

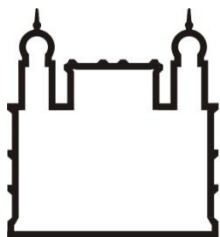
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde

PEQUENOS MAMÍFEROS EM PAISAGENS
FRAGMENTADAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E
IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO DE HANTAVÍRUS

JONATHAN GONÇALVES DE OLIVEIRA

Rio de Janeiro
Agosto de 2014



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde

JONATHAN GONÇALVES DE OLIVEIRA

PEQUENOS MAMÍFEROS EM PAISAGENS FRAGMENTADAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO DE HANTAVÍRUS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração: Saúde Ambiental.

Orientador: Dr. Paulo Sérgio D'Andrea
Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios – LABPMR

RIO DE JANEIRO
Agosto de 2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

O48 Oliveira, Jonathan Gonçalves de
Pequenos mamíferos em paisagens fragmentadas do estado do Rio de Janeiro e
implicações na transmissão de Hantavírus / Jonathan Gonçalves de Oliveira. – Rio de
Janeiro, 2014.

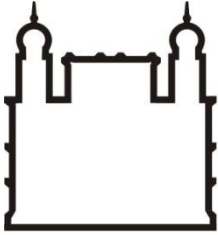
55 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e
Saúde, 2014.

Bibliografia: f. 38-51

1. Pequenos mamíferos. 2. Fragmentação. 3. Mata Atlântica. 4. Hantavírus. 5.
Akodon cursor. I. Título.

CDD 614.588



Ministério da Saúde

Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós graduação em Biodiversidade e Saúde

AUTOR:

Jonathan Gonçalves de Oliveira

“PEQUENOS MAMÍFEROS EM PAISAGENS FRAGMENTADAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO DE HANTAVÍRUS”

ORIENTADOR: Dr. Paulo Sérgio D’Andrea

Aprovada em: 18/09/2014

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Darcílio Fernandes Baptista **Presidente** (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz)

Prof. Dr. José Luis Cordeiro (Campus Fiocruz Mata Atlântica)

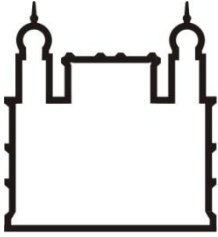
Prof. Dra. Maja Kajin (Universidade do Estado do Rio de Janeiro)

Suplentes:

Prof.^a Dra. Elizabeth Rangel (Instituto Oswaldo Cruz)

Prof.^o Dr. Carlos Eduardo Grelle (Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Rio de Janeiro, 18 de dezembro de 2014



Ministério da Saúde

Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde


Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa da dissertação de mestrado em Biodiversidade e Saúde de **Jonathan Gonçalves de Oliveira**, sob orientação do Dr. Paulo Sergio D'Andrea. Ao décimo oitavo dia do mês de setembro de dois mil e quatorze, realizou-se às quatorze horas, na Auditorio Maria Deane/FIOCRUZ, o exame da dissertação de mestrado intitulada: "**Pequenos mamíferos em paisagens fragmentadas do Estado do Rio de Janeiro e implicações na transmissão de hantavírus**" no programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração: Saúde Ambiental e Humana, na linha de pesquisa: Estudos interdisciplinares sobre mamíferos silvestres com ênfase em reservatórios de zoonoses. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Darcilio Fernandes Baptista – IOC/Fiocruz (presidente), Dr. José Luís Passos Cordeiro – Fiocruz e Drª. Maja Kajin – UERJ/RJ; e como suplente: Drª. Elizabeth Ferreira Rangel – IOC/Fiocruz. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela aprovação da defesa da dissertação de mestrado. De acordo com o regulamento do programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de **Mestre em Ciências** está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Coordenador do Programa, Dr. Cleber Galvão Ferreira, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 18 de setembro de 2014.


Dr. Darcilio Fernandes Baptista (Presidente da Banca):


Dr. José Luís Passos Cordeiro (Membro da Banca):


Drª. Maja Kajin (Membro da Banca):


Dr. Cleber Galvão Ferreira (Coordenação do Programa):

“Quem passou a vida em brancas nuvens
E em plácido repouso adormeceu,
Quem não sentiu o frio da desgraça,
Quem passou pela vida e não sofreu
Foi espectro de homem, não foi homem,
Só passou pela vida, não viveu.”

(Citação Sr. Heleno – Cambuci /
Autor: Francisco Otaviano)

AGRADECIMENTOS

Enfim chegou o tão o esperado momento! Espero não esquecer ninguém, caso isso aconteça desde já me perdoem!

Agradeço em especial aos meus familiares, minha mãe e irmã mesmo estando distante, o incentivo de vocês foi muito importante para que eu tivesse forças nessa caminhada. À minha avó Maria que sempre esteve ao meu lado e não seria possível alcançar esse objetivo se não fosse pela senhora na minha vida. Aos meus amigos: Kelly Keirsbaumer, Rômulo Rodrigues, Luana Cristina que são como uma família pra mim e que me incentivaram em todas as fases desse processo.

Agradeço aos meus orientadores, o Dr. Paulo Sérgio D'Andrea, obrigado pelos conselhos, puxões de orelha, pela amizade e por ter acreditado em mim. À minha co-orientadora Dra. Natalie Olifiers, que foi um anjo na minha vida, me colocou na linha de frente e me ensinou ser independente. Obrigado por ser minha base neste estudo e um referencial a ser seguido.

Agradeço ao meu amigo e treinador, Msc. Sócrates Neto, que me ensinou todas as técnicas de campo e biossegurança. Desde a elaboração e coordenação de uma expedição a entrega de amostras, nos mínimos detalhes, obrigado pela paciência e pelo cuidado comigo.

Ao meu amigo Bernardo, (meu amigo doutor!) que me acompanhou desde a iniciação e esteve do meu lado, me ajudando nas burocracias, obrigado pelas nossas conversas esclarecedoras, pelo carinho que você tem por mim, muito obrigado mesmo.

Agradeço também a minha amiga e fiel escudeira do campo Camila Lucio. Em meio a tantas viagens, compromissos, datas a cumprir, sempre esteve do meu lado e hoje como posso ver colhe os frutos da sua dedicação. Eu te admiro muito como profissional e te amo como um grande amigo!

Agradeço também a minha gerente de qualidade, Msc. Michele que me ensinou a fazer um trabalho de campo dentro dos trâmites da Fiocruz (e são muitos!). Obrigado pela paciência, pelos ensinamentos e por me tornar um profissional melhor!

Ao meu amigo Thiago Cardoso que participou de todas as expedições coletando as informações do habitat, muito obrigado por sua boa vontade em ficar o dia inteiro nas trilhas!

À Dra. Cibele Bonvicino, muito obrigado por me ensinar tanto sobre Taxonomia e me fazer apaixonar por essa área. Em conjunto, também agradeço a Dra. Ana Lazar, Dra. Leila Pessôa e Dr. João Oliveira, obrigado a todos vocês pela ajuda nas identificações dos pequenos mamíferos.

Obrigado às secretarias municipais e os proprietários dos locais onde realizamos as expedições, pessoas muito solícitas ao trabalho de campo. É muito gratificante saber que as pessoas têm se conscientizado da importância da pesquisa científica.

À Dra. Elba Lemos e a equipe do LHR: Renata, Alex, Jorlan, Cristiane e Raphael. Que muito me ajudaram desde a catalogação das amostras até a tentativa de detecção molecular. Obrigado por me ensinarem tanto e serem tão participativos nesse trabalho!

À equipe excepcional do LABPMR (Fernanda, Tainá, Bruna, Patrícia, Ana Paula, Alex, Juliana, Raquel, Alexandra, Roberto, Rosana, Marta Julia, Jeiel, Dani Dias, Fabiana, Luana, Mariane, Leila entre outros), obrigado pelas conversas na copa, pelas discussões científicas e pela troca de aprendizado diário. Ao meu chefe Prof.^o Dr. Arnaldo Maldonado, que mesmo com todas as demandas, é preocupado com o desenvolvimento de todos os alunos do laboratório.

Ao meu companheiro Luiz Carlos que suportou todo meu estresse para elaboração dessa dissertação, obrigado por ter sido meu apoio e por toda força que você me passa todos os dias.

Agradeço a CAPES e CNPq, e ao projeto Atração de Jovens Talentos/ Ciência sem fronteiras (Proj. 050 – 2012) pelo financiamento das expedições de coleta e pelas compras de materiais de apoio para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

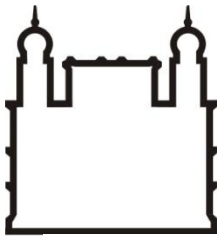
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
1.INTRODUÇÃO.....	5
1.1.Os pequenos mamíferos da Mata Atlântica do Rio de Janeiro.....	5
1.2.A fragmentação na Mata Atlântica e os pequenos mamíferos.....	6
1.3.Pequenos mamíferos e a Hantavirose.....	7
2.JUSTIFICATIVA.....	9
3.OBJETIVO GERAL.....	10
3.1.Objetivos específicos.....	10
4.METODOLOGIA.....	10
4.1.Áreas de estudo.....	10
4.2.Metodologia de coleta.....	12
4.3.Identificação das espécies.....	15
4.4. Análise de dados.....	16
4.4.1. Métricas de paisagem.....	16
4.4.2.Composição de espécies.....	19
4.5. Diagnóstico de infecção por hantavírus através de sorologia.....	20
4.6. Preferência de habitat de <i>Akodon cursor</i>	21
5.RESULTADOS.....	21
5.1 Captura de espécimes.....	21
5.2. Descrição das espécies coletadas: <i>Species Account</i>	23
5.3. Composição de espécies.....	27
5.3 Diagnóstico de Hantavírus dos roedores sigmodontíneos.....	30
5.4. Preferência do habitat de <i>Akodon cursor</i>	30
6.DISSCUSSÃO.....	31
6.1. Levantamento e caracterização da fauna de pequenos mamíferos.....	31
6.2. Influência dos descritores geográficos e habitat na composição de espécies de pequenos mamíferos.....	33
6.3. Diagnóstico de infecção por hantavírus e caracterização do hábitat dos reservatórios encontrados.....	35
7.CONCLUSÕES.....	37
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
9.ANEXOS.....	52

Índice de figuras

Figura 4.1.1 - Áreas de estudo nas regiões noroeste e centro-norte do estado do Rio de Janeiro	11
Figura 4.2.a - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Cambuci, estado do Rio de Janeiro	13
Figura 4.2.b - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Miracema, estado do Rio de Janeiro	13
Figura 4.2.c - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Sumidouro, estado do Rio de Janeiro	14
Figura 4.2.d - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Varre-sai, estado do Rio de Janeiro	14
Figura 5.3.2 – Dendrograma de similaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos de fragmentos florestais amostrados no estado do Rio de Janeiro. (SD=Sumidouro; MI=Miracema; VS=Varre-sai; CB=Cambuci).....	29
Figura 5.3.3 – Dendrograma de similaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos nos municípios amostrados no estado do Rio de Janeiro. (SD=Sumidouro; MI=Miracema; VS=Varre-sai; CB=Cambuci).....	30
Figura 6.1.1: A=Agrupamento obtido nas análises moleculares do laboratório; B=Árvore obtida por Lara & Patton (2000)	32

