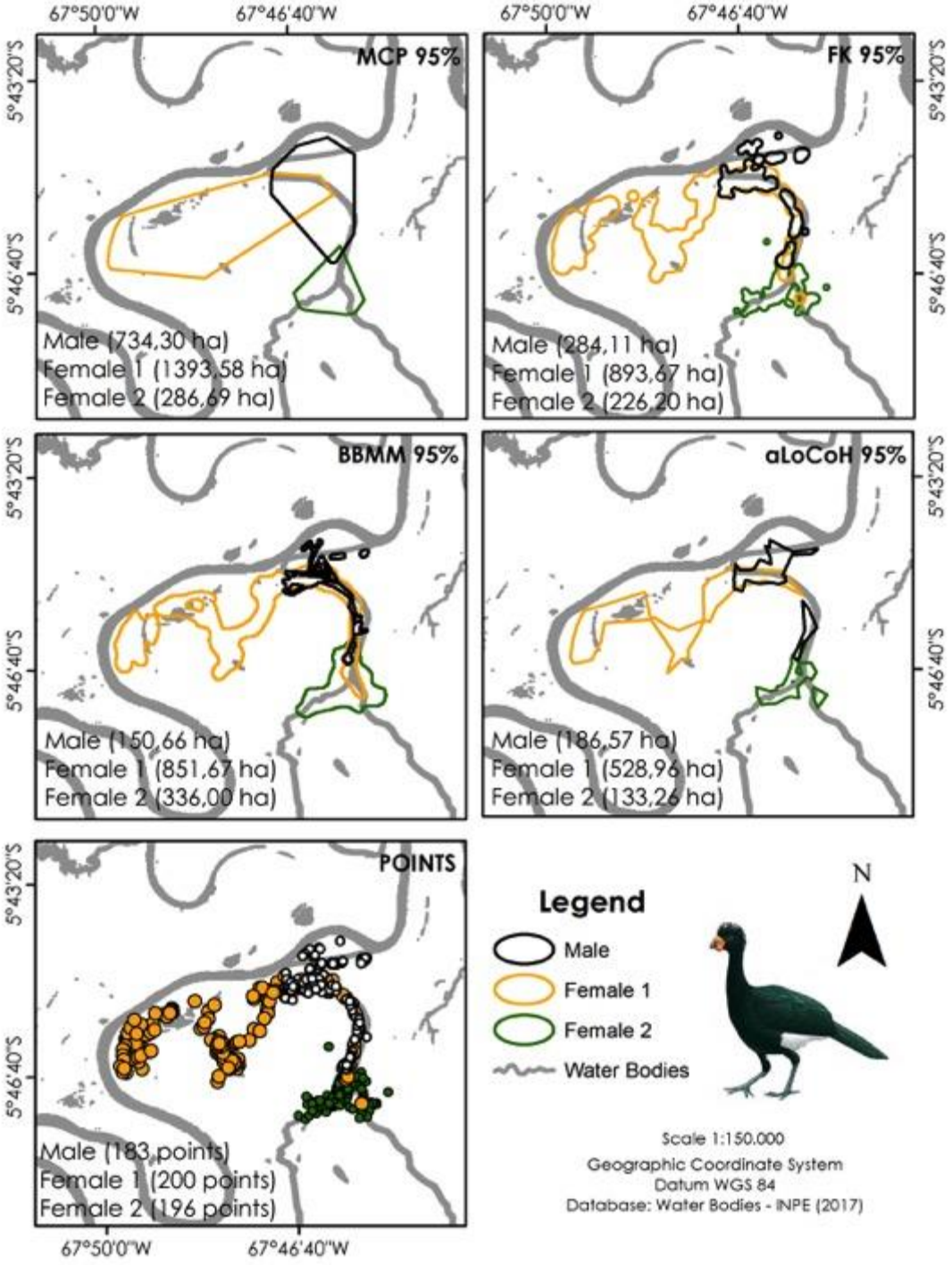
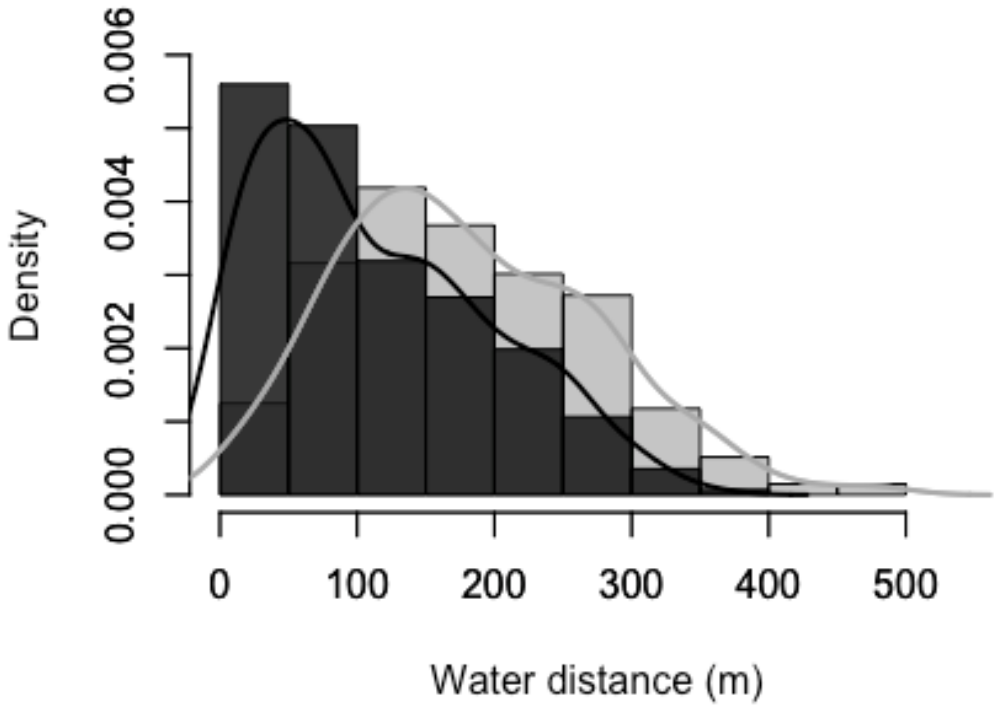

67°50'0"W
67°46'40"W
5°43'20"S
5°46'40"S
MCP 95%
Male (734,30 ha)
Female 1 (1393,58 ha)
Female 2 (286,69 ha)
FK 95%
Male (284,11 ha)
Female 1 (893,67 ha)
Female 2 (226,20 ha)
BBMM 95%
Male (150,66 ha)
Female 1 (851,67 ha)
Female 2 (336,00 ha)
aLoCoH 95%
Male (186,57 ha)
Female 1 (528,96 ha)
Female 2 (133,26 ha)
POINTS
Male (183 points)
Female 1 (200 points)
Female 2 (196 points)
Legend
Male
Female 1
Female 2
Water Bodies
N
Scale 1:150.000
Geographic Coordinate System
Datum WGS 84
Database: Water Bodies - INPE (2017)

Figure 3.


Density
0.000
0.002
0.004
0.006
0
100
200
300
400
500
Water distance (m)

Tables

Table 1. Detail of radio-tracking effort (number of locations recorded) from three Wattled Curassows (*Crax globulosa*) across the dry and wet seasons in the Médio Juruá region, Amazonas, Brazil, with the dates of capture/fitting and the last day of monitoring.

Sex	Capture	Last day	N dry	N wet	N total
Female 1	15/09/2014	30/09/2015	112	88	200
Female 2	02/10/2014	01/10/2015	105	91	196
Male	18/10/2014	10/10/2015	90	93	183
Total			307	272	579

Table 2. Home range size estimates (mean ± SD) for Wattled Curassow (*Crax globulosa*) across the dry and wet seasons in the Médio Juruá region, Amazonas, Brazil.

Season	**95% MCP [a] (ha)**	**95% FK [b] (ha)**	**95% BBMM [c] (ha)**	**95% aLoCoH [d] (ha)**
Dry	537±349	364±143	344±130	146±86
Wet	482±223	478±421	296±195	159±62
All year	804±556	468±369	446±363	283±214

a Minimum Convex Polygon

b Fixed Kernel

c Brownian Bridge Movement Model

d Adaptive Local Convex Hull

Table 3. Bonferroni Confidence intervals for habitat selection by Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the Middle Juruá region, Amazonas, Brazil, showing proportional use (%) for each habitat type used. Symbols represent the degree of habitat selection; (+) used more than expected, (-) used less than expected, (o) used as expected by chance.

Habitat	**Observed use (%)**	**Expected use (%) pi**	**Bonferroni's intervals**	**Selection**
Unflooded (*terra firme*)	0.02	0.02	0.007<pi<0.039	o
Várzea <1 month	0.06	0.04	0.032<pi<0.085	o
Várzea 1-2 months	0.01	0.07	0.001<pi<0.026	-
Várzea 3-5 months	0.24	0.39	0.188<pi<0.285	-
Várzea 6-8 months	0.56	0.28	0.505<pi<0.618	+
Várzea 9-12 months	0.10	0.16	0.068<pi<0.136	-

Table 4. Comparison of Currasow studies showing sample effort, home range estimators used, home range size, and habitat use.

Species	**Country**	**Sampling effort, months (N individual)**	**Analyses[a]**	**Home range, ha**	**Habitat selection**	**Reference[B]**
C. globulosa	Brazil	13 (3)	95% aLoCoH 95% BBMM 95% FK 95% MCP	283 446 468 804	*Varzea*, near to water	1
C. daubentoni	Venezuela	3 (9)	95% FK 95% AK	149 197	Gallery and dry forest	2
C. alector	Colombia	4 (4)	100% MCP	185	Riverine areas	3
C. blumenbachi	Brazil	25 (25)	95% NL	125	Riparian habitats	4
Mitu salvini	Colombia	7 (4)	100% MCP	72-155	Flooded forest	5

a AK = Adaptative Kernel; aLoCoH = Adaptive Local Convex Hull; BBMM = Brownian Bridge Movement Model; FK = Fixed Kernel; MCP= Minimum Convex Polygon; NL = Neighbour Linkage.

b 1= Leite *et al.,* (this study); 2= Bertsch & Barreto, 2008; 3= Bernal & Mejía, 1995; 4= Bernardo *et al.,* 2011; 5= Santamaría & Franco, 1994, Parra *et al.,* 2001.

Supplementary Material

Table S1. Summary of IUCN Red List status for all Cracidae genera, with all curassows in bold. EW = Extinct in the wild, CR = Critically Endangered, EN = Endangered, VU = Vulnerable, NT = Near Threatened, LC = Least Concern.

Genus	**EW**	**CR**	**EN**	**VU**	**NT**	**LC**	**Total**
Aburria					1		1
Chamaepetes					1	1	2
Crax		**2**	**3**	**3**			**8**
Mitu	**1**				**1**	**2**	**4**
Nothocrax						**1**	**1**
Oreophasis			1				1
Ortalis				1		14	15
Pauxi		**2**	**1**				**3**
Penelope		1	2	4		8	15
Penelopina				1			1
Pipile		1	1		1	2	5
Total	**1**	**6**	**8**	**9**	**4**	**28**	**56**

Capítulo 3

Leite, G.A., Peres, C.A. Ruíz-Garcia, M., Bersth, C., Hernanez, S., Tomas Hrbek, T. & Farias, I.P. Variabilidade e estruturação genética em populações de *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), utilizando marcadores mitocondriais e *SNPs*. Manuscrito formatado para *Conservation Genetics*

Variabilidade e estruturação genética em populações de *Crax globulosa* (Aves: Cracidae), utilizando marcadores mitocondriais e *SNPs*

Gabriel Augusto Leite[1], Carlos Augusto Peres[2], Manuel Ruíz-Garcia[3], Carolina Bersth[4], Sandra Hernandez[5], Tomas Hrbek[5], Izeni Pires Farias[5]*

[1] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Av. André Araújo, 2936, CEP 69067-375, Manaus, AM, Brazil.

[2] Centre for Ecology, Evolution and Conservation, School of Environmental Sciences, University of East Anglia, Norwich, NR4 7TJ, UK.

[3] Laboratorio de Genética de Poblaciones Molecular y Biología Evolutiva, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá DC, Colombia

[4] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

[5] Laboratório de Evolução e Genética Animal, Departamento de Genética, Universidade Federal do Amazonas, Av. Gen. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, CEP 69077-000, Manaus, AM, Brazil.

*Corresponding author: izeni@evoamazon.net

Resumo

A perda da variabilidade genética em espécies ameaçadas de extinção pode afetar a sobrevivência de futuras gerações dessas populações. *Crax globulosa* é uma espécie ameaçada de extinção, sendo a caça e a perda do habitat as principais ameaças. Apesar da importância para a conservação, pesquisas utilizando genética de populações em Cracídeos de vida livre são escassos. Neste trabalho, verificamos a diversidade e estruturação genética de populações de *Crax globulosa* da Amazônia brasileira e peruana, através do sequenciamento de dois genes mitotocondriais, *ND2* e *ND5* e análises genômicas com marcadores *SNPs*. Ao todo, foram utilizadas 53 amostras para análises do *mtDNA* e 18 para o DNA nuclear. A diversidade genética encontrada foi relativamente alta, com uma média de $\hat{H}$=0.909 para *mtDNA* e baixa para os *SNPs*, com uma média de *He*=0.497. A população da Amazônia peruana se mostrou geneticamente estruturada em relação as populações da Amazônia brasileira nas análises mitocondriais. No entanto, nas análises genômicas houve estruturação entre todas as populações. Os resultados mostram que as populações vêm perdendo variavilidade genética do passado ao presente e as populações, principalmente do Peru, devem ser tratadas com distinção em futuros planos de manejo e conservação da espécie.

Palavras-chave: conservação, manejo, diversidade genética, *mtDNA*, ddRADseq

Introdução

A diversidade genética pode ser avaliada pelas diferenças individuais detectadas tanto no fenótipo quanto no genótipo dos indivíduos de uma espécie, enquanto que a estrutura genética é determinada pela biologia da espécie, o meio ambiente e os processos evolutivos, tais como: a seleção natural, o fluxo gênico e a deriva genética (Slatkin 1987; Frankham *et al*. 2004). O grau de variabilidade genética a nível molecular é tipicamente descrito através dos níveis de polimorfismos, heterozigosidade e diversidade alélica (Frankham et al. 2002). A manutenção dos níveis de variabilidade genética das populações é um dos focos principais da genética da conservação, pois está associada a capacidade de adaptações das espécies ao meio ambiente, como a resistência a doenças, maior crescimento, taxas e estabilidade no desenvolvimento (Saccheri et al. 1998; Westemeier et al. 1998; Frankham et al. 2002).

O conhecimento da estrutura genética e dos níveis de fluxo gênico das populações são importantes parâmetros para a conservação das espécies. Em populações que não possuem uma diferença na estruturação genética, o fluxo gênico pode estar homogeneizando a composição genética, o que reduz essa diferença entre as populações, e assim o manejo entre elas é uma alternativa viável (Crochet 1996). Uma vez identificada que uma população é estruturada, a mesma pode ser tratada como uma unidade de manejo distinta a fim de que sejam elaboradas estratégias de conservação específica para essa localidade (Palsbøll et al. 2007; Schwartz et al. 2007.)