Lista de Tabelas

Tabela 4.1.2 – Informações gerais sobre as áreas de estudo no estado do Rio de Janeiro.....	12
Tabela 4.4.1.1 – Tamanho, forma e grau de isolamento dos fragmentos estudados. SD= Sumidouro, CB= Cambuci, VR=Varre-sai, MI= Miracema.....	17
Tabela 4.4.1.2: Variáveis de habitat nas estações de captura de pequenos mamíferos das áreas amostrados no estado do Rio de Janeiro.....	18
Tabela 4.4.1.3: Correlações entre as variáveis de habitat e o primeiro componente principal (em negrito são mostradas correlações acima de 0.60). Total explicado = porcentagem da variação total dos dados explicada pelo componente.....	19
Tabela 5.1.1: Esforço e sucesso de captura nas áreas de estudo.....	22
Tabela 5.1.2: Espécies e número de espécimens de pequenos mamíferos capturados nos transectos em fragmentos florestais, nos município de Sumidouro (SD), Varre sai (VS), Miracema (MI) e Cambuci (CB), no estado do Rio de Janeiro.....	22
Tabela 5.1.3: Espécies e número de espécimens de pequenos mamíferos capturados nos transectos em área aberta (pasto), nos município de Sumidouro (SD), Varre sai (VS), Cambuci (CB) e Miracema (MI), no estado do Rio de Janeiro.....	23
Tabela 5.3.1: Resultados de regressão múltipla de matrizes de dissimilaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos de fragmentos florestais no estado do Rio de Janeiro.....	28
Tabela 5.5.1: Valor de Beta, Chi-Quadrado e Alfa dos <i>factors scores</i> da ACP em relação a abundância de <i>Akodon cursor</i>	31
Tabela 5.5.2: Correlação entre as variáveis de habitat e os três primeiros componentes da análise de componentes principais e porcentagem da variação nos dados explicada por cada um dos fatores. Em negrito são mostradas correlações acima de 0.60.....	31



Ministério da Saúde

Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

PEQUENOS MAMÍFEROS EM PAISAGENS FRAGMENTADAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E IMPLICAÇÕES NA TRANSMISSÃO DE HANTAVÍRUS

RESUMO

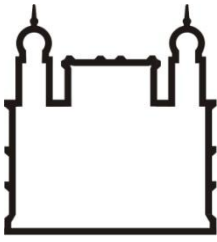
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Jonathan Gonçalves de Oliveira

A Mata Atlântica é um dos biomas de maior biodiversidade e um dos mais ameaçados, principalmente pelo processo de fragmentação florestal. Roedores e marsupiais formam o grupo mais diversificado dentre os mamíferos e exercem influência no dinamismo de florestas neotropicais, sendo bons indicadores de alterações na paisagem. Além disso, este grupo é de grande interesse para saúde humana, pois diversas espécies estão envolvidas em ciclos zoonóticos. Os roedores em particular, são hospedeiros específicos dos hantavírus, e o acompanhamento do seu ciclo de transmissão em áreas silenciosas para hantavirose contribui para estudos epidemiológicos sobre a doença. Os objetivos desse estudo foram: a) levantar a fauna de pequenos mamíferos de áreas fragmentadas de Mata Atlântica predominantemente na região noroeste fluminense; b) identificar os indivíduos por taxonomia integrativa; c) avaliar a influência de variáveis geográficas e de habitat na composição de espécies; d) avaliar a infecção por hantavírus nos roedores capturados e a preferência de habitat das espécies infectadas. Foram capturados 128 roedores e 81 marsupiais em 11 fragmentos florestais e em áreas de matriz alterada nos municípios de Cambuci, Miracema, Sumidouro e Varre-sai. A identificação taxonômica dos animais capturados foi feita por morfologia externa, cariotipagem e análises moleculares para os gêneros *Trinomys*, *Calomys*, *Oligoryzomys* e *Akodon*. A composição de espécies foi relacionada ao tamanho, forma e grau de isolamento dos fragmentos florestais, distância entre fragmentos e também a características do habitat (complexidade e heterogeneidade) por regressão múltipla de matrizes de similaridade. A similaridade na composição de espécies nos fragmentos e nos municípios foi então avaliada por dendrogramas de dissimilaridade. As amostras sorológicas dos roedores capturados foram submetidas ao teste imunoenzimático (ELISA) para detectar a infecção por hantavírus. A preferência do hábitat da única espécie sororreativa para infecção por hantavírus (*Akodon*

cursor) foi avaliada por modelo linear generalizado utilizando as variáveis de habitat (os três primeiros componentes de uma análise de componentes principais) como variáveis independentes e a abundância de *A. cursor* nas estações de captura como variável dependente. A composição de espécies de pequenos mamíferos não foi influenciada pelos descritores geográficos e de hábitat. No dendrograma gerado pela similaridade na composição de espécies nos fragmentos observou-se que fragmentos que continham apenas espécies mais generalistas agruparam-se separadamente dos que continham ao menos uma espécie especialista. Similarmente, paisagens amostradas que eram mais conservadas agruparam-se separadamente daquelas mais perturbadas. *Akodon cursor*, única espécie sororreativa, prefere áreas com dossel mais aberto e mais baixo, com sub-bosques abertos e com mais caules herbáceos e lenhosos, mostrando que esta espécie está adaptada a ambientes alterados. A ocorrência de circulação de hantavírus neste roedor e sua preferência por habitat alterado, sinaliza a importância da continuidade nos estudos sobre a circulação de hantavírus no estado do Rio de Janeiro, especialmente em áreas estudadas onde a paisagem encontra-se fragmentada e composta por espécies em sua maioria generalistas.

Palavras-chave: Pequenos mamíferos, Fragmentação, Mata Atlântica, Hantavírus, *Akodon cursor*.



Ministério da Saúde

Instituto Oswaldo Cruz
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

SMALL MAMMALS IN FRAGMENTED LANDSCAPES OF RIO DE JANEIRO AND IMPLICATIONS IN HANTAVIRUS TRANSMISSION

ABSTRACT

MASTER'S DISSERTATION IN BIODIVERSITY AND HEALTH

Jonathan Gonçalves de Oliveira

The Atlantic rainforest is one of the species' richest biomes and one of the most threatened, mainly by forest fragmentation. Marsupials and rodents are most diverse group among the mammals and influence the dynamics of Neotropical forests, being great indicators of landscape changes. Furthermore, this group is important to human health, because some species are involved in zoonotic cycles. Some rodents, in particular, are specific hosts for hantavirus; the monitoring of such species and the parasite transmission cycle in silent areas for hantavirus contributes to epidemiological studies of the disease. The objectives of this study were: a) to perform an inventory of small mammals in fragmented Atlantic forest areas predominantly in the northwest region of the Rio de Janeiro state; b) to identify specimens by integrative taxonomy; c) to evaluate the influence of geographic variables and habitat characteristics in species composition; d) to evaluate the hantavirus infection in rodents and to investigate habitat preference of the infected species. The captured animals were identified by external morphology, karyotype and molecular analyses for the genus *Trinomys*, *Calomys*, *Akodon* and *Oligoryzomys*. The influence of fragment size, shape and degree of isolation, distance between fragments and habitat features (complexity and heterogeneity) on species composition was tested using a multiple regression of dissimilarity matrices. Species composition in fragments and fragmented landscapes as a whole was then evaluated by cluster analysis using Jaccard similarity index and Wad's method of linkage. The serum samples of rodents were subjected to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect hantavirus infection. The habitat preference of *Akodon cursor* (the only species infected with hantavirus) was tested by generalized linear model with habitat features (the first three principal components of a Principal Component Analysis) as independent variables and *A. cursor* abundance in capture stations as the dependent variable. We obtained 128 rodents and 81 marsupials captured in 11 forest fragments and areas in the disturbed matrix in the municipalities of

Cambuci, Miracema, Sumidouro e Varre-sai. The species composition of small mammals was not influenced by any geographic and habitat descriptors. In the dendrogram generated by the similarity in species composition in fragments, we observed that fragments containing only generalist species were clustered separately from those that had at least one specialist species. Similarly, conserved landscapes clustered separately from disturbed ones. *Akodon cursor* preferred areas with more open and low canopy height, with open understory, more herbaceous cover and woody stems, showing that this species is adapted to disturbed habitats. The occurrence of hantavirus circulation in this rodent and its preference for altered habitat, signals the importance of monitoring studies about the this zoonosis in the state of Rio de Janeiro, especially in areas where the landscape is fragmented and composed of generalist species.

Keywords: Small mammals, Fragmentation, Atlantic forest, Hantavirus, *Akodon cursor*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Os pequenos mamíferos da Mata Atlântica do Rio de Janeiro

A fauna de pequenos mamíferos de diversas áreas de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro tem sido inventariada ao longo dos anos e seus aspectos ecológicos acompanhados: Bacia de Macacu no município de Guapimirim (Olifiers, 2002; Vieira et al. 2009), Parque Nacional da Serra dos Orgãos, em Teresópolis (Olifiers et al. 2007; Vaz. V et al. 2007), Vale do Pamparrão, em Sumidouro (D'Andrea et al. 1999), Reserva Biológica do Poço das Antas, em Casimiro de Abreu (Feliciano et al. 2002), Serra da Concórdia, em Valença (Modesto et al. 2008a), Parque Estadual do Desengano, em Santa Maria Madalena (Modesto et al. 2008b), RPPN de Rio das Pedras, em Mangaratiba (Pessôa et al. 2009), Serrinha do Alambari, no município de Resende (Geise et al. 2004), Restinga de Jurubatiba, em Macaé (Bergallo et al. 2005), Parque Nacional da Serra da Bocaina (Delciellos et al. 2012), Parque Nacional da Tijuca, na capital do estado (Freitas S.R., 2006), Fazenda Esmeralda, em Cambuci (Albuquerque et al. 2013), Aldeia Guarani do Bracuí e na Vila Dois Rios em Ilha Grande, em Angra dos Reis (Bittencourt & Rocha, 2002; Cunha & Rajão, 2007; Pereira L., 2001), Parque do Ingá, em Volta Redonda (Pereira S. et al. 2013), Serra do Tinguá, em Nova Iguaçu (Vaz, 1984), entre outros.

Os pequenos mamíferos (marsupiais e roedores) formam o grupo ecológico mais diversificado de mamíferos com cerca de 289 espécies atualmente reconhecidas para o Brasil, sendo 55 espécies de marsupiais distribuídos em 16 gêneros e 234 espécies de roedores distribuídos em 74 gêneros (Paglia et al. 2012). A ordem Rodentia representa 32% dos mamíferos da Mata Atlântica (98 espécies) e 31% dos mamíferos do Cerrado (78 espécies), enquanto que a ordem Didelphimorphia representa 7,3% dos mamíferos da Mata Atlântica (22 espécies) e 10% dos mamíferos de Cerrado (26 espécies) (Paglia et al. 2012). Em conjunto com as informações sobre a ecologia das espécies e das comunidades de pequenos mamíferos não-voadores, os marsupiais e roedores exercem influência importante na dinâmica das florestas Neotropicais e são bons indicadores tanto de alterações locais do habitat como alterações da paisagem (Pardini, 2006).

Os levantamentos de pequenos mamíferos com a coleta de espécimes testemunhos são o primeiro passo para se estudar o grupo e os efeitos que processos como a fragmentação florestal exercem sobre as espécies; ainda, permitem uma correta avaliação da ocorrência e distribuição geográfica das espécies, sendo a base para estudos de taxonomia e biogeografia. Além disso, tais estudos são de grande interesse para a saúde humana, pois diversas espécies de pequenos mamíferos - principalmente roedores - são hospedeiras de agentes etiológicos que podem infectar o homem e causar doenças de origem zoonótica (Mills, 2006). Caso estes levantamentos faunísticos sejam acompanhados pela coleta de amostras de tecidos e órgãos dos animais para o diagnóstico de parasitas, tais estudos podem então ainda auxiliar na compreensão de ciclos de

transmissão de zoonoses, uma vez que permitem identificar as áreas de ocorrência dos animais potencialmente reservatórios (Pinto et al. 2009).

1.2 . A fragmentação na Mata Atlântica e os pequenos mamíferos

A Mata Atlântica é o segundo bioma em número de espécies de mamíferos no Brasil, tendo como primeiro a Amazônia e terceiro o Cerrado (Paglia et al. 2012). Este bioma é considerado o quarto “*hotspot*” de biodiversidade do mundo, sendo um dos ecossistemas de maior biodiversidade, taxa de endemismo de espécies e também um dos mais ameaçados (Myers et al. 2000). A Mata Atlântica apresenta dez tipos diferentes de paisagens (IBGE 2008), sendo tal diversidade de paisagens uma das razões para o alto grau de endemismo de espécies. Este bioma tem sido alterado por intensa atividade antrópica como o extrativismo descontrolado, pecuária, agricultura e por processos relacionados com a industrialização e urbanização. Estas atividades resultaram na redução desse ecossistema em apenas 8,5% de fragmentos maiores de 100 hectares, tendo atualmente cerca de 11,7% da sua extensão original (Ribeiro et al. 2009; Fundação SOS Mata Atlântica, 2014). A Mata Atlântica é representada principalmente por pequenos remanescentes florestais, dos quais apenas 1,62% são localizados em áreas protegidas (Rocha et al. 2003; Bergallo et al. 2009;).

No estado do Rio de Janeiro, a situação da Mata Atlântica não é diferente. Apesar de sua maior porcentagem da cobertura vegetal nativa em comparação com outros estados brasileiros (19,60% a 20,33% dependendo dos autores), os remanescentes florestais estão dispersos e fragmentados (Fidalgo et al. 2009; Fundação SOS Mata Atlântica e INPE 2009). O Rio de Janeiro representa 58% do Corredor da Serra do Mar; cerca de 90% da sua extensão no estado já desapareceu e apenas 0,2 % de sua área original de Mata Atlântica estão protegidas em unidades de conservação (Costa et al. 2009).

A fragmentação é o processo ambiental de desmatamento/descharacterização da paisagem, que reduz a mata antes contínua em fragmentos florestais (Laurance & Bierregaard, 1997; Huxley & Hastings, 1999; Castro & Fernandez, 2004). Nos últimos anos, têm se intensificado os estudos acerca do impacto deste processo nas comunidades de mamíferos (Debinski & Holt 2000; Fonseca & Robinson, 1990; Stevens & Husband, 1998; Turner, 1996) buscando-se entender quais os fatores que são determinantes para alterações nas comunidades (Castro & Fernandez, 2004, Pardini et al. 2010). Assim, na Mata Atlântica há estudos relacionando características da paisagem como porcentagem de cobertura vegetal, a área, forma, grau de isolamento dos remanescentes e a natureza da matriz alterada nas comunidades de pequenos mamíferos (Pires et al. 2002; Umetsu, 2006; Vieira et al. 2009; Galletti et al. 2009). Os efeitos do tamanho e grau de isolamento dos remanescentes sobre a riqueza de espécies são relativamente bem conhecidos e tomam como base a relação *espécie-área* descrita pela Teoria de Biogeografia de Ilhas (Diamond & May, 1976). Fragmentos menores geralmente apresentam um menor número de espécies devido a

perda de área e redução das populações, aumentando a probabilidade de extinção destas e/ou porque áreas menores tendem a apresentar um número menor de habitats distintos e, conseqüentemente, uma menor riqueza de espécies (Connor & McCoy 1979; Forman et al. 1976; Gilpin & Soulé 1986, Saunders et al. 1991). Fragmentos mais isolados, por sua vez, teriam menor riqueza de espécies em decorrência da menor taxa de colonização/recolonização de espécies e o fluxo gênico reduzido entre populações de diferentes áreas (Ralls et al. 1986; Caughley 1994). Os efeitos dessas variáveis sobre a *natureza* das espécies dos fragmentos (a composição de espécies), por outro lado nem sempre detectados (Olifiers 2002).

Assim como a área e grau de isolamento, a forma de um fragmento também influencia nas comunidades de mamíferos, pois a proporção de borda de um remanescente geralmente tem relação direta com a magnitude do efeito de borda (Murcia, 1995; Primack & Rodrigues, 2001; Volatão, 1998). Fragmentos com formato mais circular apresentam menor proporção de borda em relação à sua área total e o centro do fragmento se encontra mais distante das bordas, proporcionando habitats menos alterados e favorecendo populações de espécies mais especialistas. Por outro lado, fragmentos com formas irregulares, principalmente alongadas, sofrem o efeito de borda constantemente e espécies mais generalistas são predominantes neste fragmentos. Assim, espécies que necessitam de habitats mais preservados são as primeiras a se extinguirem destes fragmentos com formas irregulares, particularmente se forem pequenos. No entanto, espécies oportunistas beneficiam-se dessas condições e aumentam sua densidade nessas áreas, podendo acarretar numa perturbação na comunidade como um todo e reduzir a diversidade no ecossistema (Murcia, 1995). Assim, a forma de um remanescente pode influenciar não somente a riqueza de espécies, mas também a sua composição.

Além de variáveis geográficas dos fragmentos, características diretamente relacionadas ao habitat das espécies são determinantes para a ocorrência e abundância de pequenos mamíferos (Kruess & Tschardtke, 1994; Schweiger et al. 1999) e, conseqüentemente afetam a composição de espécies. Estudos que avaliam a preferência de habitat por espécies, por exemplo, são essenciais para se determinar a posição relativa de espécies no *continuum* generalista-especialista e portanto para se determinar o quão sensível determinada espécie é a alterações ambientais.

1.3. Pequenos mamíferos e a Hantavirose

Outro aspecto que vem sendo investigado neste contexto da fragmentação florestal é como a dinâmica de infecção por um parasita é afetada dentro de uma comunidade em áreas fragmentadas (D'Andrea 1999; Vaz et al. 2007; Püttker et al. 2008; Gentile et al. 2010). O processo de emergência de novas doenças ou re-emergência de outras já controladas principalmente de origem zoonótica está em sua grande maioria relacionado a mamíferos

silvestres e a alterações ambientais, como no caso das hantavirose (Mills & Childs, 1998; Daszak et al. 2000; Sutherst et al. 2001; Mills, 2006).

Os Hantavírus têm sido reconhecidos como agentes etiológicos de febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) desde a década de 1950, na Ásia e Europa (Lee et al. 1978; Ruo, 1994). Nas Américas, infecção em seres humanos por hantavírus só foi reconhecida em 1993 em um surto de casos humanos nos Estados Unidos (Nichol, 1993); no mesmo ano, casos humanos no interior de São Paulo foram identificados (Silva, 1997). A hantavirose é causada por vírus da família Bunyaviridae e é considerada pelo Centro de Doenças Infecciosas (CDC) como uma doença do tipo *rodent-borne* (Mills, 2006) na qual sua transmissão é direta entre roedores e humanos, sem a participação de vetores. Apresenta-se como uma das principais doenças emergentes da atualidade no Brasil devido à sua alta taxa de mortalidade, crescente ocorrência em praticamente todo o território nacional apesar da possível subnotificação associada a essa doença e à ausência de medicação específica. A veiculação do vírus ocorre através da inalação de aerossóis de fezes e urina de roedores sigmodontíneos (Lednicky, 2003; Vaheri et al. 2011). Ainda, sugere-se que a especificidade do vírus com estes roedores seja decorrente de uma longa história co-evolutiva entre este grupo de roedores e os hantavírus (Plyusnin et al. 1996, Spiropoulou et al. 1994).

Os roedores sigmodontíneos em particular (Cricetidae: Sigmodontinae) passam a ter grande importância para estudos epidemiológicos a partir da descoberta da hantavirose no Brasil para a qual são apontados como reservatórios específicos. Nesses 20 anos, desde a descoberta do vírus, foram identificados oito genótipos de hantavírus no Brasil (Mills, 2006). Dentre eles, seis são classificados como vírus patogênicos, sendo eles: o vírus Juquitiba (JUQV), associado a *Oligoryzomys nigripes*; o vírus Araraquara (ARAV), associado a *Necromys lasiurus* (Suzuki et al. 2004); o vírus Castelo dos Sonhos (CASV), associado a *Oligoryzomys utiaritensis* (Rosa, 2008; Agrellos et al. 2012); o vírus Anajatuba (ANAJV), associado a *Oligoryzomys fornesi* (Rosa et al. 2005; Rosa, 2008); o vírus Laguna Negra (LNV), associado a *Calomys callidus* (Raboni et al. 2009); e o vírus Rio Mamoré (RIOMV) associado a *Oligoryzomys microtis* (Oliveira et al. 2014) além de Araucária (ARAUUV) do Paraná, caracterizado somente em humanos e considerado um vírus “*Juquitiba-like*” (Raboni et al. 2005); outros dois genótipos virais são classificados como não-patogênicos pois foram caracterizados somente a partir de roedores: vírus Rio Mearim (RMV) associado a *Holochilus sciureus* e vírus Jaborá (JABV) associado a *Akodon montensis* (Oliveira et al. 2011).

No estado do Rio de Janeiro, existem evidências sorológicas e moleculares da circulação de hantavírus patogênico no roedor *O. nigripes* (vírus genótipo Juquitiba) na região da Serra dos Órgãos, Teresópolis (Sobreira et al. 2008; Oliveira et al. 2009) e Valença (Cardozo, 2011), bem como evidência sorológica de circulação do vírus no roedor *Akodon cursor* (Sobreira et al. 2008). Adicionalmente, *N. lasiurus*, *A. montensis* e *Calomys tener* ocorrem no Rio de Janeiro (Rocha et al. 2004) e são reservatórios do vírus em outros estados (vírus genótipo Araraquara em *N.*

lasiurus, Suzuki et al. 2004; e vírus genótipo Jaborá em *A. montensis*, Oliveira, 2007) ou já foram expostos ao vírus (evidência sorológica em *C. tener*, Suzuki et al. 2004). Assim, estas são espécies potencialmente reservatórios no estado do Rio de Janeiro. Apesar da circulação no meio silvestre, ainda são escassas as evidências sorológicas da circulação de hantavírus em humanos (Lamas et al. 2013; Strecht, 2014) e ainda não existem casos clínicos notificados no estado, embora estes sejam relativamente comuns em estados vizinhos (Katz et al. 2001; Figueiredo et al. 2009; Limongi et al. 2009).

De maneira geral, ainda se sabe muito pouco sobre a ocorrência de hantavírus no Rio de Janeiro, bem como os fatores que determinam a ocorrência e prevalência desta infecção nos reservatórios silvestres no país (Owen et al. 2010; Donalisio & Peterson, 2011). No entanto, vale ressaltar que *O. nigripes* e *A. cursor* são roedores generalistas adaptados ao peridomicílio e a ambientes alterados (Olifiers et al. 2005; Magrini & Facure 2008; Boneker et al. 2009), o que aumenta o risco de transmissão a humanos na interface entre meio silvestre e peridomicílio; ainda, embora *N. lasiurus* e *C. tener* sejam típicos do Cerrado, suas ocorrências no bioma Mata Atlântica são um indício que a alteração deste bioma e sua transformação em áreas mais abertas como capinzais pode estar facilitando a introdução destes roedores no estado (e.g. Feliciano et al. 2002). Por estes motivos, torna-se premente a realização de estudos ecológicos e sobre o parasitismo nessas espécies, para determinar, por exemplo, a preferência de habitat dessas espécies potencialmente reservatórios do Rio de Janeiro e se os hantavírus encontram-se circulando no meio silvestre.

2. JUSTIFICATIVA

Esta dissertação está inserida num programa de estudo sobre a fauna de pequenos mamíferos do Estado do Rio de Janeiro e seu potencial como reservatórios de agentes zoonóticos, particularmente os hantavírus (Proc. E-26/103.285/2011, Edital Jovem Cientista do Nosso Estado, FAPERJ, 2011). As informações geradas integram a base de dados que vem sendo acumulada em nível estadual, contribuindo para estudos taxonômicos e ecológicos de pequenos mamíferos, como também para estudos epidemiológicos sobre a transmissão de hantavirose.

Para a região do noroeste do Rio de Janeiro, quase não existem levantamentos faunísticos de mamíferos e estudos sobre agentes etiológicos circulantes entre os mamíferos silvestres. O processo de fragmentação nessa área é decorrente de intensa atividade agrícola e criação de animais. Pouco se sabe sobre a fauna de sigmodontíneos e sobre a ocorrência de hantavírus entre estes roedores. Além disto, esta região faz limite com o estado de Minas Gerais, onde é observada grande circulação de hantavírus em fauna tipicamente de Cerrado (Limongi et al. 2007).