O mutum-piurí (*Crax globulosa*) pertence a família Cracidae da ordem Galliformes, uma das mais antigas linhagens das aves modernas (Claramunt e Cracraft 2015). É uma espécie endêmica do oeste da Amazônia, habita florestas de várzea e ilhas fluviais de alguns rios deste bioma (Sick 1997; del Hoyo et al. 2017). A espécie ocorre no Brasil, Peru, Colômbia, e Bolívia (Sick 1997; BirdLife Internacional 2017). No Brasil a espécie é encontrada principalmente nos rios Purus, Juruá, Solimões e Japurá, e no Peru, nos rios Napo, Maranon, Ucualy e Paztaza (Birdlife Internacional 2017; del Hoyo et al. 2017). Apesar da ampla distribuição geográfica, as populações são descontínuas e subpopulações são geralmente limitadas a <250 indivíduos (Brooks et al. 2006). Segundo a BirdLife Internacional (2017) a espécie está na categoria de "Em perigo de extinção", com a caça e a perda do habitat sendo os principais motivos para a redução populacional, que pode afetar a variabilidade genética e consequentemente aumentar as chances de extinção da espécie.

Para verificar a estrutura e variabilidade genética das populações e estabelecer as

relações entre os indivíduos de *Crax globulosa* foram usados os marcadores moleculares *ND2* e *ND5* (*mtDNA*) e *SNPs* (*nDNA*). O *mtDNA* têm um papel importante nos estudos filogenéticos e de genética de populações devido as suas características. Este, possui herança uniparental (linhagem materna) e ausência de recombinação e rearranjos genéticos (Avise *et al*. 1987); tem um alto nível de variabilidade e uma alta taxa de evolução de 5-10 vezes maior quando comparado com o *nDNA* (Brown *et al*. 1979).

Os *SNPs* (*Single Nucleotide Polymorphisms*) estão amplamente distribuídos no genoma e são as formas mais frequentes de variações genéticas. Possuem herança biparental e são bialélicos, sua alta densidade permite estudar a herança de regiões genômicas (Morin *et al*. 2004). Uma forma rápida e econômica de identificá-los é o *screening* de pequenos segmentos do genoma de vários indivíduos, que são adjacentes ao sítio de reconhecimento de uma enzima de restrição. Esses segmentos são conhecidos como *RADs* (*Restriction-Site Associated DNA*) e o seu desenvolvimento permite ter uma subamostra do genoma de regiões homólogas para a descoberta de milhares de *SNPs* e um alto rendimento na genotipagem de populações (Baird *et al*. 2008). Um dos métodos mais eficientes é o *ddRADseq* (*double digest RAD sequencing*), que consiste em gerar bibliotecas genômicas que possuem fragmentos obtidos mediante digestão com duas enzimas de restrição e que estão dentro de uma faixa de tamanho selecionada (Peterson et al. 2012).

Os genes *ND2* e *ND5* já foram usados em estudos anteriores em representantes da família Cracidae (Pereira et al. 2004) e o uso de *SNPs* é uma nova abordagem para estudos populacionais nesse grupo, pois a maioria dos estudos prévios utilizaram marcadores microssatélites (Hughes e Larson 2000; Pereira et al. 2004; Alvarez-Prada e Ruíz-Gracia 2015). Neste trabalho verificamos a diversidade e a estrutura genética das populações de *Crax globulosa* da Amazônia Brasileira e Peruana. Considerando que a espécie ocupa as regiões do sistema de várzea, testaremos a hipótese de que as populações de *C. globulosa* não sejam geograficamente estruturadas, uma vez que esse sistema funciona como um facilitador da dispersão e fluxo gênico entre algumas espécies de aves Amazônicas (Gascon et al 2000; Aleixo 2004).

Material e Métodos

Área de estudo

Amostras de *Crax globulosa* para a extração de DNA foram obtidas de quatro localidades no Brasil e uma na ilha do rio Maranõn no Peru (Figura 1). As localidades no Brasil incluíram as regiões no baixo rio Purus (Pu) na Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Piagaçu-Purus (4°11'25.98"S 61°43'48.93"O), a RDS Mamirauá (Ma) que fica entre os rios Solimões e Japurá (2°25'26.92"S 65°13'15.00"O) e o baixo (Jl) (3°31'18.24"S 66° 7'55.54"O) e médio rio Juruá (Jm) (5°46'28.49"S 67°46'20.96"O). No Peru (Pe) a ilha amostrada foi a Cacao a 30 km da cidade de Letícia na Colômbia (4° 2'46.83"S 70° 9'19.66"O).

As amostras foram obtidas através de coletas de sangue de indivíduos capturados, penas e tecido de indivíduos abatidos nas comunidades ribeirinhas da região. No total 53 amostras foram utilizadas para as análises do *mtDNA* e 18 amostras para análises genômicas (Tabela 1). Foi utilizado um número menor de amostras para as análises genômicas pelo fato de os *SNPs* estarem amplamente distribuídos no genoma e são as formas mais frequentes de variações genéticas, portanto poucas amostras de boa qualidade de uma população podem fornecer dados suficientes para análises genômicas. Outro fato, é que a maioria das amostras da população de Mamirauá eram provenientes de animais formalizados, o que prejudicou a obtenção de DNA de boa qualidade para os *SNPs*. O DNA extraído foi suficiente para a amplificação dos genes mitocondriais mas não para a construção da biblioteca genômica.

DNA mitocondrial

O DNA genômico (*gDNA*) total foi extraído usando o protocolo de CTAB 2% (Doyle e Doyle 1987). A qualidade da extração foi analisada através da eletroforese horizontal em gel de agarose 1% e tampão TBE. Os DNAs genômicos foram quantificados no espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) para verificar a concentração e qualidade das amostras.

Amplificação e sequenciamento

Os fragmentos mitocondriais foram amplificados através da reação em cadeia da polimerase (PCR) usando os primers específicos para a espécie ND2 F260 (5'-ACAACAGCAATCGCAATCAA-3'), ND2 R700 (5'-GGCCTGCTAGGGAGAGTAGG-3'), ND5 L (5'-CCTACATCGTACCCGCAAAA-3')

e ND5 H (5'-GGGAGGTCGATTAGGGAGTT-3'). O produto de PCR foi purificado com ExoSAP-IT seguindo o protocolo do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando-se o Kit BigDye e protocolo do fabricante. As sequências foram resolvidas em sequenciador ABI 3500 (Life Technologies), editadas e alinhadas no programa Geneious (versão 11.0.2). Elas foram traduzidas em aminoácidos usando o programa MEGA ver.6 (Tamura et al. 2013) para verificar a presença de códons de parada.

Análises genéticas (*mtDNA*)

Para estimar os níveis de diversidade genética foram usadas duas medidas: a diversidade gênica ou haplotípica ($\hat{H}$), que representa a probabilidade de que duas sequências escolhidas aleatoriamente sejam diferentes (Li 1987; Nei 1987), e a diversidade nucleotídica (π), que faz referência à probabilidade de que dois sítios homólogos (nucleotídeos) escolhidos ao acaso sejam diferentes (Tajima 1983; Nei 1987). Esses parâmetros foram estimados através do programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010).

A diferenciação entre e dentro das localidades estudadas, foi estimada mediante a análise de variância molecular (AMOVA), que se baseia na variância das frequências gênicas levando em consideração o número de mutações entre haplótipos. Os grupos são definidos a priori e é realizada uma análise hierárquica dos componentes da variância devido a diferenças entre indivíduos, e entre ou dentro das populações, calculando o índice Φ_{ST}, análogo ao índice de fixação (*Fst*) (Excoffier et al. 1992). O Φ_{ST} par a par foi usado para medir a quantidade de diferenciação genética entre populações. Uma estimativa aproximada do fluxo gênico (*Nm*) entre as localidades amostradas foi calculado a partir do *Fst* através do modelo de migração-ilhas, em que $Fst = 1/(Nm + 1)$. Ambas as análises foram implementadas no programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010).

Adicionalmente, a estrutura genética das populações também foi inferida através do método que estima a formação de grupos biológicos baseado em um modelo Bayesiano implementado no programa BAPS v.6.0 (Bayesian Analysis of Population Structure) (Corander et al. 2003; Corander et al. 2008). Esta análise utiliza um algoritmo de busca estocástica que calcula a distribuição posterior dos parâmetros do modelo condicionados pelos dados observados, nesse caso as frequências nucleotídicas das sequências de DNA. Para determinar o número de populações mais provável (K),

foi realizada uma análise de mistura de populações. O K é incluído como parâmetro a ser estimado e a melhor partição (número de *clusters*) dos dados é identificada como a de maior probabilidade.

A hipótese de isolamento por distância foi testada mediante análise da relação entre distâncias genéticas (Φ_{ST}) e geográficas (calculadas medindo a distância em linha reta e seguindo o curso dos rios), utilizando o teste de Mantel (Mantel 1967). Foram feitos dois testes: o primeiro com todas as localidades; o segundo retirando a localidade do Peru, dado que ela pertence a uma ilha. As análises foram realizadas no programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010).

A rede de haplótipos foi gerada para visualizar as relações genealógicas entre os indivíduos usando o programa HaploViewer (Salzburger et al. 2011). O programa converte as árvores geradas a partir de métodos de reconstruções filogenéticas tradicionais em genealogias de haplótipos. As árvores foram criadas no programa TreeFinder v.2011 (Jobb et al. 2004), usando o modelo de substituição mais apropriado e 200.000 réplicas.

A demografia histórica da população foi estimada através das análises de *mismatch distribuition* em 2 diferentes passos: no programa DnaSP v5 (Librado e Rozas 2009), onde as distribuições de diferenças par a par são comparadas com uma distribuição esperada sob um modelo nulo de uma população estacionária, e no programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010), que estima o desvio das somas-de-quadrado (SSD) e o índice de Harpending (Harpending 1994), com significância testada através de 10.000 permutações sob o modelo nulo da população em expansão.

Para testar a seleção neutral e o equilíbrio genético das populações foram usados os testes de *D* de Tajima (Tajima 1989) e *Fs* de Fu (Fu 1997). Os dois se baseiam no modelo de sítios infinitos sem recombinação que é apropriado para sequências curtas de DNA. O modelo assume que os sítios ao longo de uma sequência de DNA sofrem mutações independentes dado que atuam sobre sítios que previamente não tinham sido afetados (Kimura 1969). A significância dos valores para ambos os testes pode indicar que as sequências não estão evoluindo neutralmente e que outros fatores podem estar afetando as populações como resultado de algum evento demográfico ou heterogeneidade nas taxas de mutações. Especialmente, a estatística *Fs* de Fu é muito sensível à expansão demográfica populacional e ao efeito carona (hitchhiking), gerando valores negativos (Fu 1997). No caso do *D* de Tajima, valores negativos estão

relacionados com expansão demográfica (por exemplo, depois de um gargalo populacional recente), eventos fundadores ou efeito carona, enquanto que valores positivos podem estar relacionados com seleção balanceadora e subdivisão ou contração populacional (Tajima 1989). Os dois testes foram realizados no programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010).

Utilizamos o programa BEAST (Drummond e Rambaut 2007) para obter estimativas independentes do parâmetro de diversidade θ e investigar padrões de mudanças no tamanho efetivo populacional ao longo da história coalescente das populações de *Crax globulosa*. As mudanças no tamanho efetivo populacional foram inferidas através de *plots* da *skyline bayesiana* (Bouckaert et al. 2014). As análises foram corridas por 100 milhões de gerações com o descarte das 10 milhões de amostras iniciais, amostrando todas as milhares de topologias. A convergência de todos os parâmetros foi avaliada por meio do programa TRACER (Drummond e Rambaut 2007). O número de corridas foi otimizado para obter o mínimo de 200 árvores independentes, expressadas pelo tamanho de amostras efetivas (ESS) no programa TRACER.

Para avaliar o fluxo de genes entre as localidades amostradas, realizamos uma análise de máxima verossimilhança com o programa MIGRATE-N (Beerli e Palczewski 2010). Nós corremos 10 cadeias curtas, amostrando cada cadeia 10.000 vezes, e depois 6 cadeias longas, amostrando cada cadeia 1.100.000 vezes e descartando as primeiras 100.000 amostras. Nesta análise, o parâmetro genético da população theta (θ) foi utilizado para estimar o tamanho efetivo da população de fêmeas (*Nef*) e assumindo uma taxa de mutação em 2,1% por milhão de anos para genes de *mtDNA* (Wier e Schluter, 2007).

DNA genômico

Construção de biblioteca genômica

Para a construção da biblioteca o método utilizado foi baseado por Peterson et al. (2012) com adaptações e modificações da metodologia proposta por Martínez et al. (2016).

Análises Genômicas

Diversidade genética e estrutura populacional

Através do programa *PGDSpider* (Lischer e Excoffier 2012), o arquivo gerado do sequenciamento genômico foi transformado no formato específico para correr no

programa *Arlequin* ver. 3.5.1.3 (Excoffier e Lischer 2010). Semelhante à análise com o banco de dados do *mtDNA* foi feita uma AMOVA e o nível de estruturação das populações foi estimado através da comparação par a par dos valores de *Fst*, também foi realizada a análise do coeficiente de endogamia de um indivíduo relativo a subpopulação (*Fis*). A heterozigosidade esperada (*He*) e observada (*Ho)* foi computada separadamente para cada população. O isolamento por distância foi testado mediante o teste de Mantel. As taxas de migração (*Nm*) relativa bidirecional foram calculadas usando a função online divMigrate no pacote em R diveRsity (Keenan et al. 2013). Aplicou-se *Bootstrapping* de 1.000 interações para gerar intervalos de confiança de 95% e para determinar se a migração é significativamente maior em uma direção do que em outra.

Análise Bayesiana de estrutura genética

Foi utilizado o programa *Structure* v. 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) para identificar a estrutura populacional a partir de genótipos multilocos. O programa assume que grupos biológicos são grupos de indivíduos em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Essa estimativa é feita mediante um algoritmo de agrupamento baseado em um modelo Bayesiano que calcula a probabilidade posterior para diferentes números de grupos usando o modelo de mistura (*admixture model*) e frequências alélicas correlacionadas (*correlated allele frequencies*). O primeiro modelo assume que os indivíduos podem ter uma ancestralidade misturada, ou seja, que sua herança genética pode ser derivada de mais de uma população; o segundo modelo considera que as frequências alélicas de populações relacionadas, são similares (Falush et al. 2003).

O programa foi implementado com os seguintes parâmetros: 100.000 gerações de "*burn-in*", 1.000.000 de gerações de cadeia de Markov e Monte Carlo (MCMC) para cada *K*. As simulações foram repetidas dez vezes para cada *K*, calculando a proporção de atribuição (Q) das localidades amostradas nos grupos detectados e o coeficiente individual de agrupamento (*q*: proporção do genoma ancestral em cada indivíduo no grupo). Esses resultados foram importados para o programa *Structure Harvester* (Earl e vonHoldt 2012), onde o número ótimo de grupos biológicos foi determinado pelo método de Evanno (Evanno et al. 2005). Os resultados foram permutados no programa *CLUMPP* (Jakobsson e Rosenberg 2007). Por fim, as matrizes de cada valor de *K* foram visualizadas no programa *DISTRUCT* (Rosenberg 2004).

Resultados

Diversidade genética e estrutura das populações (*mtDNA*)

Foram analisadas 53 sequências dos genes *mtDNA ND2 e ND5*, os quais foram concatenados em um fragmento com um tamanho de 844 pb. Não foram observados códons de parada, inserções, deleções nem outras anomalias. As sequências mostraram 36 sítios polimórficos e um total de 34 haplótipos (Tabela 2). Níveis altos de diversidade genética foram encontrados em todas as populações ($\hat{H}$=0,814 – 1,000), e consequentemente a diversidade gênica total foi também alta ($\hat{H}$ = 0,909 ± 0,094). Porém, as diversidades nucleotídicas foram baixas em todas as populações (0,002158 - 0.003796) assim como a diversidade nucleotídica total (0,002918).