3. OBJETIVO GERAL

Estudar a fauna de pequenos mamíferos de quatro paisagens fragmentadas predominantemente no noroeste fluminense, investigando a influência de características da paisagem na composição de espécies de pequenos mamíferos e na ocorrência de infecção por hantavírus.

3.1. Objetivos específicos

- a) Levantar a fauna de pequenos mamíferos;
- b) Realizar a identificação específica por taxonomia integrativa (morfologia externa, citogenética e molecular);
- c) Avaliar a influência do tamanho, forma, grau de isolamento, distância entre fragmentos e do microhabitat sobre a composição de espécies de pequenos mamíferos dos remanescentes florestais;
- d) Avaliar a infecção por hantavírus nos roedores sigmodontíneos das áreas amostradas;
- e) Avaliar a preferência de habitat das espécies infectadas por hantavírus.

4. METODOLOGIA

4.1 Áreas de estudo

O levantamento de pequenos mamíferos foi realizado no oeste fluminense, sendo três municípios na região noroeste e um na região centro-norte do estado do Rio de Janeiro, respectivamente: Varre-Sai (20° 55' 52" S, 41° 52' 8" W), Cambuci (21° 34' 22" S, 41° 54' 35" W), Miracema (21° 24' 53" S, 42° 11' 33" W) e Sumidouro (22° 2' 43" S, 42° 40' 24" W).

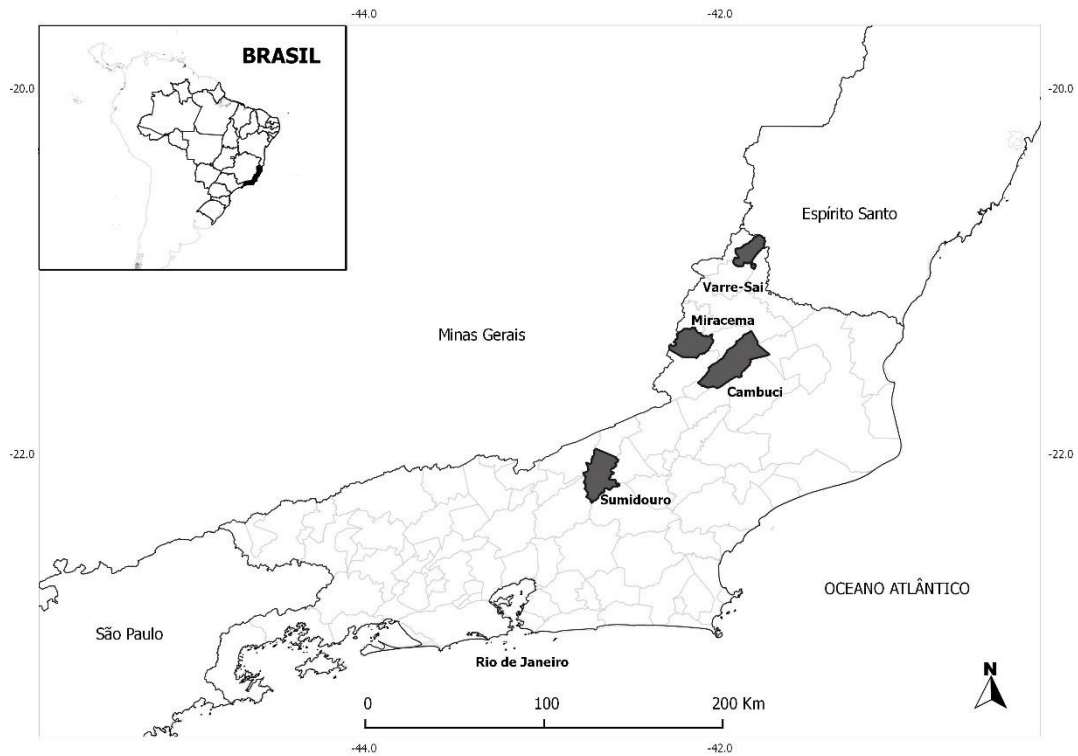


Figura 4.1.1 - Áreas de estudo nas regiões noroeste e centro-norte do estado do Rio de Janeiro.

Estas áreas são representadas por paisagens fragmentadas compostas por formações florestais primárias e secundárias em estágios médio e avançado de regeneração, caracterizadas como Floresta Ombrófila Densa e Floresta Estacional Semidecidual (Tabela 4.1.2). A maior parte das áreas estudadas localiza-se na região fitoecológica de Floresta Estacional Semidecidual e uma pequena parte em Floresta Ombrófila Densa, mais ao sul da região, no município de Cambuci e São Fidélis, próximos ao Parque Estadual do Desengano (Fundação SOS Mata Atlântica, 2012; PMMA, 2013). A vegetação secundária, presente em todas as áreas, é evidenciada por alterações de sua composição original, causada pela retirada de árvores e pela pressão de áreas antropizadas no seu entorno, além do aspecto visual de recomposição destas matas, incluindo a “capoeira” e “capoeirão” (Embrapa, 2004).

Todos os fragmentos estavam inseridos em matrizes caracterizadas predominantemente por pastagens. Observou-se a presença na maioria dos fragmentos de gado e animais domésticos (bovinos, equinos e cães), caçadores e/ou desmatamento para aumento das áreas de pastagens.

Os fragmentos de Cambuci eram situados na Fazenda Esmeralda, local onde um parque estadual está em fase de implantação. Os fragmentos no município de Miracema também estavam em uma área de proteção ambiental (APA), porém a área possuía muitos proprietários particulares e a fiscalização ambiental local ainda não está bem estruturada. Em Varre-sai, os fragmentos amostrados eram situados na RPPN (Reserva Particular de Patrimônio Natural) – Boa Vista, Fazenda Belo Monte. Em Sumidouro, os fragmentos situavam-se em áreas privadas,

não caracterizadas por nenhuma condição especial de conservação ou manejo.

Tabela 4.1.2 – Informações gerais sobre as áreas de estudo no estado do Rio de Janeiro.

Município De coleta	Período de coleta (seca)	Período de coleta (chuva)	Formação Fitoecológica*	Cobertura por remanescentes florestais (ha)**
Cambuci	Jul/2013	Dez/2013	FS/FD	5.396
Miracema	Abr/2013	Out/2013	FS	3.114
Varre-sai	Jun/2013	Nov/2012 Nov/2013	FS	1.906
Sumidouro	Ago/2013	Mar/2013	FD	7.223

Fonte: **Fundação SOS Mata Atlântica 2012; *Floresta Ombrófila Densa; FS: Floresta Estacional Semidecidual;

4.2 - Metodologia de coleta

Foram estabelecidos 7 transectos de captura espaçados pelo menos 500 metros entre si em cada paisagem fragmentada selecionada. Cada transecto foi composto por 15 estações de captura distantes 20 metros entre si. Dentre estes transectos, quatro foram dispostos em fragmentos florestais e três em matriz alterada (pasto). Em cada estação de captura, foram dispostas duas armadilhas do tipo *live-trap*, uma modelo Tomahawk (40,64cm x 12,70cm x 12,70cm) e uma do tipo Sherman (7,62cm x 9,53cm x 30,48cm), apropriadas para a captura de pequenos mamíferos vivos com até 3Kg. Adicionalmente, 6 armadilhas foram dispostas no sub-bosque (1-2 metros de altura), para a captura de animais com hábitos arborícolas dentro dos fragmentos. Foram realizadas duas expedições por área de estudo, uma na estação seca (de abril a agosto) e outra na estação chuvosa (de outubro a março). No município de Varre-sai, foi realizado uma terceira expedição na estação chuvosa (novembro).

Todas as expedições tiveram cinco noites consecutivas de captura. A isca utilizada foi uma mistura composta de *bacon*, aveia, banana e pasta de amendoim. Todos os transectos foram georreferenciados utilizando-se um GPS. As coletas foram realizadas mediante autorização do IBAMA (licença permanente para coleta de material zoológico número: 13373-1 – ANEXO 1).



Figura 4.2.a - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Cambuci, estado do Rio de Janeiro.

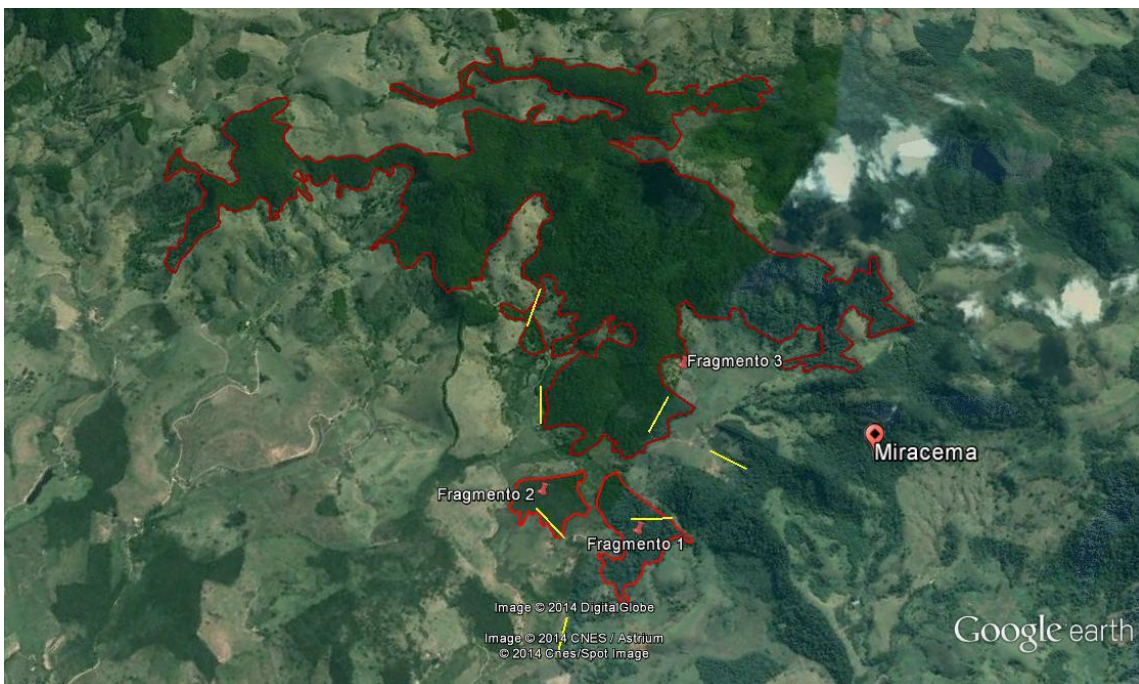


Figura 4.2.b - Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Miracema, estado do Rio de Janeiro

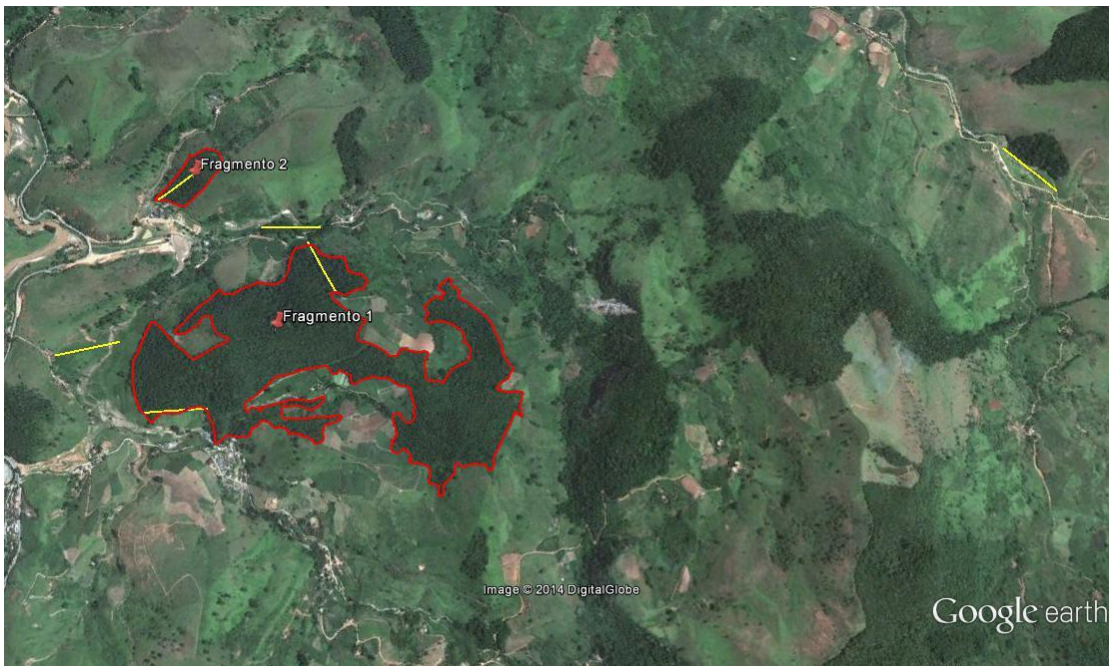


Figura 4.2.c Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Sumidouro, estado do Rio de Janeiro