A análise da variância molecular (AMOVA) mostrou que existe um alto nível de diferenciação genética entre as localidades amostradas (Φ_{ST} = 0,277 $p < 0,0001$), onde 27,77% da variação é distribuída entre as populações. Este resultado foi confirmado pelas comparações em pares dos valores de Φ^{ST}, que foram significativos para todas as comparações envolvendo a população do Peru (Tabela 3). As comparações envolvendo as localidades da Amazônia brasileira não foram significativas. Esses resultados também são corroborados pelas comparações par a par dos valores de *Nm*, que foram inferiores a 1 para todas as comparações envolvendo indivíduos na localização do Pe (Tabela 3).

Os resultados do fluxo gênico bidirecional das análises no MIGRATE-N mostraram maior conectividade genética entre os indivíduos das localidades do Brasil e um fluxo de genes restrito entre o Peru e o Brasil (Tabela 4). É possível observar a direção do fluxo gênico entre as localidades em que os valores acima de 1 foram intensos entre indivíduos de localidades do Brasil, por outro lado, os indivíduos da localidade do Pe exibiram valores de imigrantes apenas com Ma e valores de emigrantes com a localidade de Jl.

As distâncias entre as localidades em linha reta estiveram entre 145 e 920 km. O teste de correlação entre distâncias geográficas e genéticas, não foi significativo (0,426, p = 0,248). No entanto, as distâncias entre as localidades pelos rios foram maiores, entre 280 a 1577 km e o teste de correlação foi significativo (0,582, $p < 0,04$) mostrando um padrão de isolamento por distância. Retirando a localidade do Peru o teste não foi significativo para as populações da Amazônia brasileira, tanto em linha reta ou seguindo o curso dos rios (0,599, p = 0,151; 0,431, p = 0,332).

O número de grupos biológicos estimado pelo programa BAPS foi de $k = 3$ (p =

0,999). Eles correspondem ao grupo azul, que ocorre apenas na população do Peru, e grupos verde e vermelho, que se distribuem em todas as populações, apresentando um padrão de mistura (miscigenação), entretanto, indicando uma falta de subestruturação geográfica (Figura 2).

Dos 34 haplótipos observados, quatro foram os mais representativos e o restante foi encontrado só em um indivíduo ou no máximo dois, mostrando uma grande quantidade de haplótipos raros. A rede de haplótipos revela que provavelmente o haplótipo H1 é o mais ancestral. Os haplótipos H1 e H2 foram os mais frequentes nas populações de *Crax globulosa* dentro do Brasil. H1 inclui pelo menos um indivíduo de cada localidade do Brasil. O haplótipo H4 foi exclusivo para os indivíduos do Peru.

Demografia Histórica

O teste de neutralidade *D* de Tajima não foi significativo para nenhuma população, enquanto que o *Fs* de Fu foi significativo para as populações do Jl, Ma e Pu (Tabela 2). Quando analisadas todas as localidades, o teste *D* não foi significativo (D = -0,370, $p > 0,05$), enquanto o *Fs* foi significativo (Fs = -3,020, $p < 0,05$). Os resultados do teste de *mismatch distribuition* realizado no software DnaSp v5 (Librado e Rozas 2009) para a localidade do Peru apresentou uma curva multimodal que se adapta a distribuição esperada de tamanho populacional constante (Figura S1), entretanto para a amostragem da Amazônia brasileira apresentou uma curva unimodal sugerindo uma expansão populacional (Figura S2). Nas localidades individuais não houve diferenças observadas (Tabela 2). O *mismatch distribuition* realizados no *Arlequin* ver.3.5.1.3 (Excoffier e Lischer, 2010) com o modelo nulo da súbita expansão da população foi rejeitado, tanto os modelos observado e esperado indicaram a regularidade do tamanho da população (Tabela 2). O resultado da análise no *Skyline plot* indicou constância no tamanho efetivo populacional ao longo do tempo para as duas mega regiões. A diversidade genética obtida das populações do Peru recuperaram uma constância populacional de 38 mil anos até o presente, e para as populações do Brasil a estabilidade populacional foi de 1.4 mil anos até o presente. As estimativas do tamanho efetivo populacional de fêmeas (*Nef*) por amostragem populacional foram altas. Para as populações do Peru se estimou um total de 117.142 indivíduos, e para as populações do Brasil a estimativa foi de 667.718 indivíduos (Tabela 2).

DNA genômico

Para gerar o arquivo usado nas análises posteriores, foi usado o componente *Populations* do *Stacks*, no qual foi estabelecido que para a escolha dos *SNPs*, eles deviam estar presentes em pelo menos 90% dos indivíduos (-r 0.90), a frequência dos seus alelos devia ser maior que 1% e só devia ser anotado um único *SNPs* por locus. Assim, o arquivo final continha 862 *SNPs*.

Diversidade genética e estrutura populacional

A análise global de variância molecular (AMOVA) mostrou que existe uma pequena diferenciação genética entre as localidades amostradas, ela não foi significativa (*Fst* = 0,054, p = 0,886), onde apenas 5.4% da variação está distribuída entre as populações. Na comparação par a par, apenas as populações do Pu e Jm tiveram uma diferença significativa (Tabela 5), embora o índice entre a população do Pe e as populações de Jl e Jm foram maiores que 0,22. A média do coeficiente de endogamia das populações de *Crax globulos*a revelou um alto nível de reprodução entre parentes *(Fi*s = 0,888, p < 0,001). A análise da diversidade genética, mostrou que o nível *Ho* foi menor que a *He* nas populações (Tabela 6).

O programa *Structure*, utilizado para determinar o número de grupos biológicos mais prováveis, identificou seis grupos biológicos, com um certo grau de mistura entre as localidades. Entretanto, considerando-se os valores de atribuição (q) para cada população, pode-se inferir que cada população apresenta-se estruturada. A população do Pe possui $q > 0,73$ para o grupo amarelo (Pe). A população do Jl apresentou atribuição de $q > 0,76$ para o grupo rosa. Já a população do Pu apresentou $q > 0,84$ com predominância para o grupo vermelho. A população do Jm foi a mais misturada apresentando menores valores de atribuição, sendo composta de $q > 0,35$ para o grupo azul, $q > 0,31$ para o grupo verde, e $q > 0,18$ para o grupo rosa.

O teste de Mantel, para uma análise de correlação entre distância geográfica e genética não foi significativo tanto em linha reta (-0,261, p = 0,395) quanto pelo curso dos rios (-0,448, p = 0,711), quando as localidades foram analisadas juntas. Os resultados do fluxo gênico bidirecional das análises no divMigrate-online mostraram que existe pouca conectividade genética entre os indivíduos das quatro localidades com valores de taxa relativa de *Nm* menor que 60% em quase todas as populações (Tabela 7). Apenas as populações do Jl e Jm tiveram o valor próximo a 100% (Figura S3).

Discussão

Diversidade genética: *mtDNA* x *SNPs*

Este é o primeiro estudo de genética da conservação de *C. globulosa* envolvendo as populações do Brasil, que é considerado a localidade com maior número de indivíduos entre os países onde a espécie ocorre (BirdLife Internacional 2017). Ainda que o número relativamente pequeno de amostras da população do Peru possa gerar alguma variação nos resultados, é preciso considerar que a coleta de amostras viáveis de uma espécie rara e ameaçada é relativamente complicada. *Crax globulosa* é uma espécie arisca e muito perseguida por caçadores, sempre voa para longe quando algum humano se aproxima (Leite com. pessoal). A tentativa de captura para coleta de material biológico é um trabalho árduo, e ainda se soma ao fato da espécie viver na várzea, onde pelo menos de 4 a 6 meses por ano a floresta fica alagada.

Os níveis de diversidade genética obtidos pelo *mtDNA* mostraram uma alta diversidade genética nas populações estudadas de *Crax globulosa* com os marcadores mitocondriais, porém para os *SNPs* a *He* foi considerada de média para baixa. Em comparação com as populações da Colômbia e Peru, a diversidade haplotípica total do *mtDNA* foi menor que a encontrada nessas populações (H = 1 +/- 0,034) (Alvarez-Prada e Ruíz-Gracia 2015). Análises utilizando marcadores microssatélites em indivíduos de cativeiro de *C. globulosa* nos EUA, também encontraram uma alta diversidade (H = 0,71) (Hughes e Larson 2000).

Existem poucos estudos com diversidade genética de populações naturais de cracídeos. No Brasil, um estudo com *Crax fasciolata* verificou que não houve diferença na diversidade genética entre uma população de vida livre na região do rio Paraná no estado de São Paulo e uma de cativeiro (He = 0.68), utilizando somente três loci de microssatélites (Gonçalves et al. 2010). Contudo, é provável que as populações selvagens desta espécie tenham tido uma perda da diversidade genética principalmente devido a redução do tamanho da população causado pela fragmentação do habitat nas últimas décadas no estado de São Paulo (Pereira e Wantjal 2001). No presente trabalho o nível de *Ho* nos *SNPs* foi menor que a *He*, uma das causas dessa diferença pode ser o alto nível de endogamia dentro das populações, onde o alto valor encontrado no coeficiente de endogamia (*Fis*) pode explicar essa hipótese. Outra razão é que a *Ho* leva em consideração o *n* amostral, enquanto a *He* não é afetada pela quantidade de amostras, por isso é o valor mais apropriado para se considerar no índice de diversidade genética (Frankham et al. 2004).

Embora *Crax globulosa* esteja passando por um processo recente de redução populacional devido a constante caça e perda do habitat (BirdLife Internacional 2017), a espécie ainda mantêm uma diversidade genética alta (*mtDNA*), possivelmente devido aos grandes tamanhos populacionais que existiam antes dessas ameaças. De fato os resultados obtidos evidenciaram que as populações de *Crax globulosa* possuem um tamanho efetivo populacional grande (Tabela 2), e que historicamente as populações não passaram por mudanças em seu tamanho efetivo populacional nos últimos 38 mil anos para as populações do Peru, e 1.4 mil anos para as populações do Brasil. Os índices de diversidade genética e de valores significativamente negativos em *Fs* de Fu ($p < 0,05$) foram observados para indivíduos das populações do Jl, Ma, Pu e todas as localidades juntas, o que indica que as populações nestas localidades estão ou podem estar sofrendo uma recente expansão populacional. A estatística *Fs* é mais sensível para a detecção de expansão da população e leva em conta a influência do tamanho da amostra na análise (Ramos-Onsins e Rozas 2002).

Outro motivo que pode aumentar a diversidade genética dentro das espécies é o fato de ela poder ser poligâmica. Anteriormente, os cracídeos eram considerados monogâmicos (Sick 1997; Delacour e Amadon 2004), no entanto, com observações em campo, foi verificado que elas possuem o comportamento de poliginia, que se caracteriza por um único macho acompanhado por duas ou mais fêmeas (Buchholz 1991; Strahl et al. 1997). Embora a poliginia possa reduzir a diversidade genética devido aos efeitos negativos no tamanho efetivo populacional (Briton et al. 1994), estudos recentes mostraram que esse sistema de acasalamento pode aumentar a diversidade genética, devido a escolha das fêmeas por machos mais saudáveis e competitivos (Slate et al. 2000; Pérez-González et al. 2009).

Estrutura populacional: *mtDNA* x *SNPs*

Nas nossas análises de *mtDNA*, podemos observar a existência de um padrão de distribuição da diversidade genética nas populações de *Crax globulosa*, onde a população do Peru se difere das demais do Brasil, enquanto nas análises com *SNPs* o padrão de estruturação foi muito maior, onde todas as populações apresentaram níveis de estruturação genética diferenciados. Para os dados de *mtDNA* o isolamento por distância parece ser a causa da diferenciação genética entre a amostragem do Peru e as do Brasil quando a análise é realizada utilizando o curso dos rios, pois a espécie é conhecida por habitar somente áreas inundáveis nas margens de rios, lagos e ilhas

fluviais (Hill et al. 2008; Luna-Maira et al. 2013). Um trabalho realizado com as populações de ilhas no Peru e Colômbia utilizando sequências do gene *ND2* e microssatélites foi encontrada uma moderada estruturação genética entre as localidades com *Fst*=0.17 para *mtDNA* e baixa para os microssatélites com *Fst*=0.027 (Alvarez-Prada e Ruíz-Gracia 2015). Em nosso presente estudo com marcadores mitocondriais, não identificamos estruturação entre as localidades do Brasil, somente entre estas e a do Peru. Diferentemente, para os resultados de *SNPs* a distância geográfica parece não ser a causa das diferenciações populacionais.

Então, qual a causa da estrutura populacional entre a amostragem da Amazônia peruana e as localidades da Amazônia brasileira com marcadores mitocondriais e uma maior estruturação com *SNPs*? Os resultados do teste de Mantel para os dados de *mtDNA* mostraram que o isolamento por distância é um significante fator da estruturação. A média das distâncias entre a localidade da ilha na Amazônia peruana para a localidades do Brasil foi de 1.175 km.

Nesse sentido, qual outro fator poderia estar contribuindo para a diferenciação observada? Os dados obtidos com *mtDNA* recuperaram os padrões genéticos mais pretéritos das populações, já os dados com os *SNPs* evidenciaram que a estruturação observada no passado aumentou ainda mais neste período contemporâneo. Esses dados podem indicar que a estruturação observada com os dados de *SNPs* pode estar relacionada a perda de habitat e caça que a espécie vem sofrendo ao longo dos anos, reduzindo o fluxo gênico entre essas localidades, como foi observado nas estimativas no divMigrate-online. As populações das ilhas do Peru e Colômbia mostraram divergência na estruturação nos genes nucleares embora pequena (Alvarez-Prada e Ruíz-Gracia 2015), podendo ser efeito também da caça e da fragmentação. Outro fator que pode corroborar é que algumas localidades onde *Crax globulosa* era conhecida, como o alto rio Madeira ou ao longo do médio rio Solimões, atualmente a espécie é considerada extinta devido a caça e perda do habitat, levando a um processo de fragmentação das populações (BirdLife Internacional 2017), o mesmo processo pode ser observado atualmente no médio Juruá, onde a espécie é considerada rara próximo ao município de Carauari, devido a caça para o consumo e venda da carne no município e a retirada da cobertura vegetal ao longo das margens do rio e igarapés.

Adicionalmente, no caso dos resultados obtidos pelos dados de *mtDNA*, a hipótese para a estrutura populacional entre a amostragem da Amazônia peruana e a brasileira pode ser devido as diferenças no sistema de várzea nestas duas regiões, sendo

que as regiões onde estão localizadas as populações amostradas no Brasil estão dentro das áreas onde a várzea tem a sua maior amplitude pela drenagem dos grandes tributários do rio Amazonas (Schöngart e Junk 2007), o que pode facilitar o fluxo gênico entre essas populações, enquanto que a população do Peru habita uma floresta de várzea menor e mais restrita, além disso, considerando que estamos lidando com fêmeas, talvez este resultado indique que as fêmeas são mais filopátricas do que os machos. A amplitude do sistema da várzea diminui nas partes oriental e ocidental da bacia (Junk et al. 2011) podendo dificultar a dispersão desses indivíduos, e adicionalmente neste ambiente os indivíduos estão distribuídos em ilhas. Outro fator importante é a dinâmica desse sistema de cheia e seca, que favorece o surgimento de novas ilhas nos rios e a aproximação dessas ilhas com a margem oposta, possibilitando o contato dessas populações que estavam separadas e consequentemente o fluxo gênico.