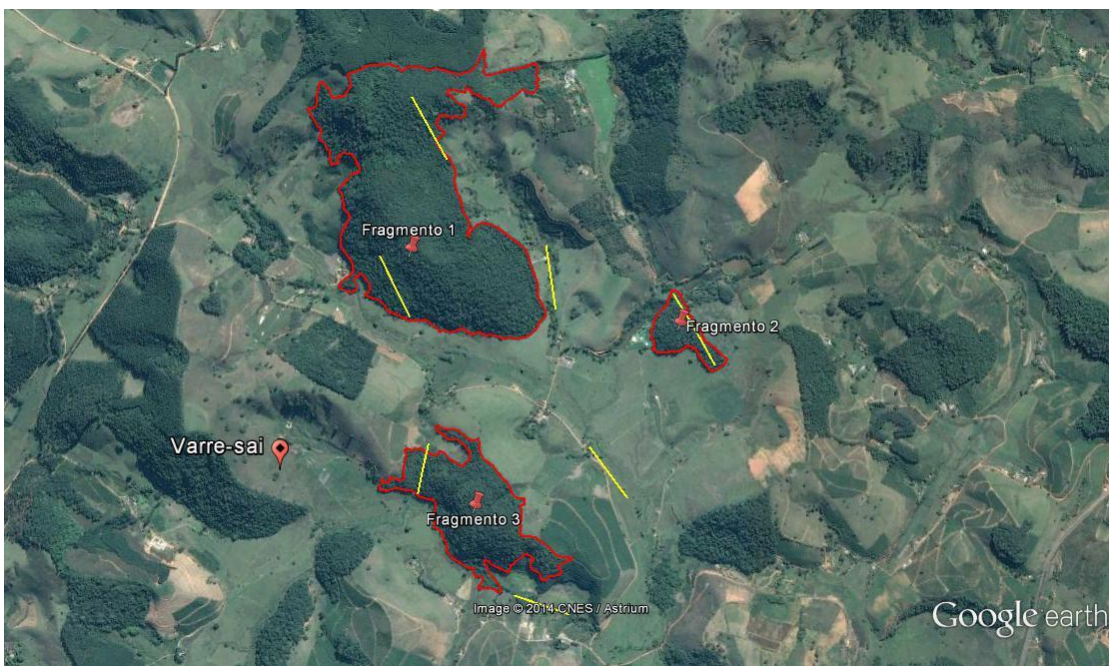


Figura 4.2.d Transectos de captura de pequenos mamíferos (em amarelo) e fragmentos amostrados (em vermelho) no município de Varre-sai, estado do Rio de Janeiro

As armadilhas eram verificadas quanto à presença de animais e iscas diariamente, durante todo o período de coleta. Os animais capturados eram removidos e levados para um laboratório de campo estabelecido nos arredores das áreas de captura. No laboratório de campo, os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (100mg/mL) associado a cloridrato de xilazina (20mg/ml) na proporção 1:1 para marsupiais e associado a acepromazina (10mg/ml) para roedores. Após a anestesia, foram coletados os dados bionômicos (ANEXO 2). A eutanásia dos

animais foi realizada por exanguinação total; porém, se a morte não fosse constatada, era realizada uma inoculação intra-cardíaca de cloreto de potássio a 19,1% numa dosagem de 2ml/Kg, com o animal ainda anestesiado. Todos os procedimentos seguiram protocolos experimentais aprovados na Licença CEUA (número 70/13-2 – ANEXO 3). Os indivíduos capturados foram taxidermizados e seus esqueletos preparados no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Pequenos Mamíferos Silvestres Reservatórios (FIOCRUZ) para depósito na coleção científica de mamíferos do Museu Nacional (UFRJ).

4.3 - Identificação das espécies

A identificação taxonômica foi baseada inicialmente na morfologia externa. Desta forma, todos os espécimes coletados foram identificados ainda no campo em nível de gênero, sendo feita a identificação em nível específico quando possível. No entanto, a identificação específica da maioria dos roedores só foi possível através da análise cariotípica por técnicas citogenéticas e, quando necessário, pela análise da morfologia craniana e técnicas moleculares. A técnica de cariotipagem visa determinar o número cromossômico diplóide e fundamental, com o objetivo de descrever e associar cada complemento cromossômico à espécie, complementando a identificação morfológica. A metodologia foi aplicada segundo Bonvicino (2011): as células em suspensão foram obtidas por cultura de medula óssea por 2 horas a 37°C realizadas em campo com meio estéril previamente preparado em tubos de prolipropileno de 15 mL contendo RPMI1640 (80%), soro bovino fetal (20%), colchicina (10-6M) e brometo de etídio (5µ/mL). Após incubação, os tubos foram centrifugados por 5-10 minutos e re-suspendidos em 10 mL de solução hipotônica fresca (KCl 0,075M). Após 30 minutos de hipotonização à temperatura ambiente, uma fixação inicial foi feita adicionando 1 mL de Carnoy fresco (3 Metanol:1 Ácido Acético) na solução hipotônica, seguido de centrifugação por 5-10 minutos. O material foi então fixado em 10 mL de Carnoy para posterior processamento em laboratório. No laboratório, amostras das células em suspensão foram preparadas em lâminas e coradas com Giemsa (4%) em tampão fosfato. Após a preparação das lâminas, as imagens das metáfases foram obtidas via microscópio óptico com câmara digital acoplada. Após a obtenção das fotografias das metáfases, os cariótipos foram montados seguindo uma ordem decrescente de tamanho dos autossomos, sendo que os cromossomos sexuais foram colocados a parte.

A confirmação da identificação taxonômica através de análises moleculares foi realizada para os gêneros *Trinomys*, *Calomys*, *Oligoryzomys* e *Akodon*. As amostras de DNA foram extraídas com um kit (PromegaWizard) seguindo o protocolo proposto pelo fabricante. As relações interespecíficas foram realizadas utilizando fragmentos de Citocromo b (cyt b) com aproximadamente 400 pares de base. A amplificação destes fragmentos foi realizada utilizando os iniciadores (primers) MVZ 05 (5'- CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT – 3') e MVZ 16 (5'- TAG GAA RTA TCA YTC TGG TTT RAT – 3') (Smith & Patton, 1993). As amplificações por PCR

foram realizadas em um volume final de 24 µL contendo de 20-80 ng de DNA, 0.2 µM de cada primer, 0.2 µM dNTP, 10x PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂ e 1.0 unidade de Taq DNA polimerase (GIBCO-BRL Life Sciences/Invitrogen®, Carlsbad, California). O ciclo do PCR começa por 1 minuto a 95°C; seguido por 10 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturação), 1 minuto a 50°C (anelamento) e 1 minuto a 72°C (extensão); 15 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturação), 1 minuto a 48°C (anelamento) e 1:30 minutos a 72°C (extensão); e ainda 15 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturação), 1 minuto a 45°C (anelamento) e 1:30 minutos a 72°C (extensão); e, finalmente 5 minutos a 75°C. Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose a 1%, foram purificados utilizando o kit GE Healthcare® (EUA), sendo quantificados no espectrofotômetro Nanodrop 1000c (Uniscience®). As reações de sequenciamento foram realizadas no sequenciador ABI 377 (AppliedBiosystems Inc.®). As seqüências foram visualizadas através de eletroferogramas, alinhadas através da ferramenta Clustal W no programa Mega 5.05 e então comparadas com seqüências depositadas no GenBank por meio da ferramenta Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Todas as identificações taxonômicas foram realizadas no Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro/RJ, sob a supervisão do Dr. Paulo Sérgio D'Andrea e da Dra. Cibele Rodrigues Bonvicino.

4.4 Análise de dados

Foi avaliada a influência das métricas da paisagem dos fragmentos (tamanho, forma, grau de isolamento, distância entre fragmentos), bem como complexidade e heterogeneidade de habitat sobre a composição de pequenos mamíferos dos fragmentos amostrados.

4.4.1. Métricas da paisagem

A área e perímetro dos fragmentos amostrados foram medidos no programa TrackMaker PRO, utilizando imagens recentes do GoogleEarth®. A partir dos valores obtidos foi possível calcular a forma dos fragmentos utilizando o Índice de Patton (1975) :

$$E = p/2a\pi$$

E= Índice de forma

p= perímetro do fragmento

a= área do fragmento

O valor mínimo de 1 representa um fragmento inteiramente redondo. O fragmento 3 de Cambuci e o fragmento 3 de Miracema apresentaram uma área total maior que 100 hectares. Em decorrência do tamanho bem maior que os demais fragmentos, acredita-se que o efeito de borda nesses dois fragmentos seja relativamente menor. Por este motivo, estabeleceu-se o valor de 1

para estes fragmentos (Olifiers, 2002). O grau de isolamento foi obtido pela distância média entre os 5 fragmentos mais próximos ao fragmento amostrado que tivessem uma extensão mínima de 280 metros, que corresponde ao tamanho total do transecto de amostragem (Tabela 4.5.1.1)

Tabela 4.4.1.1 – **Tamanho, forma e grau de isolamento dos fragmentos estudados.** SD= Sumidouro, CB= Cambuci, VR=Varre-sai, MI= Miracema.

Fragmentos amostrados	Área (ha)	Forma (Patton,1975)	Isolamento (m)
Frag 1- SD	79,9	3,09	465
Frag 2 – SD	4,43	3,90	512
Frag1 – CB	72,2	6,87	690
Frag 2 – CB	37,6	5,06	858
Frag 3 – CB	>100	1,00*	168
Frag 1 – VS	79,2	5,82	398
Frag 2- VS	6,4	6,35	540
Frag 3 – VS	22,3	5,10	495
Frag 1 – MI	26,2	5,40	198,2
Frag 2 – MI	15,8	4,71	250,2
Frag 3- MI	>100	1,00*	199,2

*valor estabelecido artificialmente para ser menor do que os demais fragmentos analisados.

A distância (m) entre os fragmentos foi calculada no software GoogleEarth®, onde foi traçado uma reta contínua (extensão de superfície terrestre) representando a menor distância em linha reta entre todos os pares possíveis de fragmentos amostrados.

Algumas das variáveis de habitat foram medidas em porcentagem enquanto outras foram estimadas em categorias ou contadas (Tabela 4.4.1.2) na estação de captura. As variáveis em porcentagem foram medidas no local de cada armadilha localizada no solo, sendo assim realizadas duas medições por estação de captura. O instrumento de medição das variáveis estimadas como porcentagem constituiu-se de um quadrado com bordas de PVC (0,5 x 0,5 m) dividido em 100 quadrados menores confeccionados com arame de modo a formar uma tela; as medições foram realizadas pela quantificação do número de obstrução dos quadrados, sendo considerados visualmente obstruídos aqueles com mais de 50% de obstrução ou vazios com menos de 50% de obstrução visual (Freitas et al. 2002). Estas medidas de habitat em seguida eram extrapoladas para 9m² (Freitas et al. 2002), que corresponde aproximadamente à área da estação e captura onde as armadilhas se localizavam. As demais variáveis foram quantificadas/estimadas diretamente dentro da estação de captura (9m²), sendo o subosque avaliado em três alturas (SUB_1, SUB_2 e SUB_3), em 4 direções (norte, sul, leste, oeste) a partir da armadilha Tomahawk localizada no solo. As variáveis de habitat foram medidas tanto na estação seca e na

úmida.

Tabela 4.4.1.2: **Variáveis de habitat nas estações de captura de pequenos mamíferos das áreas amostrados no estado do Rio de Janeiro.**

Variáveis estimadas para 9m ²	Definições
OFV	Obstrução Foliar Vertical de 0.50 cm a 1 metro de altura
CHL	Caules herbáceos e lenhosos (partes vivas)
FOL	Folhiço no solo
SOL	Solo exposto
PED	Rocha exposta
DOSSSEL	Cobertura do dossel
ALT_DOSS	Altura estimada de dossel (m)
ARV_DAP	Número de árvores com diâmetro a altura do peito > 5 cm
NºARV>1	Número de árvores maiores que 1 metro de altura
SUB_1	Sub-bosque 0 a 50 cm de altura: Ausente (0), Esparso (1) e Denso (2)
SUB_2	Sub-bosque 50cm a 1m de altura: Ausente (0), Esparso (1) e Denso (2)
SUB_3	Sub-bosque 1 m a 1,5m altura : Ausente (0), Esparso (1) e Denso (2)
Nº DE TRONCOS	Número de troncos com diâmetro mínimo de 5cm caídos dentro da estação de captura

Os descritores de habitat foram submetidos a uma Análise de Componentes Principais. Foi em seguida calculada a média e variância dos valores (*factor scores*) do primeiro componente principal para cada fragmento amostrado. A média dos valores do primeiro componente pode ser considerada uma medida de **complexidade** de habitat, uma vez que este componente explicou a maior parte da variação nos dados de habitat (29%) e representou principalmente variáveis relacionadas direta ou indiretamente à cobertura vegetal (CHL, FOL, DOSSSEL, ALT DOSSSEL, SUB_1, SUB_2; Tabela 4.5.2.3). Já a variância do componente pode ser considerada uma medida de **heterogeneidade** ambiental relacionada a essas variáveis; August (1983) utilizou um procedimento semelhante para descrever a complexidade e heterogeneidade do habitat medido no estrato vertical da floresta.

Tabela 4.4.1.3: **Correlações entre as variáveis de habitat e o primeiro componente principal (em negrito são mostradas correlações acima de 0.60). Total explicado = porcentagem da variação total dos dados explicada pelo componente.**

Variáveis de habitat	Fator 1
CHL	0,81
FOL	-0,80
SOL	0,23
PEDRA	-0,04
DOSSEL	-0,69
Nº DE TRONCOS	-0,36
OFV	0,26
ALT_DOSS	-0,65
ARV_DAP	-0,26
Nº_ARV>1	-0,35
SUB_1	-0,67
SUB_2	-0,78
SUB_3	-0,24
Total explicado (%)	29

4.4.2. Composição de espécies

A influência das características dos fragmentos sobre a composição de espécies foi analisada através de uma regressão múltipla de matrizes de dissimilaridade ($\alpha = 0.05$; 999 permutações), utilizando o programa **Permute! Versão 3.4 alpha 9** (Legendre, 2013). Foram geradas matrizes de similaridade entre todos os pares de fragmentos amostrados para as variáveis independentes: tamanho, forma, grau de isolamento dos fragmentos, complexidade e heterogeneidade de habitat. Essas matrizes foram em seguida transformadas em matrizes de dissimilaridade (1-similaridade). A matriz de distância entre fragmentos foi utilizada diretamente nas análises, após o cálculo da distância em metros entre todas as combinações de pares de fragmentos amostrados. As distâncias entre fragmentos localizados em diferentes paisagens foi calculada pela distância entre as paisagens amostradas. Ainda, o esforço de captura também foi incluído como variável independente na análise, uma vez que alguns fragmentos maiores tiveram mais de um transecto de amostragem em seu interior. As matrizes de similaridade das variáveis independentes (exceto a distância entre fragmentos) foram calculadas utilizando o Índice de Gower (Legendre & Legendre, 1998):

$$S_{12j} = 1 - [(y_{1j} - y_{2j}) / R_j]$$

S_{12j} = Similaridade entre o fragmento 1 e 2, de acordo com a variável;

$(y^1_j - y^2_j)$ = Módulo da diferença entre os valores da variável j entre os fragmentos 1 e 2

R_j = Maior diferença do descritor j entre dois fragmentos, considerando todos os fragmentos.

A dissimilaridade (1-similaridade) na composição de espécies dos fragmentos foi calculada pelo Índice da Jaccard (Jaccard 1908 *apud* Magurran, 1988):

$$J = j / a + b - j$$

J= Índice de Jaccard

j= número de espécies comuns entre os fragmentos a e b

a= número total de espécies no fragmento a

b= número total de espécies no fragmento b

Ainda, foi calculada a similaridade na composição de espécies entre municípios amostrados utilizando o índice de jaccard. Com as matrizes de similaridade de Jaccard para fragmentos e municípios, foram feitos dendrogramas de similaridade utilizando o método de ligação de Ward.

4.5. Diagnóstico de infecção por hantavírus através de sorologia

O diagnóstico para infecção por hantavírus foi realizado inicialmente por teste sorológico. A partir de um resultado positivo, foi realizada a confirmação da infecção por detecção molecular do RNA viral. Os estudos para a determinação de infecção por hantavirus e para a determinação dos genótipos virais foram realizados em colaboração com a Dra. Elba Regina de Sampaio Lemos e equipe do Laboratório de Hantavirose e Rickettsioses (LHR), IOC/FIOCRUZ.

A pesquisa de anticorpos anti-hantavírus da classe IgG foi feita por imunoenensaio enzimático (ELISA). Foi utilizado o antígeno Araraquara constituído pelo antígeno específico (nucleoproteína Araraquara recombinante) e pelo antígeno inespecífico recombinante (Figueiredo et al. 2009). Para a realização do teste, placas de 96 poços foram sensibilizadas com proteína recombinante do nucleocapsídeo do hantavírus Araraquara (ARAV-N) na metade superior (linhas A, B, C e D) e extrato de *E. coli* usado como controle negativo na metade inferior (linhas E, F, G e H) diluídos em solução tampão carbonato-bicarbonato na concentração de 0,2µg/ µL, durante incubação por uma noite "overnight" a 4°C. Em seguida, após lavar a placa por 5 vezes com PBS pH 7.4 acrescido de Tween (PBS-T) 1X a 0,05%, foi adicionada solução de bloqueio (leite em pó desnatado a 10% em PBS-T). Após incubação da placa a 37°C por duas horas e subsequente etapa de lavagem, as amostras de soro. sabidamente positivas e negativas. foram utilizadas como controle do teste, e as amostras em teste foram adicionadas na diluição de 1/400 em solução de bloqueio. Após nova incubação a 37°C por uma hora e etapa de lavagem por 6 vezes, anticorpos secundários anti-*Peromyscus leucopus* e anticorpos anti-*Rattus rattus* marcados com peroxidase foram utilizados como conjugado na diluição de 1/3000 em solução de bloqueio. Em continuação, após incubar e lavar novamente a placa, um substrato cromogênico (o-phenylenediamine = OPD) diluído em

solução citrato- fostato (pH 4,9 a 5,2) foi adicionado acrescido de peróxido de hidrogênio e a placa então foi incubada por 15 a 20min a 37°C. Após o bloqueio da placa com adição de HCl a 1M, a absorbância foi mensurada a 490 nm em espectrofotômetro. A diluição do soro foi considerada positiva quando a densidade ótica (DO) foi superior a 0,3. A DO final de cada diluição de soro foi calculada como a diferença entre o valor da DO mensurada nos poços sensibilizados com a proteína ARAV-N e aqueles sensibilizados com o antígeno controle negativo. Um título > 1: 400 foi considerado positivo.

O diagnóstico molecular para hantavírus foi realizado seguindo protocolos estabelecidos no LHR. Amostras de fígado, rim, coração, pulmão e baço foram criopreservadas para análises moleculares para a detecção do RNA viral.

4.6. Preferência de habitat de *Akodon cursor*

A preferência de habitat foi investigada somente para o roedor *Akodon cursor*, em decorrência da constatação de sorologia positiva para Hantavirus nesta espécie. A preferência foi avaliada por modelo linear generalizado, para distribuição binomial negativa e função de ligação log, no programa SPSS (IBM® SPSS Inc.). A variável dependente consistiu na abundância de *A. cursor* nos pontos de captura, que variou de 0 a 5 indivíduos; as variáveis explicativas foram os “*factor scores*” dos três primeiros componentes principais de uma Análise de Componentes Principais para as variáveis de habitat medidas nas estações de captura. Para avaliar a significância das variáveis explicativas, utilizou-se o Chi-quadrado de Wald ($\alpha = 0.05$) (Harrel, 2001). Para esta análise, foram considerados somente os dados dos transectos (de matriz e fragmentos) onde pelo menos um indivíduo de *A. cursor* foi capturado.

5. RESULTADOS

5.1. Captura de espécimes

Foram coletados 209 animais, com o esforço total de 9870 armadilhas-noite e um sucesso total de captura de 2,11% (Tabela 5.1.1). Dentre estes, 128 roedores: Sigmodontinae - *Akodon cursor* (n=73), *Nectomys squamipes* (n=37), *Calomys* sp. (n=4), *Calomys tener* (n=3), *Oligoryzomys nigripes* (n=4) e *Oxymycterus dasytrichus* (n=2); Echimyinae - *Trinomys s. setosus* (n=5); e 81 marsupiais: Didelphinae – *Didelphis aurita* (n=57), *Marmosops incanus* (n=18), *Philander frenatus* (n=2), *Marmosa paraguayanus* (n=2), *Metachirus nudicaudatus* (n=1), *Gracilinanus microtarsus* (n=1).

Tabela 5.1.1: Esforço e sucesso de captura nas áreas de estudo

Município	Esforço de captura *	Sucesso de captura (%)
Cambuci	2340	1,49
Miracema	2340	1,36
Varre-sai	3210	2,61
Sumidouro	1980	2,92
Total	9870	2,11

*Armadilhas-noite;

As espécies que neste estudo ocorreram apenas dentro dos fragmentos foram os marsupiais *M. incanus* (n=18), *M. paraguayanus* (n=2), *P. frenatus* (n=2), *G. microtarsus* (n=1), o roedor sigmodontíneo *O. dasytrichus* (n=2) e o roedor equimídeo *Trinomys s. setosus* (n=5) (Tabela 5.1.2).

Tabela 5.1.2: Espécies e número de espécimens de pequenos mamíferos capturados nos transectos em fragmentos florestais, nos município de Sumidouro (SD), Varre sai (VS), Miracema (MI) e Cambuci (CB), no estado do Rio de Janeiro.

Espécies	SD		VS		MI			CB			
	1	2	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Didelphinae											
<i>Didelphis aurita</i>	9	3	10	7	2	3	4	3	5		4
<i>Marmosops incanus</i>			7	2			2	1	2		4
<i>Marmosa paraguayana</i>							1		1		
<i>Philander frenatus</i>			1		1						
<i>Gracilinanus microtarsus</i>											1
Sigmodontinae											
<i>Akodon cursor</i>	2	2	4		6	1		1	2		
<i>Nectomys squamipes</i>			1		4		1				
<i>Oxymycterus dasytrichus</i>			2								
<i>Oligoryzomys nigripes</i>					1		1				
Echyminae											
<i>Trinomys s. setosus</i>									1	3	1
Abundância	11	5	25	10	13	4	9	5	11	3	10
Riqueza	2	2	6	3	4	2	5	3	5	1	4

As espécies que neste estudo ocorreram apenas em matriz alterada (pasto – Tabela 5.1.3) foram os roedores *Calomys* spp. (n=4), *C. tener* (n=3) e o marsupial *M. nudicaudatus* (n=1).