Como já mencionado no caso dos resultados genéticos obtidos pelo *mtDNA*, as amostragens nas regiões de várzea da Amazônia brasileira não apresentaram diferenciação genética com o marcador de linhagem materna, mesmo entre localidades separadas pelo rio Amazonas. As regiões amostradas compõem regiões de grande influência do sistema da várzea. Aleixo (2004), também utilizando marcadores mitocondriais, não encontrou diferenças genéticas em populações de aves nestas regiões, sugerindo que a idade recente das terras baixas do oeste da Amazônia, em torno de 2,5 milhões de anos (Hoorn et al. 1995; Campbell et al. 2001) seria a melhor explicação. Os rios do oeste da Amazônia sendo mais novos e parte do sistema da várzea facilitariam a migração e o fluxo gênico entre as populações, com isso a fixação de haplótipos únicos para cada população pode levar mais tempo. As populações do Brasil parecem ser as mais ancestrais devido ao compartilhamento de um dos haplótipos mais comuns, geograficamente é o grupo mais amplamente distribuído e na configuração da rede de haplótipos, aparece como o centro da rede a partir da qual se derivam os outros três haplótipos mais frequentes. A população do Peru possui haplótipos exclusivos, talvez devido ao efeito fundador das populações que colonizaram mais ao oeste da Amazônia, efeito este que pode ter levado à fixação destes haplótipos. Porém, populações não amostradas, como da Bolívia no rio Negro e Colômbia no rio Caquetá poderiam esclarecer melhor este cenário.

Implicações para a Conservação

Dados moleculares podem ser uma ferramenta muito importante para a

conservação de espécies ameaçadas, pois permitem identificar populações estruturadas e consequentemente unidades evolutivas significativas e unidades de manejo (Moritz 1994; Crandall et al. 2000; Fraser e Bernatchez 2001; Palsbøll et al. 2007). A identificação de populações biológicas e o conhecimento da escala geográfica na qual as populações são demograficamente ligadas ou independentes são importantes para o monitoramento e manejo das espécies (Moritz 1994; Palsbøll et al. 2007). Sob uma perspectiva de conservação, as populações do Brasil (Purus, Mamirauá e Juruá) e Peru representam duas unidades distintas de acordo com os resultados dos genes mitocondriais, e as populações do Brasil também se mostraram distintas na análise com os *SNPs* com base nos critérios de Moritz (1994). Então, sugerimos que futuras estratégias para conservação das populações de *C. globulosa* manejem essas unidades separadamente, uma vez que apresentam estruturas genéticas distintas.

Embora a diversidade haplotípica seja considerada alta, possivelmente devido a estimativa do tamanho efetivo das populações de fêmeas em 117.142 indivíduos para a amostragem do Peru e 667.718 indivíduos para as populações do Brasil. A *He* encontrada foi média para baixa. Desta maneira, o monitoramento das populações é essencial para que esse índice não reduza mais colocando essas populações em riscos adicionais. Além disso, nossos dados sugerem que outros fatores mais atuais, tais como caça e perda de habitat sobre a espécie podem ter sido responsáveis pela estruturação das subpopulações observada pelos marcadores mais variáveis (*SNPs*).

Crax globulosa é atualmente considerada “em perigo de extinção”. No entanto, não existem dados sobre o efeito da exploração da espécie, não há dados históricos sobre a taxa do seu consumo, e no Brasil existem poucos trabalhos a respeito da sua biologia, como distribuição, abundância, e uso do habitat (Leite et al. 2017). Em conclusão, existe uma necessidade urgente para mais estudos sob todos os aspectos da biologia desta espécie, além de proposta para criação de uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, com *Crax globulosa* atuando como uma espécie guarda-chuva para esse ambiente tão ameaçado e desprotegido da Amazônia.

Agradecimentos

Nós agradecemos a FAPEAM e CNPq pela bolsa concedida, ao Darwin Initiative Project (DEFRA – UK, Ref. No.16-001) pelo suporte financeiro e Neotropical Bird Club pelo grant. Ao Instituto Mamirauá por ceder amostras. Aos comunitários da região do baixo e médio Juruá pela ajuda na coleta do material biológico.

Referências Bibliográficas

Aleixo A (2004) Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of amazonian diversification. Evolution 58:1303–1317 doi:10.1554/03-158

Alvarez-Prada D, Ruiz-García M (2015) Population genetics of the endangered Wattled Curassow (*Crax globulosa*, Cracidae, Aves) of the Colombian–Peruvian Amazon using DNA microsatellites and ND2 mitochondrial sequences. *Stud Neotrop Fauna Environ* 50:1–16. doi:10.1080/01650521.2015.1048615

Avise JC (2004) Molecular markers, natural history, and evolution (Second Edition). Sunderland, UK: Sinauer Associeates.

Beerli P, Palczewski M (2010) Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. Genetics 185:313–326. doi:10.1534/genetics.109.112532

Birdlife International (2017) Species factsheet: *Crax globulosa*. Cambridge, UK: BirdLife International. <http://www.birdlife.org/datazone/species/factsheet/22678537> (accessed on 27 September 2017).

Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu C-H, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ (2014) BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. PLoS Comput Biol 10:e1003537

Briton J, Nurthen RK, Briscoe DA, Frankham R (1994) Modelling problems in conservation genetics using *Drosophila*: consequences of harem. Biol Conserv 69:267–275. doi:10.1111/j.1365-294X.1994.tb00079.x

Brooks DM, Cancino L, Pereira SL (2006) Conserving Cracids: the most Threatened Family of Birds in the Americas. Houston, TX: Misc. Publ. Houston Mus. Nat. Sci.

Brown WM, George Jr M**,** Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. PNAS 76:1967–1971.

Buchholz R (1991) Older males have bigger knobs: correlates of ornamentation in two species of curassow. Auk 108:53–160.

Campbell KE, Heizler M, Frailey CDF, Romero-Pittman L, Prothero DR (2001) Upper Cenozoic chronostratigraphy of the southwestern Amazon basin. Geology 29:595–598. doi:10.1130/0091-7613(2001)029<0595:UCCOTS>2.0.CO;2

Claramunt S, Cracraft J (2015) A new time tree reveals Earth history's imprint on the

evolution of modern birds. Sci Adv 1: e1501005-e1501005. doi:10.1126/sciadv.1501005

Corander J, Marttinen P, Sirén J, Tang J (2008) Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations. BMC Bioinformatics 9:539. doi:10.1186/1471-2105-9-539

Corander J, Waldmann P, Sillanpaa MJ (2003) Bayesian Analysis of Genetic Differentiation Between Populations. Genetics 163:367–374. doi

Crandall KA, Bininda-Emonds ORP, Mace GM, Wayne RK (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. Trends Ecol Evol 15:290–295. doi:10.1016/S0169-5347(00)01876-0

del Hoyo J (2017) Guans, Chachalacas, Curassows (*Cracidae*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, DA. and de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Barcelona, Spain: Lynx Edicions. <http://www.hbw.com/node/52217> (accessed on 19 September 2017).

del Hoyo J, Kirwan GM, Christie DA (2017) Wattled Curassow (*Crax globulosa*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D. A. and de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Barcelona, Spain: Lynx Edicions. <http://www.hbw.com/node/53315> (accessed on 19 September 2017).

Delacour J, Amadon D (2004) *Curassows and Related Birds*. Barcelona, Spain: Lynx Edic.

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull 19:11–15. doi

Drummond AJ, Rambaut A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evololutionary Biology **7**:214. doi:10.1186/1471-2148-7-214

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131:479–491. doi

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Mol. Ecol. Resour 10: 564–567. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x

Frankham R, Briscoe DA, Ballou JD (2002) *Introduction to conservation genetics*. Ney York, USA: Cambridge University Press.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2004) A primer of conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK. doi:10.1017/CBO9780511817359

Fraser DJ, Bernatchez L (2001) Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. Mol. Ecol 10:2741–2752. doi:10.1046/j.0962-1083.2001.01411.x

Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics 147:915–925.

Futuyma DJ (1998) *Evolutionary Biology*. Sunderland, UK: Sinauer Associates.

Gascon C, Malcolm JR, Patton JL, Silva MNF, Bogart JP, Lougheed SC, Peres CA,Neckel S, Boag PT (2000) Riverine barriers and the geographic distribution of Amazonian species. Proc Natl Acad Sci USA 97:13672–13677.

Gonçalves EC, Ferrari SF, Bastos HB, Wajntal A, Aleixo A, Schneider MPC (2010) Comparative genetic diversity of wild and captive populations of the bare-faced curassow (*Crax fasciolata*) based on cross-species microsatellite markers: implications for conservation and management. Bioch Genet 48:472–479. doi:10.1007/s10528-010-9330-7

Hill DL, Aranibar-Rojas H, Macleod R (2008) Wattled Curassows in Bolivia: abundance, habitat use, and conservation status. J Field Orn 79:345–351. doi:10.1111/j.1557-9263.2008.00193.x

Hoorn C, Guerrero J, Sarmiento GA, Lorente MA (1995) Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. Geology 23:237–240. doi:10.1130/0091-7613(1995)023<0237:ATAACF>2.3.CO;2

Hughes CR, Larson ED (2000) Characterization of microsatellite loci developed for the Wattled Curassow, *Crax globulosa*. Mol Ecol 9:629–644. doi:10.1046/j.1365-294x.2000.00882-2.x

Jobb G, von Haeseler A, Strimmer K (2004) Treefinder: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. BMC Evol Biol 4:18. doi:10.1186/1471-2148-4-18

Junk WJ, Piedade MTF, Schöngart J, Cohn-Haft M, Adeney JM, Wittmann F (2011) A Classi cation of major naturally- occurring amazonian lowland wetlands. Wetlands 31:623–640. doi:10.1007/s13157-011-0190-7

Keenan K, McGinnity P, Cross TF, Crozier WW, Prodöhl PA (2013) diversity: An r package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. Methods Ecol Evol 4:782–788.

Kimura M (1969) The number of heterozygous nucleotide sites maintained in a finite population due to steady flux of mutations. Genetics 61:893–903. doi

Li WH (1987) *Molecular Evolution*. Sunderland, UK: Sinauer Associates.

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25:1451–1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187

Luna-Maira L, Alarcón-Nieto G, Haugaasen T, Brooks DM (2013) Habitat use and ecology of Wattled Curassows on islands in the lower Cauetá River, Colombia. *J Field Orn* 84:23–31. doi:10.1111/jofo.12002

Lynch M (2007) The origins of genome architecture. Sunderland, UK: Sinauer Associeates.

Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209–220. doi

Martínez JG, Caballero-Gaitán SJ, Sánchez-Bernal D, Assunção EN, Astolfi-Filho S, Hrbek T, Farias IP (2016). De novo SNP markers development for the Neotropical gilded catfish *Brachyplatystoma rousseauxii* using next-generation sequencing-based genotyping. Conser Genet Res 8:415-418. doi:10.1007/s12686-016-0584-1

Mayr E (1942) *Systematics and the Origin of Species*. New York, USA: Columbia University Press.

Moritz C (1994) Defining "Evolutionarily Significant Unit" for conservation. Trends Ecol Evol 9:373–375. doi:10.1016/0169-5347(94)90057-4

Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, USA: Columbia University Press.

Palsbøll PJ, BéRubé M, Allendorf FW (2007) Identification of management units using population genetic data. Trends Ecol Evol 22:11–16. doi: 10.1016/j.tree.2006.09.003

Pereira SL, Wajntal A (2001) Estimates of the genetic variability in a natural population of bare-faced curassow, *Crax fasciolata* (Aves, Galliformes, Cracidae). Bird Conserv Internatn 11:301–308. doi:10.1017/S095927090100034X

Pereira SL, Grau ET, Wajntal A (2004) Molecular architecture and rates of DNA substitutions of the mitochondrial control region of cracid birds. Genome 47:535–545. doi:10.1139/g04-009

Pérez-González J, Mateos C, Carranza J (2009) Polygyny can increase rather than decrease genetic diversity contributed by males relative to females: evidence from red deer. *Mol Ecol* 18:1591–1600. doi:10.1111/j.1365-

294X.2009.04150.x

Ramos-Onsins SE, Rozas J (2002) Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol Biol Evol* 19:2092–2100. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a004034

Saccheri, I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392:491–494. doi: 10.1038/33136

Salzburger W, Ewing GB, Von Haeseler A (2011) The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. Mol Ecol 20:1952–1963. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05066.x

Schöngart J, Junk WJ (2007) Forecasting the flood pulse in central Amazonia by ENSO-indices. J Hydrology 335:124–132. doi:10.1016/j.jhydrol.2006.11.005

Schwartz MK, Luikart G, Waples RS (2007) Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. Trends Ecol Evol 22:25–33. doi: 10.1016/j.tree.2006.08.009

Sick H (1997). *Ornitologia brasileira*. Rio de Janeiro, Brasil: Nova Fronteira.

Slate J, David P, Dodds KG, Veevliet BA, Glass BC, Broad TE, McEwan JC (2004) Understanding the relationship between the inbreeding coefficient and multilocus heterozygosity: theoretical expectations and empirical data. Heredity 93:255–254. doi 10.1038/sj.hdy.6800485

Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236:787-792. Doi

Strahl SD, Beaujon S, Brooks DM, Begazo AJ, Sedaghatkish G, Olmos F (1997) *The cracidae: their biology and conservation*. Washington, USA: Hancock House Publishers.

Tajima F (1983) Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. Genetics 105:437–460.

Tajima F (1989) Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. Genetics 123:585–595.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol 30:2725–2729. doi 10.1093/molbev/mst197

Watterson G (1975) On the number of segregating sites in genetical models without recombination. Theor Popul Biol 7:256–276.

Wier JT, Schluter D (2007) The latitudinal gradient in recente speciation and extinction rates of birds and mammals. Science 315:1574–1576. doi:10.1126/science.1135590

Weir JT, Schluter D (2008) Calibrating the avian molecular clock. Mol Ecol 17:2321–2328. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03742.x

Westemeier RL, Brawn JD, Simpson SA, Esker TL, Jansen RW, Wlak JW, Kershner EL, Bouzat JL, Paige KN (1998) Tracking the long-term decline and recovery of an isolatedpopulation. *Science* 282:1695–1698. doi: 10.1126/science.282.5394.1695

Tabela 1 – Número (*N*) de amostras de *Crax globulosa* utilizadas por localidades para as análises genéticas.

Localidade	Sigla	*N* para *mtDNA*	*N* para *SNPs*
Rio Purus	Pu	11	6
Baixo Juruá	Jl	5	3
Médio Juruá	Jm	21	5
Mamirauá	Ma	8	-
Ilha Cacao Peru	Pe	8	4
Total		53	18

Tabela 2. Índices de diversidade genética e teste de neutralidade das populações de *C. globulosa*. *N* = número de indivíduos por localidade; Nh = número de haplótipos; *S* = número de sítios segregantes (polimórficos); $\hat{H}$, diversidade haplotípica de Nei; π, diversidade nucleotídica de Nei; Tamanho efetivo populacional de fêmeas (*Nef*) derivado de theta (θ); *D* (p), teste *D* de Tajima com valor de p (α = 0.05); teste *Fs* de Fu com valor de p (α = 0.05). *****Valores significativos em um nível de p<0.05.

Localidades	N	S	Nh	$\hat{H}$	π	*Nef*	*Arlequin* - HRI	*Arlequin* SSD	Tajimas'D	Fu's Fs
Pe	8	8	6	0,892+/- 0,111	0,003+/-0,002	117.142	0,108 (0,417)	0,032 (0,375)	0,090 (0,560)	-1,500 (0,120)
Jl	5	7	5	1,000+/-0,126	0,003+/-0,002	79.047	0,080 (0,892)	0,013 (0,926)	-0,331 (0,450)	-2,115 (0,034)*
Jm	21	7	8	0,814+/-0,057	0,002+/-0,001	70.476	0,031 (0,885)	0,005 (0,611)	-0,210 (0,442)	-2,411 (0,055)
Ma	8	6	6	0,892+/-0,111	0,002+/-0,001	176.666	0,095 (0,534)	0,018 (0,536)	-0,129 (0,460)	-2,317 (0,033)*
Pu	11	8	9	0,945+/-0,065	0,002+/-0,001	341.428	0,120 (0,280)	0,017 (0,378)	-1,273 (0,109)	-6,755 (0,0001)*
Total	53	36	34	0,909+/-0,094	0,002+/-0,002	784.760	0,087 (0,602)	0,017 (0,565)	-0,370 (0,409)	-3,020 (0.049)*

Tabela 3. Estimativas indiretas do fluxo gênico (*Nm*; acima da diagonal) de diferenciação genética (*Fst*; abaixo da diagonal Φ_{ST}) nas comparações par a par entre as populações de *Crax globulosa* a partir dos dados mitocondriais (*ND2* e *ND5*)

	Pe	Jb	Ja	Ma	Pu
Pe	-	**0,760**	**0,480**	**0,677**	**0,528**
Jl	0,396*	-	26,842	-	2,208
Jm	0,510*	0,018	-	-	4,446
Ma	0,424*	-0,044	-0,012	-	3,535
Pu	0,486*	0,184	0,101	0,123	-

* Indicativo de significância p<0.05; *Nm* valores abaixo de 1 estão em negrito.