Tabela 5.1.3: Espécies e número de espécimens de pequenos mamíferos capturados nos transectos em área aberta (pasto), nos município de Sumidouro (SD), Varre sai (VS), Cambuci (CB) e Miracema (MI), no estado do Rio de Janeiro

Espécies	SD	SD	SD	VS	VS	VS	MI	MI	MI	CB	CB	CB	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Didelphinae													
<i>Didelphis aurita</i>			5			2							
<i>Metachirus nudicaudatus</i>							1						
Sigmodontinae													
<i>Akodon cursor</i>			11	14	3	1	7			2	6	2	1
<i>Calomys spp.</i>					2		1					1	
<i>Calomys tener</i>					1			1				1	
<i>Nectomys squamipes</i>	2	7	1	5	1	12				2			1
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	2												
Abundância	4	23	15	12	2	22	1	7	5	6	4	1	
Riqueza	2	3	3	5	2	5	2	1	2	2	4	1	

5.2.Descrição das espécies coletadas: *Species Account*

- Ordem: Didelphimorphia; Família: Didelphidae; Sub-Família: Didelphinae – Foram coletados 81 marsupiais de 6 gêneros: *Didelphis*, *Philander*, *Marmosops*, *Marmosa*, *Metachirus* e *Gracilinanus*. Dos 19 gêneros e 92 espécies descritas atualmente, cerca de 16 gêneros e 55 espécies ocorrem no Brasil (Reis et al. 2006).

- *Didelphis aurita* (gambá-da-orelha-preta; Wied-Neuwied, 1826)

Didelphis aurita distribui-se desde o nordeste e centro-oeste do Brasil até o Paraguai e norte da Argentina (Gardner, 1993; Cerqueira & Lemos, 2000), com áreas de simpatria com *D. albiventris* (Lemos & Cerqueira, 2002). Foram coletados 57 espécimens, sendo vinte e oito machos e vinte e nove fêmeas. Os espécimens foram coletados tanto nos fragmentos (n=50 indivíduos) quanto nas áreas abertas (n=7), apresentando grandes deslocamentos entre fragmentos de Mata Atlântica em relação a outros marsupiais (Graipel & Santos Filho, 2006; Pires et al. 2002). Esta espécie demonstra grande eficiência adaptativa aos mais variados habitats, particularmente nos alterados pelo homem e com a presença de habitações humanas, vivendo até mesmo em grandes centros urbanos (Husson, 1978; Graipel & Santos Filho, 2006; Pires et al. 2002). Os gambás apresentam uma dieta onívora, consumindo frutas, invertebrados e vertebrados; é escansorial e pode portanto ser capturada em vários estratos da vegetação (Passamani, 1995; Cheren et al. 1996, Cárceres & Monteiro-Filho, 2001; Reis et al. 2006). Fonseca & Robinson (1990) sugerem que a ocorrência de *Didelphis* nos fragmentos interfere na ocorrência

de outras espécies de marsupiais e na estrutura de comunidades de pequenos mamíferos como um todo.

- ***Philander frenatus*** (cuíca-de-quatro-olhos; Olfers, 1818)

Philander frenatus distribui-se pelo leste do Brasil, em áreas da Mata Atlântica e em matas de galeria do Cerrado (Patton & Costa, 2003). Foram coletados dois machos adultos em fragmentos florestais no município de Varre-sai. Este marsupial é descrito por Fonseca et al. 1996 como insetívoro-onívoro, com sua dieta é composta por invertebrados, frutos, pequenos vertebrados e ocasionalmente carniça (Santori et al. 1997; Carvalho et al. 1999; Cáceres, 2004). É um marsupial de hábito noturno e predominantemente terrestre, embora possa utilizar o subosque ocasionalmente (Eisenberg & Wilson, 1981; Cunha & Vieira, 2002; Crouzeilles et al. 2010). Segundo Gentile e colaboradores (1997), as populações dessa espécie não variam sua razão sexual entre as estações seca e chuvosa.

- ***Marmosops incanus*** (catita; Lund, 1840)

Marmosops incanus distribui-se pelo leste do Brasil, da Bahia ao Paraná e no interior de Minas Gerais (Mustringi & Patton, 1997). Foram coletados oito machos e dez fêmeas, todos em fragmentos. Segundo Fonseca & Kierulff (1989), a razão sexual difere nas estações seca e chuvosa. Sua dieta é basicamente insetívora-onívora (Reis et al. 2006), foram coletados predominantemente no solo com somente dois espécimes capturados no subosque, no município de Varre-sai. Esta espécie é considerada como escansorial, mas pode utilizar o solo cerca de 70% do seu tempo (Loretto, 2006). Entretanto alguns trabalhos apontam que não há diferença significativa entre a captura no solo e no sub-bosque (Passamani, 2000; Fonseca & Kierulff, 1989). Uma curiosidade sobre esta espécie é semelparidade, ou seja, após um único período de reprodução toda população se renova, onde os machos morrem ao final do período de acasalamento (setembro a dezembro) e as fêmeas se mantêm até o ano seguinte, ao término do período de lactação (Emmons, 1999).

- ***Marmosa (micoureus) paraguayana*** (cuíca; Tate, 1931)

Marmosa (micoureus) paraguayana ocorre do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul (Gardner, 2005). Foram coletadas duas fêmeas adultas em fragmentos de Miracema e Cambuci. Anteriormente reconhecida como "*Micoureus paraguayanus*", a partir de 2009 segundo revisão de Voss & Jansa, classificou-se este táxon como sub-gênero do gênero *Marmosa*. Este marsupial é onívoro-insetívoro, sendo 80,1% da sua dieta composta por artrópodes e 19,9% de frutos (Reis et al, 2006). Segundo Leite e colaboradores. (1996), *M. (micoureus) paraguayana* explora preferencialmente o estrato arbóreo e/ou arbustivo das florestas, ocorrendo tanto em florestas primárias quanto secundárias. Podem ocorrer em fragmentos florestais pequenos, mas apresenta baixa taxa de movimentação entre eles; esta espécie faz seus ninhos em emaranhados de cipós

(Pires et al. 2002; Moraes-Junior & Chiarello, 2005; Reis et al. 2006).

- ***Metachirus nudicaudatus*** (cuíca-marrom-de-quatro-olhos; É.Geoffroy, 1803)

Metachirus nudicaudatus tem uma ampla distribuição que vai de Honduras na América Central a Misiones na Argentina, sudeste do Paraguai e do Brasil (Gardner, 2005; Gardner & Dagosto, 2007). Foi coletada uma fêmea adulta com 9 filhotes, na borda de um fragmento no município de Miracema, próximo a um curso d'água e rochas. Este marsupial é considerado insetívoro-onívoro, tem hábito terrestre e possui cauda não-prênsil (Reis et al. 2006; Fonseca et al. 1996). Ocorre em florestas primárias e secundárias, restingas e florestas de várzea, geralmente próximos a cursos d'água, no entanto pode ser capturado também em áreas rurais (Margarido et al. 1994; Freitas et al. 1997; Olifiers 2002, 2005). Este marsupial se reproduz e faz seus ninhos no chão, em troncos ou buracos já existentes (Emmons & Feer, 1997). Quando ameaçado, apresenta o comportamento de “bater os dentes” (Pine, 1973).

- ***Gracilinanus microtarsus*** (cuiquinha; Wagner, 1842)

Gracilinanus microtarsus ocorre no sudeste e sul do Brasil, tendo áreas de simpatria com *G. agilis* (Geise & Ástua, 2009). Foi coletado apenas um macho adulto em um fragmento do município de Cambuci. Esta espécie é considerada insetívora-onívora (Fonseca et al. 1996), habita florestas primárias e secundárias, contínuas ou fragmentadas, matas de galeria e cerradão (Vieira & Monteiro-Filho, 2003; Pardini et al. 2005). No trabalho de Vieira & Monteiro-Filho (2003), *G. microtarsus* teve preferência significativa por estrato arbóreo de 6 a 15 metros de altura. Apesar da preferência por este estrato vegetal, neste estudo este marsupial foi capturado no solo e conforme Macedo e colaboradores (2007) isso ocorre ocasionalmente por motivos exploratórios e/ou de forrageamento. É considerada quase ameaçada pela IUCN, devido a perda de hábitat e presumivelmente ameaçada no Rio de Janeiro (Bergallo et al. 2000).

- Ordem: Rodentia; Família: Cricetidae; Sub-Família: Sigmodontinae – Foram coletados 123 roedores pertencentes a cinco gêneros: *Akodon*, *Calomys*, *Nectomys*, *Oxymycterus* e *Oligoryzomys*. A sub-família Sigmodontinae é o grupo de roedores mais diversificado dentre os roedores, e ocorre cerca de 117 espécies em 36 gêneros para o Brasil (Reis et al. 2006):

Tribo: Akodontini

- ***Akodon cursor*** (Winge, 1887)

Akodon cursor ocorre na região costeira do Brasil e no leste do estado de Minas Gerais (Bonvicino et al. 2008). *A. cursor* é amplamente distribuído na costa da Mata Atlântica, endêmico neste bioma e considerado o sigmodontíneo mais abundante (Geise, 2012). Foram coletados 73 indivíduos, sendo 48 machos e 25 fêmeas. Foram coletados 16 espécimens nos fragmentos e 57

espécimens em áreas abertas, em todos os municípios amostrados. *A. cursor* é uma espécie abundante em áreas abertas e florestas com diferentes estados de conservação da Mata Atlântica (vegetação primária, secundária e plantas pioneiras) e por essa razão movimentava-se facilmente entre os fragmentos florestais (Lessa et al. 1999; Pires et al. 2002; Prevedello et al. 2008)

- ***Oxymycterus dasytrichus*** (Schinz, 1821)

Esta espécie tem sua ocorrência do estado de Pernambuco até a região litoral de São Paulo desde planícies até campos de altitude de até 2000 metros de altitude, podendo ocorrer em simpatria com *O. delator*, *O. judex* e *O. nasutus* (Oliveira, 1998; Bonvicino et al. 2008). Foram coletados 2 espécimens, sendo um macho e um fêmea capturados em um fragmento do município de Varre-sai. Sua dieta constitui-se basicamente de insetos (Reis et al. 2006). Esta espécie tem hábito terrestre e semi-fossorial e pode ser encontrada em áreas perturbadas e em campos de altitude de 2000 metros (IUCN, 2008).

Tribo: Phyllotini

- ***Calomys tener*** (Winge, 1837)

Este roedor habita formações florestais e áreas abertas da Mata Atlântica em seu limite com o Cerrado (Bonvicino et al. 2008; Bonvicino et al. 2000) do sudeste e centro-oeste do país e abundante principalmente em áreas recentemente queimadas do cerrado (Briani et al. 2004); Foram coletados duas fêmeas e um macho nos municípios de Varre-sai, Cambuci e Miracema, apenas em áreas de pasto; tem hábito terrestre e dieta basicamente granívora (Vieira & Baumgarten, 1995). Este roedor tem preferência por gramíneas (Henriques & Alho, 1991, 1997) e isso justificaria a sua ocorrência apenas em áreas de matriz neste estudo.

Tribo: Oryzomini

- ***Nectomys squamipes*** (Brants, 1827)

Nectomys squamipes tem ampla distribuição geográfica, ocorrendo pelo leste do Brasil, em vegetação alterada e preservada (Ernest & Mares 1986; Bonvicino et al. 2002; Gentile et al. 2010). Foram coletados 37 espécimens, sendo 24 machos e 13 fêmeas, em fragmentos florestais (n=6) e áreas abertas (n=31) em todos os municípios amostrados. *N. squamipes* é um roedor semi-aquático e a presença de corpos d'água certamente contribuiu para a captura desses indivíduos que necessitam desse habitat para suas atividades diárias (D'Andrea et al. 1999; Gentile, 1996; Gentile et al. 2000). Alimenta-se de diversos itens encontrados na água, como insetos, larvas de artrópodes, caramujos, girinos e frutos; possui horário de atividade crepuscular e noturno; Apresentam dimorfismo sexual secundário no tamanho, sendo os machos maiores que as fêmeas;

as fêmeas dão à luz normalmente de cinco a sete filhotes, e há duas ou três ninhadas por ano (Davis, 1947; D'Andrea et al. 1991).