Tabela 4. MIGRATE-N estimativa de fluxo gênico entre populações par a par de *Crax globulosa*.

Localidades		4*Nm* (+ = população recebedora)				
	Theta (4*Ne* mu)	Pe, +	Jl, +	Jm, +	Ma, +	Pu, +
Pe	0,00246	—	17,7	**0,3**	**0,3**	**0,3**
Jl	0,00166	**0,3**	—	980,3	959,7	7,0
Jm	0,00148	**0,3**	18,3	—	**0,3**	**0,3**
Ma	0,00371	13,0	961,7	970,3	—	980,3
Pu	0,00717	**0,3**	**0,3**	973,7	**0,3**	—

Tabela 5. Matriz dos valores de *Fst* nas comparações par a par entre as populações de *C. globulosa* a partir dos dados genômicos (*SNPs*).

	Pe	Pu	Jl	Jm
Pe	-			
Pu	0,011	-		
Jl	0,222	0,103	-	
Jm	0,221	0,175*	0,197	-

*Indicativo de significância $p<0.05$

Tabela 6. Coeficiente de endogamia (*Fis*), Tamanho efetivo populacional (*Nm*) Heterozigosidade observada (*Ho*), Heterozigosidade esperada (*He*) para as populações de *Crax globulosa*, utilizando marcadores *SNPs*.

População (n)	*Fis*	*Ho*	*He*
Pe (4)	0,421	0,194+/-0,274	0,521+/-0,114
Pu (6)	0,937	0,027+/-0,074	0,444+/-0,099
Jl (3)	0,875	0,069+/0,162	0,569+/-0,099
Jm (5)	0,966	0,017+/-0,075	0,456+/-0,086
Média	0,885	0,076+/-0,146	0,497+/-0,099

Tabela 7. divMigrate-online estimativa de taxa relativa de *Nm* entre populações par a par de *Crax globulosa* utilizando marcadores *SNPs.*

População	Pe	Pu	Jl	Jm
Pe	-	0,734	0,546	0,65
Pu	0,61	-	0,582	0,937
Jl	0,532	0,982	-	1
Jm	0,498	0,863	0,619	-

Figura 1. Localização das cinco áreas de amostragem de *Crax globulosa* na região amazônica brasileira e peruana.

Figura 2. Gráficos gerados no programa BAPS que mostra o número de grupos biológicos para *C. globulosa* baseado nas sequências de *mtDNA*. Cada barra corresponde a um indivíduo e a sua cor representa o grupo ao qual pertence. São determinados três grupos: azul, vermelho e verde.

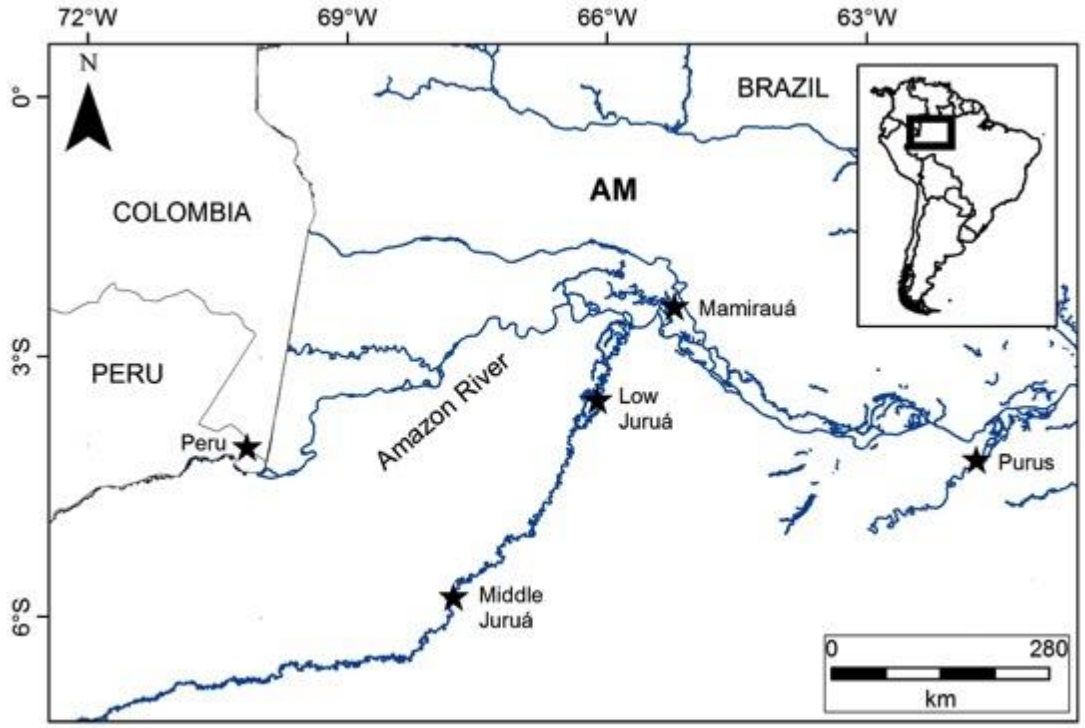
Figura 3. Rede de haplótipos baseada nas sequências de *mtDNA*, que mostra as relações genealógicas entre os indivíduos, gerada no programa HaploViewer. Cada círculo representa um haplótipo e os números indicam quantos indivíduos possuem esse haplótipo. Os haplótipos H1 e H2 foram os haplótipos mais frequentes. Os nós representam haplótipos provavelmente não amostrados.

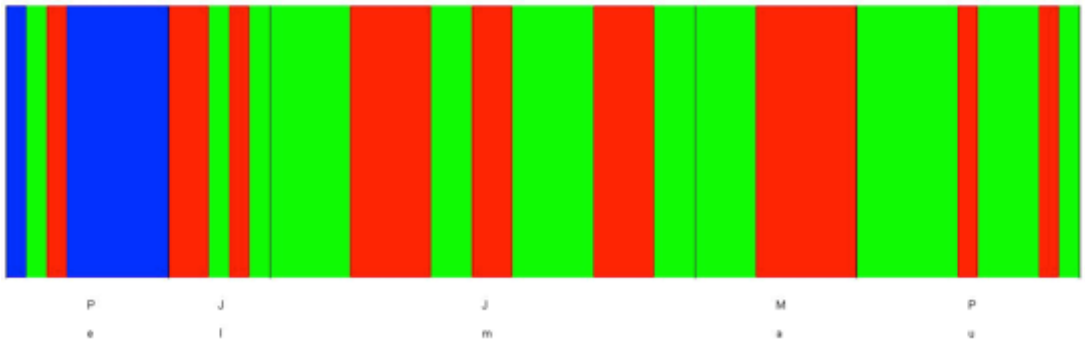
Figura 4. Estrutura populacional determinada no programa *Structure* mediante inferência Bayesiana. Foram analisados 862 *SNPs* de 18 indivíduos de 4 localidades. A maior probabilidade posterior está associada com seis grupos biológicos. a) Gráfico individual; cada barra vertical representa um indivíduo; b) gráfico populacional.

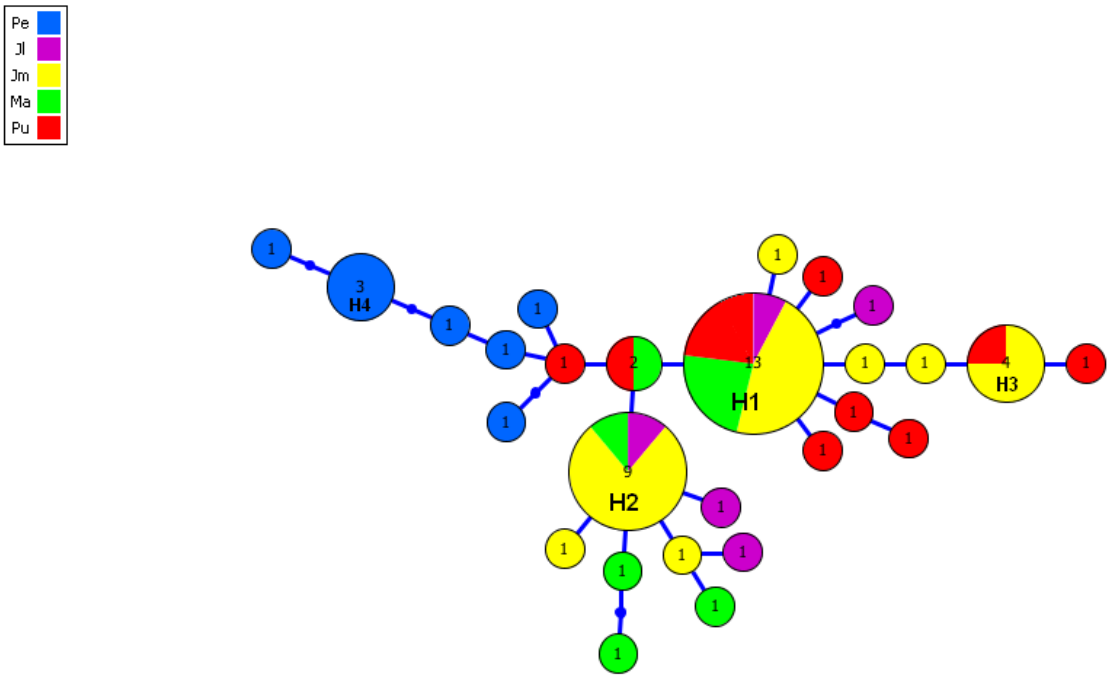
Figura S1. Padrão multimodal foi identificado no *mismatch distribuition* da população do Pe, mostrando estabilidade histórica da população.

Figura S2. O gráfico de *mismatch distribuition* para as populações brasileiras mostra um padrão unimodal o que indica um cenário de expansão populacional recente.

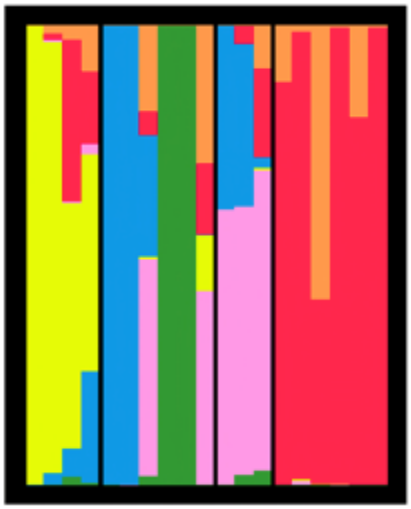
Figura S3. Fluxo gênico bidirecional contemporâneo utilizando os marcadores *SNPs,* nas quatro populações de *Crax globulosa*. A grossura das setas indica a intensidade de migrantes.


72°W
69°W
66°W
63°W
N
0°
3°S
6°S
BRAZIL
AM
COLOMBIA
PERU
Peru
Amazon River
Mamirauá
Low
Juruá
Middle
Juruá
Purus
0
280
km


P
e
J
l
J
m
M
a
P
u

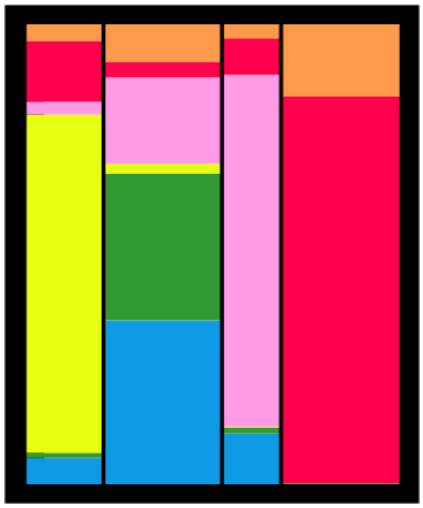

Pe
Jl
Jm
Ma
Pu
H4
H1
H2
H3

A

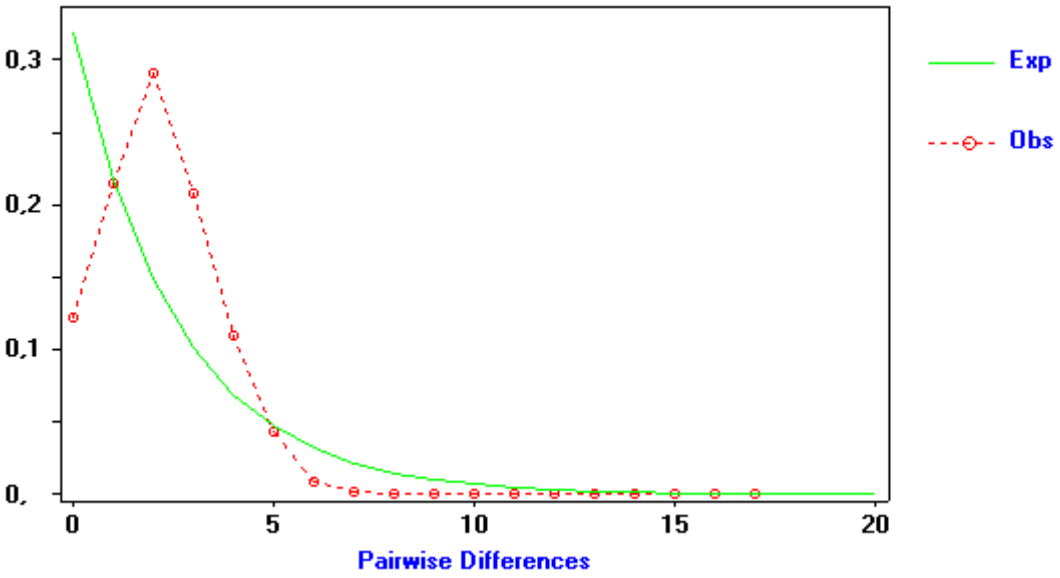


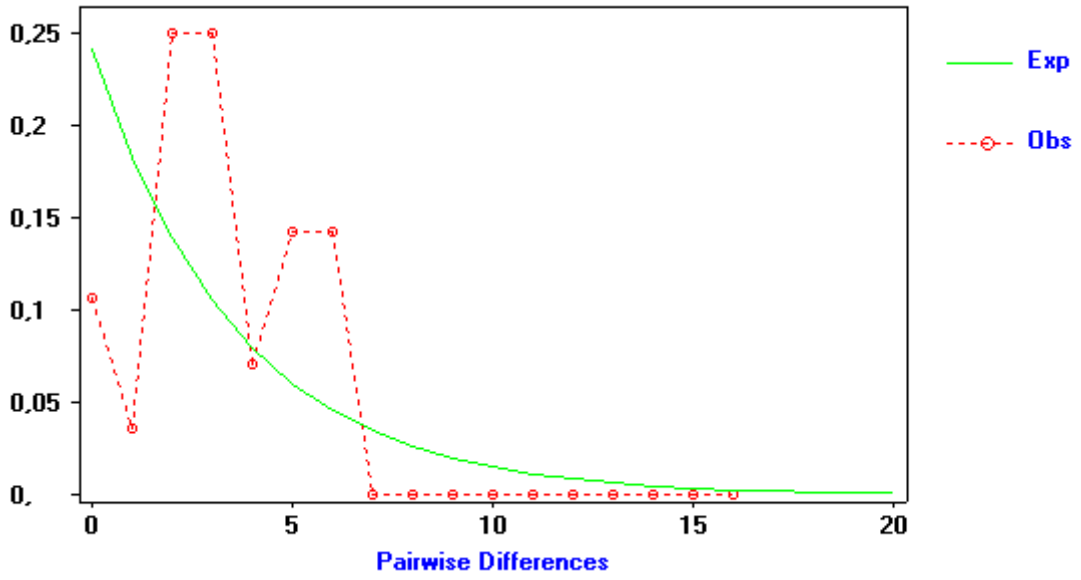
Pe Jm Jl Pu

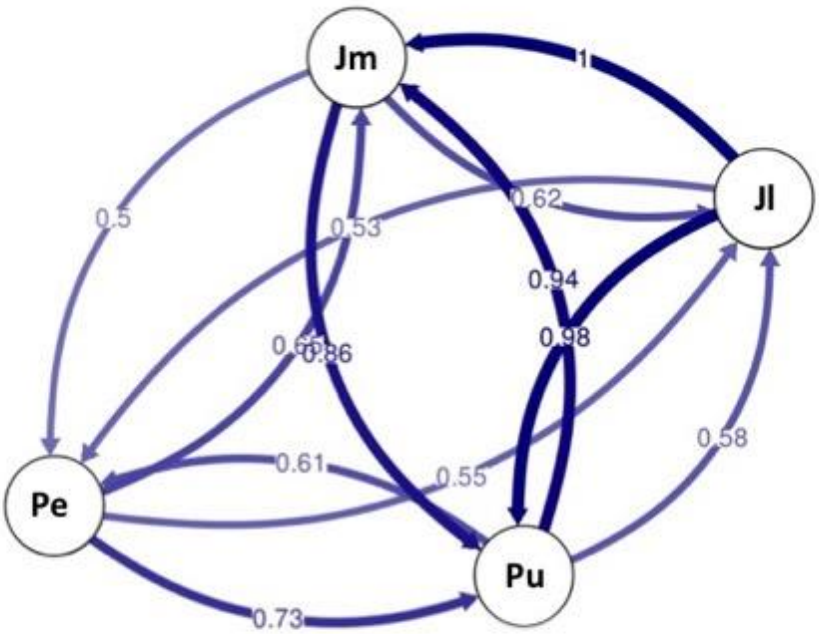
B



Pe Jm Jl Pu


0,3
0,2
0,1
0,
0
5
10
15
20
Pairwise Differences
Exp
Obs


0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0,
0
5
10
15
20
Pairwise Differences
Exp
Obs


Jm
Jl
Pe
Pu
1
0.62
0.5
0.53
0.94
0.98
0.86
0.61
0.55
0.58
0.73

Síntese

- Os resultados aqui apresentados preenchem uma lacuna muito importante na genética de populações e ecologia de *Crax globulosa*, principalmente no território brasileiro. O trabalho fornece ferramentas para novos estudos com espécies ameaçadas de difícil manejo na vida silvestre, como é o caso da família Cracidae.
- A caça e a perda de habitat são ameaças reais a espécie, pois a seleção por determinados ambientes (reprodução) pode reduzir as populações, afetando em poucas gerações a diversidade genética.
- A criação de uma unidade de proteção integral dentro da área de distribuição da espécie pode ajudar a proteger e manter as futuras populações, não apenas de *Crax globulosa*, mas de tantas outras que dependem desse ambiente para sobreviver.
- A conscientização das populações ribeirinhas de modo que elas trabalhem em parceira com as pesquisas, o conhecimento sobre a importância da espécie para o meio ambiente e a adoção da caça sustentável é de extrema importância para que as futuras estratégias de conservação sejam bem sucedidas.

Referências Gerais

Alarcón-Nieto, G. & E. Palacios. 2005. Confirmation of a second population for Colombia of the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the lower Caquetá River. *Ornitología Colombiana* 3: 97-99.

Alvarez-Prada, D. & M. Ruiz-García, M. 2015. Population genetics of the endangered Wattled Curassow (*Crax globulosa*, Cracidae, Aves) of the Colombian–Peruvian Amazon using DNA microsatellites and ND2 mitochondrial sequences. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 50: 80–95.

Alves, F., G. M. López-Iborra, & L. F. Silveira. 2015. Population size assessment of the Endangered red-billed curassow *Crax blumenbachii*: accounting for variation in detectability and sex-biased estimates. *Oryx* 51: 137-145.

Aranibar-Rojas, H. 2006. Wattled Curassow (*Crax globulosa*). Pp. 66-68. In: Conserving Cracids: the most Threatened Family of Birds in the Americas (D.M. Brooks, Ed.). Misc Publ. Houston Mus. Nat. Sci., No 6, Houston, TX.

Barnosky, A. D., N. Matzke., S. Tomiya, et al. 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471: 51–57.

Barrio, J. 2011. Hunting pressure on cracids (Cracidae: Aves) in forest concessions in Peru. *Revista Peruana de Biologıa* 18: 225–230.

Begazo, A. J. 1997. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in Peru. *Bulletin of the Cracid Specialist Group* 5: 6–10.

Begazo, A. J. & R. E. Bodmer. 1998. Use and conservation of Cracidae (Aves: Galliformes) in the Peruvian Amazon. *Oryx* 32: 301-309.

Bennett, S. E. 2000. The status of the Piuri (*Crax globulosa*) in Colombia-a brief overiew. *Bulletin of the Cracids Specialists' Group* 10: 18-21.

Bennett, S. E. 2003. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) on Isla Mocagua, Amazonas, Colombia. *Bulletin of the Cracids Specialists' Group* 16: 21–28.

Bennett, S. E. & A. M. Franco-Maya. 2002. *Crax globulosa*. In: Renjifo, M.L.; Franco-Maya, A.M.; Amaya-Espinel, J.D.; Kattan, G.H.; López-Lanús, B. (ed.), Libro rojo de aves de Colombia, pp. 146-149. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y Ministerio del Medio Ambiente, Bogota.

Bernardo, C. S. S., H. Lloyd., N. Bayly & M. Galetti. 2011. Modelling post-release survival of reintroduced Red-billed Curassows *Crax blumenbachii*. *Ibis* 153: 562–572.

Bird, B. W., M. B. Abbott., M. Vuille., D. T. Rodbell., N. D. Stansell & M. F. Rosenmeier. 2011. A 2300-year-long annually resolved record of the South American summer monsoon from the Peruvian Andes. *PNAS* 108: 8583–8588.

BirdLife International. 2017a. Country profile: Brazil. Downloaded from http://www.birdlife.org/datazone/countrybrazil. Acesso em 22 de setembro de 2017.

BirdLife International. 2017b. IUCN Red List for birds. Downloaded from http://www.birdlife.org Acesso em 22 de setembro de 2017.

BirdLife International. 2017c. Species factsheet: *Crax globulosa*. Downloaded from http://www.birdlife.org. Acesso em 22 de setembro de 2017.

Bodrati, A & K, Cockle. 2006 Habitat, distribution and conservation of Atlantic forest birds in Argentina: notes on nine rare or threatened species. *Ornitologia Neotropical* 17: 243–258.

Brooks, D. M & S. D. Strahl. 2000. Cracids: Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

Brooks, D. M. 2006. Conserving Cracids: the most Threatened Family of Birds in the Americas. Houston: Houston Mus. Nat. Sci.

Cardillo, M., G. M. Mace., J. L. Gittleman., K. E. Jones., J. Bielby & A. Purvis. 2008. The predictability of extinction: biological and external correlates of decline in mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275: 1441-1448.

Collar, N. J., J. P. Gonzaga., N. Krabbe., A. Madrono-Nieto., L. G. Naranjo., T. A. Parker & D. C. Wege.1992. Threatened Birds of the Americas: the ICBP/IUCN Red Data Book. BirdLife Int. 3rd edn. Cambridge: International Council for Bird Preservation.

del Hoyo, J. 2017. Guans, Chachalacas, Curassows (*Cracidae*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. http://www.hbw.com/node/52217. Acesso em 22 setembro de 2017.

del Hoyo, J., N. Collar & G. M. Kirwan. 2017. Cryptic Treehunter (*Cichlocolaptes mazarbarnetti*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. http://www.hbw.com/node/1343648. Acesso em 22 setembro de 2017).

Denis, T., B. Hérault., G. Jaouen., O. Brunaux., S. Guitet & C. Richard-Hansen. 2016. Black Curassow habitat relationships in terra firme forests of the Guiana Shield: A multiscale approach. *The Condor* 118: 253–273.

Desbiez, A. L. J & C. São Bernardo. 2011. Density estimates of the Bare-faced Curassow (*Crax fasciolata*) in the Brazilian Pantanal. *Revista Brasileira de Ornitologia* 19: 385–390.

Diegues, S. 2011. Variação genética de uma população cativa de Mutum-do- Sudeste (*Crax blumenbachii* Spix, 1825) (Aves : Cracidae) como subsídio para manejo e conservação / Savana Diegues. São Carlos : UFSCar, 2011.

Dirzo, R., et al., 2014. Defaunation in the anthropocene. *Science* 345: 401–406.

Érard, C., M. Théry & D. Sabatier. 1991. Regime alimentaire de *Tinamus major* (Tinamidae), *Crax alector* (Cracidae) et *Psophia crepitans* (Psophiidae), en forêt Guyanaise. *Gibier Faune Sauv*age 8: 183–210.

Galetti, M., P. Martuscelli, F. Olmos & A. Aleixo. 1997. Ecology and conservation of the Jacutinga *Pipile jacutinga* in the Atlantic forest of Brazil. *Biological Conservation* 81: 31–39.

Grau, E.T., S. L. Pereira., L. F. Silveira & A. Wajntal. 2003. Molecular markers contribute to a breeding programme of the extinct-in-the-wild Alagoas Curassow *Mitu mitu* and confirm the validity of the species. *Bird Conservation International* 13: 115–126.

Guix, J. C. 1997. Exclusão geográfica e ecológica de *Penelope obscura*, *Penelope superciliaris* e *Pipile jacutinga* (Galliformes, Cracidae) no estado de São Paulo. *Ararajuba* 5: 195–202.

Guix, J. C., S. Mañosa, V. Pedrocchi., M. J. Vargas & F. L. Souza. 1997. Census of three frugivorous birds in an Atlantic rainforest area of southeastern Brazil. *Ardeola* 44: 229–233.

Haugaasen, T. & C. A. Peres. 2008. Population abundance and biomass of large-bodied birds in Amazonian flooded and unflooded forests. *Bird Conservation International* 18: 87-101.

Hennessey, A. B. 1999. Status of the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) in the lower Beni River area of Bolivia. *Bulletin of the Cracid Specialist Group* 8: 10–18.

Hill, D. L., H. Aranibar-Rojas & R. Macleod. 2008. Wattled Curassows in Bolivia: abundance, habitat use, and conservation status. *Journal of Field Ornithology* 79: 345–351.

Hughes, C. R. & Larson, E. D. 2000. Characterization of microsatellite loci developed for the wattled curassow, *Crax globulosa*. *Molecular Ecology* 9: 629-644.

IBAMA. 2004. Plano de ação para a conservação do mutum-do-sudeste *Crax blumenbachii* – uma espécie bandeira para a conservação da Mata Atlântica. Brasília: IBAMA/MMA.

IUCN. 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-2. http://www.iucnredlist.org. Acesso em 14 setembro de 2017.

Jiménez, I., J. L. Parra., M. Agudelo., G. Londoño & Y. Molina. 2001. Temporal variation in the diet of Black Curassows (*Crax alector*, Cracidae). Pp. 195–204 in Brooks, D. M., & F. González- García (eds). Cracid ecology and conservation in the new millenium. Misc. Publ. No. 2, Houston Mus. Nat. Sci., Houston, Texas.

Leite, G.A., I. P. Farias., C. A. Peres & D. M. Brooks. 2017. Reproductive biology of the endangered wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. *Journal of Natural History* 51: 677-687.

Luna-Maira, L., G. Alarcón-Nieto., T. Haugaasen & D. M. Brooks. 2013. Habitat use and ecology

of Wattled Curassows on islands in the lower Cauetá River, Colombia. *Journal of Field Ornithology* 84: 23-31.

Marini, M. A. & A. F. I. Garcia. 2005. Conservação de aves no Brasil. Megadiversidade, Belo Horizonte.

Mazar-Barnett, J & D. R. C. Buzzetti. 2014. A new species of *Cichlocolaptes* Reichenbach 1853 (Furnariidae), the 'gritadordo-nordeste', an undescribed trace of the fading bird life of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Ornitologia,* 22: 75-94.

MMA, Ministério do Meio Ambiente; atualização das listas de espécies ameaçadas. 2014. http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/174D441 A/ AP Lista CONAMA.pdf. Acesso em 15 Setembro de 2015.

Oliveira Junior, P. R. R. 2012. Monitoramento genético da população Ex Situ da jacutinga (Aburria jacutinga, Aves, Cracidae) como subsídio para a conservação da espécie. 89 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica e Conservação) - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba.

Pacheco, J. F. 2013. O limite sul da ocorrência do mutum-de-bico-vermelho nos tempos da lmperatriz Leopoldina. *Atualidades Ornitológicas* 175: 23.

Pereira, S. L & A. Wajntal. 2001. Estimates of the genetic variability in a natural population of Bare-faced Curassow *Crax fasciolata* (Aves, Galliformes, Cracidae). *Bird Conservation International* 11: 301–308.

Pereira, G. A., S. M. Dantas., L. F. Silveira., S. A. Roda., C. Albano., F. A. Sonntag., S. Leal., M. C. Periquito., G. B. Malacco & A. C. Lees. 2014. Status of the globally threatened forest birds of northeast Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)* 54: 177–194.

Petchey, O. L & K. J. Gaston. 2002. Extinction and the loss of functional diversity. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 269: 1721– 1727.

Piacentini, V. Q. et al. 2015. Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia* 23: 91-298.

Samuels, I., P. Bichier., J. Clark., T. Milleron & B. O'Shea. 2014. Noteworthy records and range extensions from the Caura River watershed, Bolívar state, Venezuela. *Cotinga* 36: 28–40.

Santos, P. M. R. S. 1998. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) at Mamirauá (Amazonas, Brazil). *Bulletin of the Cracid Specialist Group* 7: 13–19.

Sick, H. 1997. Ornitologia brasileira. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.

Silveira, L. F., F. Olmos & A. J. Long. 2004. Taxonomy, history, and status of Alagoas Curassow *Mitu mitu* (Linnaeus, 1766), the world's most threatened cracid. *Ararajuba* 12: 125-132.

Silveira, L. F & F. C. Straube. 2008. Aves ameaçadas de extinção no Brasil. Em: Machado, A. B.; Drummond, G. M. & Paglia, A. P. (Orgs). Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de

extinção. 1a ed. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil, p.379-678.

Soares-Filho, B. S., D. Nepstad., L. Curran., E. Voll., G. Cerqueira., R. A. Garcia., C. A. Ramos., A. Mcdonald., P. Lefebvre & P. Schlesinger. 2006. Modeling conservation in the Amazon basin. *Nature* 440: 520-523.

Teixeira, D. M & D. W. Snow. 1982. Notes on the nesting of the Red-billed Curassow *Crax blumenbachii*. *Bulletin British Ornithology Club* 102: 83-84.

Thiollay, J. M. 1994. Structure, density and rarity in an Amazonian rainforest bird community. *Journal of Tropical Ecology* 10: 449–481.

Valtuille, T. 2016. Caça e dieta do Jacu do nordeste (*Penelope jacucaca*) na Caatinga do Ceará e Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 57p.

Wright, S. J. 2003. The myriad effects of hunting for vertebrates and plants in tropical forests. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 6: 73-86.

Apêndice - A

RRH: *Leite et al.* DIET WATTLED CURRASOW

Diet of the Wattled Curassow (*Crax globulosa*) on the Juruá River, Brazilian Amazon

Gabriel Augusto Leite[1,2,4], Izeni Pires Farias[2], Carlos Augusto Peres[3]

[1] Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av André Araujo 2936, Manaus, Brazil

[2] Laboratório de Evolução e Genética Animal, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Amazonas, General Rodrigo Octavio Jordão Ramos 1200, Manaus, Brazil

[3] Centre for Ecology, Evolution and Conservation, School of Environmental Sciences, University of East Anglia, Norfolk, Norwich, NR4 7TJ, UK

[4]Corresponding author; e-mail: gabrielzoobio@hotmail.com

Abstract

Cracids comprise a large proportion of avian biomass in Neotropical rainforests. Their diet can vary seasonally, and they can be important agents of seed dispersal. *Crax globulosa* inhabits *várzea* forests of western Amazonia and is considered to be globally threatened. We detail the diet of *Crax globulosa* based on our own field observations, as well as interviews with local people and analysis of stomach contents, in the Juruá River region of Brazil. The species was observed using 51 different species of plants from 23 families. It consumed mostly fruits/seeds (69%), followed by flowers and leaves. Just 13% of direct observations were of birds foraging on the ground, with groups of up to eight individuals feeding together. *Crax globulosa* was observed consuming a greater variety of species of plants in the high-water season (29 species). The stomach contents of ten individuals showed that the species also feeds on invertebrates and ingests pebbles. *Crax globulosa* has a more diverse diet in the low-water season, but still maintains a preference for fruits/seeds. As the species remains in *várzea* forest throughout the year, a greater supply of fruits during the high-water season is very important for the species and may be one of the reasons it remains in this type of environment.

Key-words: floodplain, foraging, cracids, seasons, curassow

The species of the Cracidae family are large birds of Neotropical forests that achieve their greatest diversity in Amazonia (Strahl et al. 1997; del Hoyo 2017). All species are basically frugivorous, although some species feed on leaves, flowers, invertebrates and small vertebrates (del Hoyo 2017). They are important components of avian biomass in Neotropical bird communities (Terborgh 1986; Strahl et al. 1997), and provide substantial amounts of protein for riverine and indigenous human populations (Silva and Strahl 1991; Vickers 1991; Thiollay 1994). Cracids are extremely sensitive to hunting and deforestation, and one of the most threatened avian groups in Latin America (Collar et al. 1992; Galetti et al. 1997; Strahl et al. 1997), and can be used as indicators of these two forms of human activity (Silva and Strahl 1991; Strahl and Grajal 1991).

Dietary studies of cracids are usually performed through analysis of fresh faeces collected in the field (Merler et al. 2001; Mikich 2002), visual records of consumption (Santamaría and Franco 2000; Mogollón 2016) or analysis of stomach contents (Marion 1976; Érard et al. 1991). Studies of faecal samples are mainly focused on verifying if species are potential seed dispersers (Santamaría and Franco 2000; Mikich 2002). Some species can have a very diverse diet, consuming more than 100 different plant species, as well as invertebrates and small vertebrates (del Hoyo 2017).

The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) is a large bird (ca 2.5 kg), endemic to the Amazon basin, occurring in Brazil, Colombia, Ecuador, Peru and Bolivia (Bennett 2000; Aranibar-Rojas and Hennessey 2006; Haugaasen and Peres 2008). It is found in the *várzea* forests and on islands in some Amazonian rivers. The species is considered endangered due to hunting and has a small population size, which is estimated to have suffered a very rapid decline in numbers (Aranibar-Rojas and Hennessey 2006; BirdLife International 2017). Although it is present in five South American countries, its ecology is little known, with most knowledge based on anecdotal information or point records (BirdLife International 2017; del Hoyo et al. 2017). In Brazil, where the largest population is believed to occur, only three studies of the species have been published (Santos 1998; Haugaasen and Peres 2008; Leite et al. 2017).

The main objective of this study was to verify the diet of *Crax globulosa* through direct observations in the field, interviews with residents and analysis of stomach contents.

Methods

The study was conducted along a tributary of the Juruá River (Marari) within the Sustainable Development Reserve Uacari (Fig. 1). This forms part of the Juruá River Basin, 130 km south of the town of Carauari, in the state of Amazonas, Brazil (05° 47’ N, 67° 45’ W). This region is subjected to a well-defined seasonal rainfall regime, with a mean annual rainfall of 2400–2800 mm (Sombroek 2001). There is also a strong seasonal oscillation in river water discharge, with the

low water season occurring from July to September.

To study *Crax globulosa* diet, direct observations were made in the field during August 2014 to October 2015. Observations occurred while monitoring three individuals (two females and one male) captured and tagged with VHF transmitters in September and October 2014 (GAL unpubl. data), in addition to other individuals observed casually at the study site.

Foraging records were confirmed by observing the individual or group feeding on a given plant. Samples of fruits, flowers and leaves were collected whenever possible to identify the species. It was also noted which part of the plant the species used (fruit, leaf, flower), whether it was foraging alone or in groups, on the ground or perched, and the season (low water in July–September, rising water October–December, high water January–March or receding water April–June). Stomach contents of individuals hunted by communities near the study area were also analyzed to complement our observations, especially to document food items not registered during the field surveys.

In addition to field observations and stomach analysis, interviews were conducted with residents of three communities near the study area (Fig. 1). These residents answered a questionnaire about what kind of plant, part and time of year the person observed the species.

Results

During direct observations, the species was observed only feeding on plants. In all, 119 foraging records were recorded. *Crax globulosa* fed on 23 families of different plants, divided into 44 genera and 51 species (Table 1). The most woody plants belonged to the family Lecythidaceae (22%), followed by Sapotaceae (10%) and Moraceae (9%). Six species of Fabaceae family were used by *Crax globulosa*, followed by Sapotaceae with four species. The accumulation curve of species of plants that Wattled Curassow used shows that the species' dietary range of plants is still incompletely known (Fig. 2).

The most frequently consumed food items were fruits/seeds (69%), followed by leaves (23%) and flowers (8%). The season with most foraging observations was during high water (43%) with 29 species of plants consumed, followed by rising water and receding water (22%). Fruits were consumed at all times of year, with more observations in the flood season (n = 39) and fewer when waters were ebbing (n = 12). The number of foraging individuals ranged from one to eight, with flocks of three being most frequent (39%), followed by single individuals (36%) and two individuals (19%). During the lower, rising and receding water season only on nine occasions (13%) was *Crax globulosa* observed foraging on the ground.

In all ten stomach contents were analyzed and these revealed additional items consumed by *Crax globulosa*. All samples contained some plant material, all with seeds ranging in size from 5 to

35 mm or pieces of wood. Most of the seeds were partially or completely destroyed. In five samples, small pebbles of 4–7 mm in diameter were found. Also, invertebrate fragments of different orders were found in seven stomachs (Table 2).

Through interviews with seven residents in the three communities, 13 species of plants were recorded, thereby adding two families, three genera and four species to the diet of *Crax globulosa*. Most of these observations involved the species feeding on fruits, and in the high water season (Table 1).

Discussion

Previous studies have classified curassows as principally vegetarians (Delacour and Amadon 1973; Torres 1989), while others have considered them to be strictly frugivorous (Silva and Strahl 1991; Strahl and Grajal 1991), and some authors reported that they are granivorous (Terborgh 1986; Terborgh et al. 1990) or frugivores that eat seeds (Moermond and Denslow 1985). But recent studies have shown that the diet of cracids is more diverse, consuming, in addition to plant species, vertebrates and invertebrates (Santamaría and Franco 2000; Muñoz and Kattan 2007).

Some species of the genus *Crax* have been subject to detailed studies of their diet. For example, *Crax rubra* is known to include more than 40 species of plants in its diet, in addition to invertebrates, mostly Scarapids (Sermeño 1997), while *Crax alector* in Colombia, has been registered foraging on 111 species of plants, more than 20 orders of invertebrates and some species of vertebrates (Delacour and Amadon 2004). This work identified 51 species of plants in the diet of *Crax globulosa*, but the curve of species accumulation did not stabilize at the end of the observations and it is probable that additional species of plants form part of the diet of the species in the study region.

In all other species of curassows subject to dietary studies, the main component of the diet was fruits of various sizes and species (Muñoz and Kattan 2007; del Hoyo 2017). The same is true for *Crax globulosa*. This preference for fruits may be due to the diversity of fruits providing energy in the form of carbohydrates, lipids and proteins (Muñoz 2003). Drupes and arillate fruits tend to be high in lipids, and berries tend to be high in carbohydrates (Moermond and Denslow 1985), but there is great variation even within genera. Although animal protein (invertebrates and vertebrates) also has a great source of energy, the difficulty of obtaining this food can reduce its proportion in cracid diets. Although leaves are abundant, few are consumed because they possess little energy value (Muñoz and Kattan 2007).

The diet of *Crax globulosa* was previously poorly documented, with only a few records of foraging on certain plants such as species of the family Cecropiaceae and Moraceae (Luna-Maira et al. 2013; del Hoyo et al. 2017). Also the species was observed feeding on invertebrates and

vertebrates (Delacour and Amadon 2004). Among stomach contents, in addition to plant and animal material, small pebbles were also found in some stomachs. Other species of the family, mainly curassows, consume pebbles to aid in the breakdown of hard seeds (Sick 1997; del Hoyo 2017). The few records of the species feeding on the ground in this work show that *Crax globulosa* more frequently feeds while perched on trees, unlike other curassows species that prefer to feed on the ground (Delacour and Amadon 2004; del Hoyo et al. 2017).

During the high water season *várzea* forest is completely flooded and *Crax globulosa* remains there at this time. In studies in *várzea* forest along the Purus and Solimões Rivers it is known that a greater amount of fruits are available during the high-water season (Ayres 1993; Haugaasen and Peres 2005). This may be one of the reasons for the greater number of plant species that *Crax globulosa* consumed at this season compared to other times of the year. However, further studies on the seasonality of fruits in the regions where the species occurs may elucidate the choice of certain species of plants seasonally.

Many species of tropical forest birds have little basic information from their natural history, including *Crax globulosa*. Knowledge of an animal's diet is very important for the elaboration of future conservation strategies for endangered species. Action plans to manage these species depend on knowledge of what the species consumes in its natural environment, in order to select areas that provide the minimum conditions for the species to persist and breed.

Acknowledgments

This publication is part of the Projeto Médio Juruá series (www.projetomediojurua.org). We thank FAPEAM for the scholarship granted. Also, thanks to Joseph Hawes for identification of the plants species, Francisco Xavier (Chiquinho) for the identification of invertebrates and Guy Kirwan for reviewing the English and give great suggestions on the article. Special thanks to Delcimar "Bombom" for the help during the field work.

Literature Cited

Ayres, J. M. 1993. As matas de várzea do Mamirauá. Sociedade Civil Mamiraua, Belém, Brazil.

Aranibar-Rojas, H. and A. B. Hennessey. .2006. Historia natural y estimación preliminar de la abundancia relativa mediante tasas de encuentros de *Crax globulosa* en un bosque de várzea en el departamento del Beni, Bolivia. Cotinga 26:32–35.

Bennett, S. E. 2000. The status of the Piurí (*Crax globulosa*) in Colombia – a brief overview. Bulletin of the Cracid Specialist Group 10:18–21.

BirdLife International (2017) Species factsheet: *Crax globulosa*. www.birdlife.org (accessed 14 June 2017).

Collar, N. J., L. P. Gonzaga., N. Krabbe., A. Madrono Nieto., L. G. Naranjo., T. A. Parker III, and D. C. Wege. 1992. Threatened birds of the Americas: The ICBP/IUCN Red Data Book. Third Edition. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.

del Hoyo, J. 2017. Guans, Chachalacas, Curassows (*Cracidae*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. and de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. www.hbw.com/node/52217 (accessed 12 May 2017).

del Hoyo, J., Kirwan, G.M. and Christie, D.A. 2017. Wattled Curassow (*Crax globulosa*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. and de Juana, E. (eds.). Handbook of the Birds of the World Alive. Lynx Edicions, Barcelona. www.hbw.com/node/53315 (accessed 14 June 2017).

Delacour, J. and D. Amadon. 1973. Curassows and related birds. American Museum of Natural History, New York, USA.

Delacour, J. and D. Amadon. 2004. *Curassows and Related Birds*. Second edn. Lynx Edicions, Barcelona and American Museum of Natural History, New York.

Érard, C., M. Théry, and D. Sabatier. 1991. Regime alimentaire de *Tinamus major* (Tinamidae), *Crax alector* (Cracidae) et *Psophia crepitans* (Psophiidae), en forêt Guyanaise. Gibier Faune Sauvage 8:183–210.

Galetti, M., P. Martuscelli., F. Olmos, and A. Aleixo. 1997. Ecology and conservation of the jacutinga *Pipile jacutinga* in the Atlantic forest of Brazil. Biological Conservation 82:31–39.

Haugaasen, T. and C. A. Peres. 2005 Tree Phenology in Adjacent Amazonian Flooded and Unflooded Forests. Biotropica 37:620–630.

Haugaasen, T. and C. A. Peres. 2008. Population abundance and biomass of large-bodied birds in Amazonian flooded and unflooded forests. Bird Conservation International 18:87–101.

Leite, G. A., I. P. Farias., C. A. Peres, and D. M. Brooks. 2017. Reproductive biology of the endangered Wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. Journal of Natural History 51:677–687.

Luna-Maira, L., G, Alarcón-Nieto., T, Haugaasen, and D. M. Brooks. 2013. Habitat use and ecology of Wattled Curassows on islands in the lower Caquetá River, Colombia. Journal of Field Ornithology 84:23–31.

Marion, W. R. 1976. Plain Chachalaca food habits in south Texas. Auk 93:376–379.

Merler, J. A., M. Diuk-Wasser, and R. D. Quintana. 2001. Winter diet of Dusky-legged Guan (*Penelope obscura*) at the Paraná River Delta region. Studies on Neotropical Fauna and Environment 36:33–38.

Mikich, S. B. 2002. A dieta frugívora de *Penelope superciliaris* (Cracidae) en remanescentes de floresta estacional semidecidual no centro-oeste do Paraná, Brasil e sua relação com *Euterpe edulis* (Arecaceae). Ararajuba 10:207–217.

Moermond, T. C. and J. S. Denslow. 1985. Neotropical avian frugivores: patterns of behavior, morphology, and nutrition, with consequences for fruit selection. Ornithological Monographs 36:865–897.

Mogollón, E. M. 2016. Dieta del Paujil Común (*Mitu tuberosum*), Pava de Spix (*Penelope jacquacu*) y Pava de Garganta Azul (*Pipile cumanensis*) en la Estación Biológica Cocha Cashu, Madre de Dios, Perú. Boletín UNOP 11:31–38.

Muñoz, M. 2003. Características morfológicas, nutricionales y de disponibilidad de los frutos en la dieta de *Penelope perspicax* (Aves, Cracidae), en el Santuario de Flora y Fauna Otún–Quimbaya, Risaralda. Thesis. University del Valle, Cali, Colombia.

Muñoz, M. C. and G. H. Kattan. 2007. Diets of cracids: how much do we know? Ornitología Neotropical 18:21–36.

Santamaría, M. and A. M. Franco. 2000. Frugivory of Salvin's Curassow in a rainforest of the Colombian Amazon. Wilson Bulletin 112:473–481.

Santos, P. M. R. S. 1998. The Wattled Curassow (*Crax globulosa*) at Mamirauá (Amazonas, Brazil). Bulletin of the Cracid Specialist Group 7:15–19.

Sermeño, A. 1997. Alimentación y reproducción del paujil (*Crax rubra*) en El Salvador. Pages 71–78 in The Cracidae: Their biology and conservation (S. D. Strahl, S. Beaujon, D. M. Brooks, A. J. Begazo, G. Sedaghatkish, and F. Olmos Editors). Hancock House Publishers Ltd., Surrey, British Columbia, and Blaine, Washington.

Sick, H. 1997. Ornitologia brasileira**.** Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Brasil.

Silva, J. L. and S. D. Strahl. 1991. Human impact on populations of chachalacas, guans and curassows (Galliformes: Cracidae) in Venezuela. Pages 36–52 in Neotropical wildlife use and conservation (J. G. Robinson and K. H. Redford, Editors.). University of Chicago Press, Chicago, Illinois.

Sombroek, W. 2001. Spatial and temporal patterns of Amazon rainfall - Consequences for the

planning of agricultural occupation and the protection of primary forests. Ambio 30:388–396.

Strahl, S. D. and A. Grajal. 1991. Conservation of large avian frugivores and the management of Neotropical protected areas. Oryx 25:50–55.

Strahl, S. D., S. Beaujon, D. M. Brooks., A. J. Begazo., G. Sedaghatkish, and F. Olmos. 1997. The Cracidae: their biology and conservation. Hancock House Publishers LTD., Washington, D.C.

Terborgh, J. 1986. Community aspects of frugivory in tropical forest. Pages 371–383 in Frugivores and seed dispersal (A. Estrada and T. H. Fleming, Editors). Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Terborgh, J., S. K. Robinson., T. A. Parker III., C. A. Munn, and N. Pierpoint. 1990. Structure and organization of an Amazonian forest bird community. Ecological Monographs 60:213–238.

Thiollay, J. M. 1994. Structure, density and rarity in an Amazonian rainforest bird community. Journal of Tropical Ecology 10:449–481.

Torres, B. 1989. La dieta del paujil (*Mitu mitu*): o las vicisitudes de ser frugívoro. Boletin de Lima 66:87–90.

Vickers, W. T. 1991. Hunting yields and game composition over ten years in an Amazon Indian territory. Pages 53–81 in Neotropical wildlife use and conservation (J. G. Robinson and K. H. Redford, Editors). University of Chicago Press, Chicago, Illinois.

Table 1. Species of plants used by *Crax globulosa* at the Juruá River. Family and species. Item = Fr = fruit, Fl = Flower, Le = leaf, Se = Seed. Season, Lo = low water, Hi = high water, Ri= rising water, Re = receding water. Numbers of observations = N. Source DO = Direct observation, IN = interview.

Family/specie	Local Name	Items	Season	N	Source
Annonaceae					
Annona sp.	Ata-brava	Fr	Lo	1	Do
Malmea sp.	Envieira	Fr	Hi	2	Do
Apocynaceae					
sp1.	Murici-de-leite	Fr	Hi	1	Do
sp2.	-	Fr	Ri	1	Do
sp3.	Murici-de-leite	Fr	Hi	1	Do
Arecaceae					
Euterpe precatoria	Açai	Fr	Hi	-	In
Oenocarpus bacaba	Bacaba	Fr	Hi	-	In
Celatraceae					
Maytenus sp.	-	Fr	Lo	1	Do
Clusiaceae					
Calophyllum brasiliense	Jacareúba	Fr, Lr	Ri, Re	3	Do, In
Elaeocarpaceae					
Sloanea rufa	Jangadeiro	Fr, Le	Ri, Re	3	Do
Sloanea sp.	Aricurana	Fr	Hi, Re	1	Do
Euphorbiaceae					
Hevea guianensis	Seringueira	Se	Hi	2	Do, In
Mabea nitida	Taquari	Fr	Hi	1	Do
Piranhea sp.	Piranheira	Fr	Hi Re	7	Do
Fabaceae					
Campsiandra sp.	Capurana	Le	Hi	1	Do, In
Dialium sp.	-	Fr	Hi	1	Do
Inga sp.	Inga	Se	Hi	1	Do
Macrolobium acaciifolium	Arapari	Fr, Se	Ri, Lo, Re	3	Do
Macrolobium sp.	-	Fl, Ss	Ri, Re	2	Do
Vatairea guianensis	Fava-de-mutum	Se	Lo	2	Do, IN

Huminaceae					
Vantanea sp.	Quebra-macho	Fr	Hi	1	Do
Lauraceae					
Ocotea cymbarum	Louro	Fr	Re	1	Do, IN
Ocotea sp.	Louro-mamuí	Fr, Fl	Hi, Ri, Lo, Re	6	Do
Lecythidaceae					
Eschweilera sp.	Mata-mata	Fl, Le	Hi, Ri, Lo, Re	11	Do
Lecythis sp.	Castanhola	Le	Hi, Lo, RE	15	Do
Leguminosae					
Abarema sp.	-	Fl	Re	1	Do
Malpighiaceae					
Byrsonima sp1.	Murici	Fr	Lo	3	Do, In
Byrsonima sp2.	Murici	Fr	Ri	1	Do
Malvaceae					
Pseudobombax munguba	Munguba	Fr	HI	1	Do
Melastomataceae					
Bellucia sp.	Goiaba-de-anta	Fr	Lo	1	Do
Miconia sp.	-	Fr	HI	1	Do
Meliacea					
Trichilia sp.	-	Fl	Re	1	Do
sp2.	-	Fr	Re	2	Do
Moraceae					
Ficus sp.	Apui	Fr	Hi, Ri, Lo, Re	5	Do
Ficus maxima	Caxeguba	Fr, Fl	Hi, Re	5	Do, In
Sorocea duckei	Caimbé	Fr	Hi	1	Do
Myristicaceae					
Virola surinamensis	Ucuuba	Se	Hi, Ri	5	Do, In
Myrtaceae					
Eugenia inundata	Arati	Fr	Hi	-	In
Eugenia patrisii	Ubaia	Fr	Ri	1	Do
Eugenia sp.	Araça	Fl	Lo	1	Do

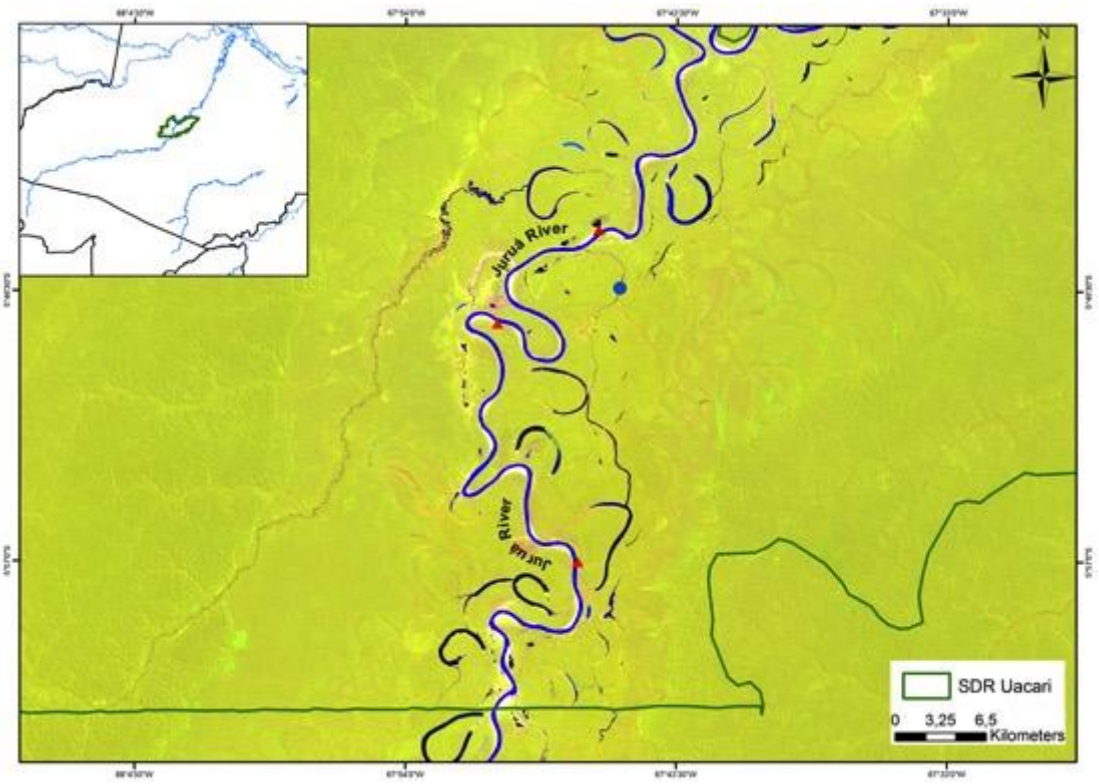
Putranjivaceae					
Drypetes sp.	-	Fr	Lo	1	Do
Rubiaceae					
Calycophyllum spruceanum	Mulateiro	Fl	Hi	1	Do
Duroia sp.	-	Fr	Hi	1	Do
Salicaceae					
Banara guianensis	Sardinheira	Fr	Hi	3	Do
Sapindaceae					
Matayba macrolepis	-	Fr	Hi	2	Do
Sapotaceae					
Manilkara huberi	Massaramduba	Fr, Le	Hi, Ri	3	Do, In
Manilkara sp.	Maparajuba	Fr	Lo	1	Do
Pouteria sp.	Abil	Fr	Hi	1	Do
sp4.	Biorana	Fr, Se	Hi, Ri	7	Do
Urticaceae					
Cecropia sp.	Embaúba	Fr	HI	1	Do
Verbenaceae					
Vitex cymosa	Tarumã	Fl	Hi	-	IN
Vochysiaceae					
Vochysia sp.	Orelha-de-burro	Se	Hi	1	Do

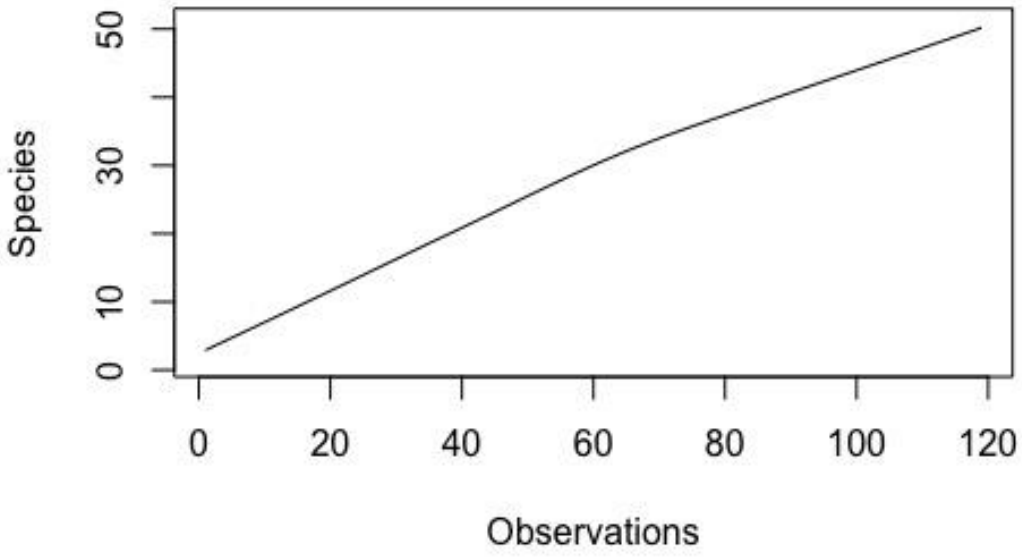
Table 2. Food items found in the analyzed stomachs of *Crax globulosa* in the Juruá River. S = seeds, P = pebbles, W = wood, I = invertebrates.

Stomach	Date	Items	Invertebrates
1	17/09/14	S, P, I	Coleoptera and Hymenoptera
2	14/10/14	S, I	Bivalvia and Carabidae
3	20/12/14	S, I	Scarabidae
4	20/12/14	S	-
5	20/04/15	S	-
6	07/05/15	S, P	-
7	01/07/15	S, W, P, I	Decapoda
8	10/06/15	S, P, I	Decapoda and Arthropoda
9	01/06/16	S, I	Hymenoptera and Aranae
10	05/06/16	S, W, P, I	Scarabaeidae

Fig. 1. Location of the study area into diet of *Crax globulosa*. Marari (blue circle) and villages visited (red triangles).

Fig. 2. Cumulative curve of observed plant species being consumed by *Crax globulosa*.


Jurua River
Jurua River
SDR Uacari
0 3,25 6,5
Kilometers


Species
0
10
30
50
0
20
40
60
80
100
120
Observations

Anexo – A

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 40017-3	Data da Emissão: 17/12/2013 11:45	Data para Revalidação*: 16/01/2015

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Gabriel Augusto Leite	CPF: 226.228.258-70
Título do Projeto: Conservação de Crax globulosa (Aves: Cracidae): ecologia, variabilidade genética e efeitos da caça	
Nome da Instituição : INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA	CNPJ: 01.263.896/0015-60

SISBIO

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Entrevistas com as comunidades locais	11/2013	01/2016
2	Coletas e análises dos das amostras genéticas.	11/2013	01/2016
3	Coleta dos dados ecológicos da espécie.	11/2013	01/2016

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen.
9	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	A pesquisa deverá ser apresentada na próxima reunião do Conselho Deliberativo; e quando finalizar enviar para o escritório da UC.
2	O volume de sangue coletado deve ser inferior ao correspondente a 1% da massa corpórea do animal.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Izeni Pires Farias	Co-orientadora	274.094.302-49	664805 SESEG-AM	Brasileira
2	Carlos Peres	Co-orientador	170.103.572-34	10.156.876-4 SEGUP-RJ	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

SISBIO

Código de autenticação: 49822914

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 40017-3	Data da Emissão: 17/12/2013 11:45	Data para Revalidação*: 16/01/2015

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Gabriel Augusto Leite	CPF: 226.228.258-70
Título do Projeto: Conservação de Crax globulosa (Aves: Cracidae): ecologia, variabilidade genética e efeitos da caça	
Nome da Instituição : INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA	CNPJ: 01.263.896/0015-60

SISBIO

1	ITAMARATI	AM	Rio Xeruã	Fora de UC Federal
2	CODAJAS	AM	Lago Uauaçu	Fora de UC Federal
3		AM	RESERVA EXTRATIVISTA MEDIO JURUA	UC Federal
4	ANORI	AM	RESERVA DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTAVEL PIAGAÇU-PURUS	Fora de UC Federal
5	CARAUARI	AM	Reserva de Desenvolvimento Sustentável Uacari	Fora de UC Federal
6	FONTE BOA	AM	Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá	Fora de UC Federal
7	SAO PAULO DE OLIVENCA	AM	Várzea do Rio Solimões	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Crax globulosa
2	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Crax globulosa
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Crax globulosa
4	Marcação de animais silvestres in situ	Crax globulosa
5	Observação e gravação de imagem ou som	Crax globulosa

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Penas, Fragmento de tecido/órgão, Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Sangue
2	Método de captura/coleta (Aves)	Armadilha fotográfica, Rede de neblina, Vara com laço, Bioacústica
3	Método de marcação (Aves)	Rádio transmissor externo, Anilha de Alumínio (padrão CEMAVE), Anilha colorida

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

SISBIO

Código de autenticação: 49822914

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 40017-3	Data da Emissão: 17/12/2013 11:45	Data para Revalidação*: 16/01/2015

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Gabriel Augusto Leite	CPF: 226.228.258-70
Título do Projeto: Conservação de Crax globulosa (Aves: Cracidae): ecologia, variabilidade genética e efeitos da caça	
Nome da Instituição : INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA	CNPJ: 01.263.896/0015-60

SISBIO

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

SISBIO

Código de autenticação: 49822914