- ***Oligoryzomys nigripes*** (Olfers, 1818)

No Brasil, essa espécie ocorre na Mata Atlântica costeira, no sul do Cerrado, no Distrito Federal e também em outros países como Paraguai, Uruguai e Argentina. (Weksler & Bonvicino 2005). Foram coletados 3 machos e uma fêmea, dois espécimens em fragmentos e dois em áreas de pasto, nos municípios de Sumidouro, Miracema e Varre-sai. A dieta de *O. nigripes* é insetívora-onívora (Talamoni, 2008). É uma espécie de hábitos terrestres e generalistas, ocorrendo em vegetação primária e secundária, em campos de altitude da Mata Atlântica e também em matas de galeria do Cerrado; locais de hábitat descaracterizados são predominado por este roedor (Stallings, 1989; Pardini, 2004; Reis et al. 2006; Weksler & Bonvicino, 2005).

- Ordem: Rodentia; Família: Echimyidae; Sub-Família: Eumysopinae – Foram coletados 5 roedores do gênero *Trinomys*. A sub-família possui 9 gêneros, dos tais 8 ocorrem no Brasil. (Wilson & Reeder, 2008).

- ***Trinomys setosus setosus*** (rato-de-espinho; Desmarest, 1816)

Trinomys s. setosus distribui-se de Sergipe a Espírito Santo e leste de Minas Gerais (lack-Ximenes, 2005). Foram coletados 5 espécimens, sendo quatro fêmeas e um macho capturados nos fragmentos florestais de Cambuci. O gênero *Trinomys* (Echimyidae), apresenta sua biogeografia e sistemática ainda inconclusivas, sendo que o mesmo era considerado anteriormente como uma sub-espécie do gênero *Proechimys* (Thomas, 1921; Moojen, 1948). No entanto, percebeu-se que as diferenças morfológicas, biogeográficas e principalmente moleculares eram suficientes para separá-los em dois taxa distintos, e desta forma *Trinomys* foi elevado para o nível de gênero (Lara & Patton, 1994). Este gênero é restrito ao leste do Brasil e tem hábito terrestre (Galewski et al. 2005), vivendo em áreas de Mata Atlântica e em áreas de transição com o Cerrado (Eisenberg & Redford, 1999; lack-Ximenes, 2005; Attias et al. 2009). A dieta e preferência de hábitat ainda são pouco conhecidas.

5.3. Composição de espécies

Nenhuma das variáveis analisadas explicou a composição de espécies de pequenos mamíferos dos fragmentos estudados (Tabela 5.2.1).

Tabela 5.3.1: Resultados de regressão múltipla de matrizes de dissimilaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos de fragmentos florestais no estado do Rio de Janeiro

Variáveis independentes	Coefficiente beta	p	R ²	P
Forma	-0,17	0,24	0,07	0,93
Grau de isolamento	0,18	0,16		
Tamanho	0,02	0,46		
Heterogeneidade de habitat	0,15	0,41		
Complexidade de habitat	-0,16	0,40		
Distância entre fragmentos	0,10	0,28		
Esforço amostral	-0,07	0,40		

No entanto, no dendrograma de similaridade feito a partir da matriz de composição de espécies, os fragmentos que apresentavam espécies mais especialistas como *Trinomys s. setosus*, *O. dasytrichus*, *G. microtarsus*, *M. paraguayana* e *M. incanus* (Fragmentos 1, 2, 3 de Varre-sai; Fragmentos 2, 3 de Miracema; Fragmentos 1, 2, 3 de Cambuci - Figura 5.3.2) se agruparam separadamente daqueles que apresentavam exclusivamente espécies generalistas e que também ocorreram na matriz alterada, como *D. aurita* e *A. cursor* (Fragmentos 1 e 2 de Sumidouro; Fragmento 1 de Miracema - Figura 5.3.2). Dentro do agrupamento de fragmentos que continham espécies mais especialistas, no entanto, fragmentos de diferentes municípios se agruparam, sendo o fragmento 2 de Cambuci o mais diferente dos demais, em decorrência da presença de *T. setosus*, única espécie coletada neste fragmento e que só foi capturada em Cambuci.

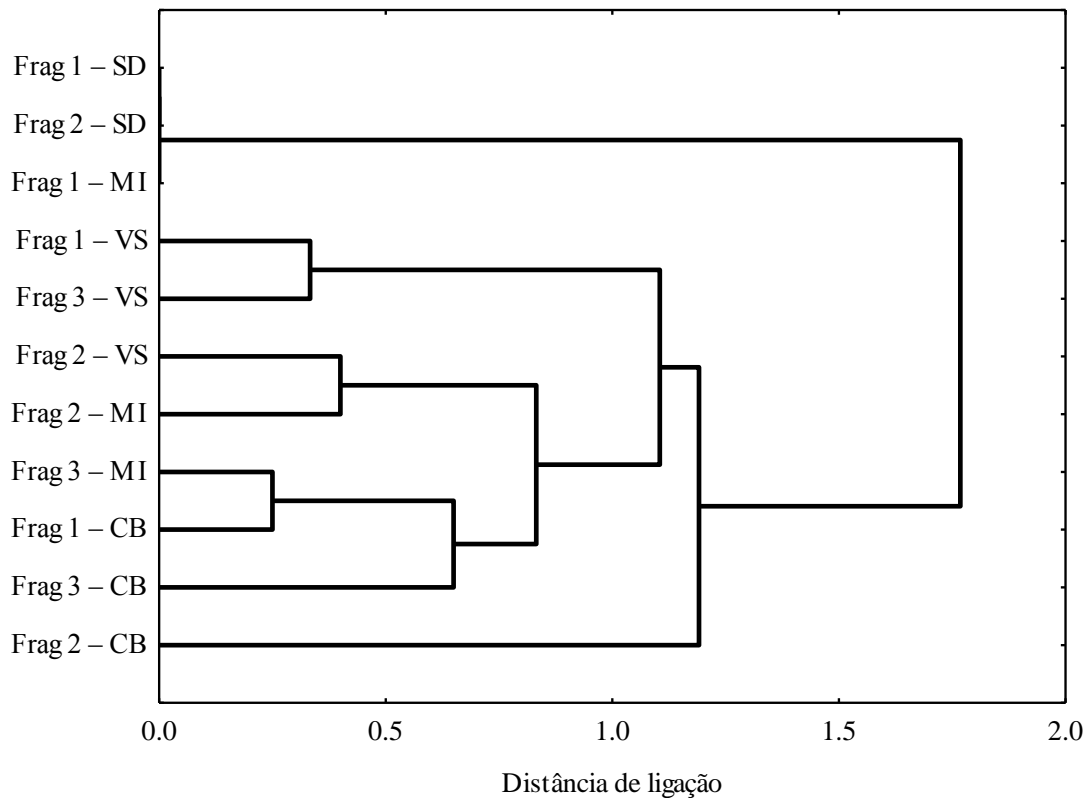


Figura 5.3.2 – **Dendrograma de similaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos de fragmentos florestais amostrados no estado do Rio de Janeiro.**

(SD=Sumidouro; MI=Miracema; VS=Varre-sai; CB=Cambuci)

Quando o dendrograma de similaridade na composição de espécies por paisagem fragmentada (município) é analisado (Figura 5.3.3), Sumidouro e Varre-sai apresentaram maior similaridade entre si pela ocorrência de *D. aurita*, *A. cursor*, *N. squamipes* e *O. nigripes*. Já os municípios de Miracema e Cambuci se agrupam pela ocorrência de *D. aurita*, *M. incanus*, *M. paraguayana*, *A. cursor*, *C. tener* e *N. squamipes* (Figura 5.3.3). Ainda, Miracema e Cambuci apresentam uma similaridade na composição de espécies maior do que entre Sumidouro e Varre-sai.

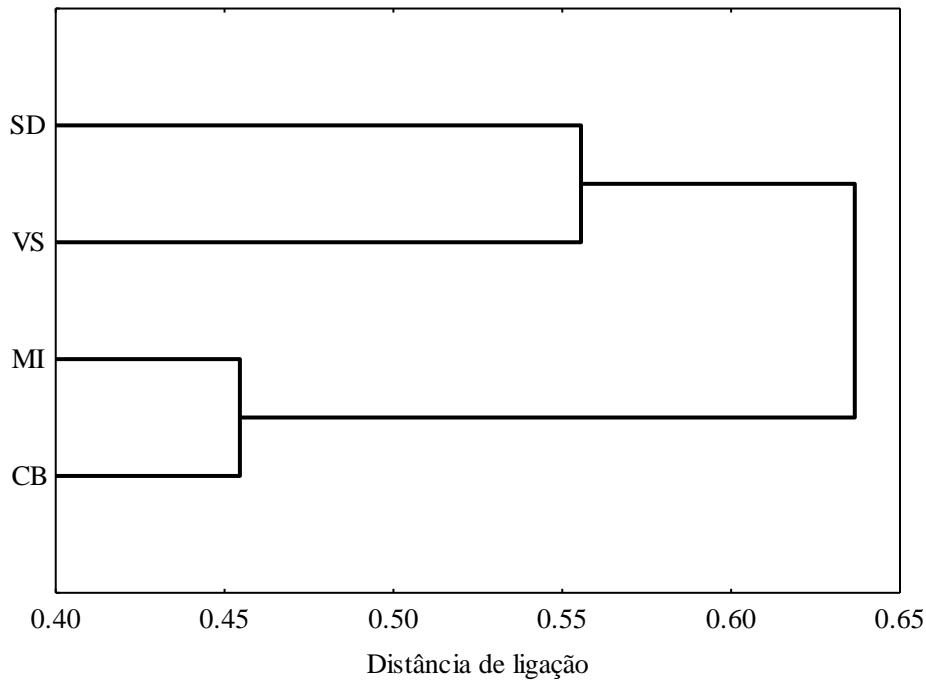


Figura 5.3.3 – Dendrograma de similaridade na composição de espécies de pequenos mamíferos nos municípios amostrados no estado do Rio de Janeiro.

(SD=Sumidouro; MI=Miracema; VS=Varre-sai; CB=Cambuci)

5.4. Diagnóstico de Hantavírus dos roedores sigmodontíneos

Foram obtidas 107 amostras de soro dos roedores sigmodontíneos capturados. Das amostras submetidas ao ensaio imunoenzimático (ELISA) IgG, apenas uma apresentou reatividade com título de 1:400 e densidade ótica de 1,92 (valor de corte: 0,30). A prevalência foi de 0,93% de infecção por hantavírus nos roedores estudados. O RNA viral não foi detectado pelas análises moleculares.

O roedor infectado da espécie *Akodon cursor* foi capturado na Fazenda Belo Monte, no município de Varre-sai – Rio de Janeiro. O espécime foi capturado numa armadilha tipo Sherman, próximo a uma área de cultivo de hortaliças, aproximadamente 150 metros próximo de uma residência. Encontra-se depositado na coleção zoológica do laboratório com esqueleto completo preparado e pele taxidermizada.

5.5. Preferência do habitat de *Akodon cursor*

Os fatores 1 e 2 da análise de componentes principais explicam significativamente a abundância de *A. cursor* (Tabela 5.5.1). O fator 1 tem relação negativa com porcentagem de cobertura do dossel, altura do dossel, subosque 2 e 3, porcentagem de folhiço, árvores maiores que 1 metro e com DAP maior que 5 cm; e tem relação positiva com porcentagem de caules herbáceos e lenhosos (Tabela 5.5.2). O fator 2, por sua vez, tem relação negativa com porcentagem de obstrução foliar e subosque 1 (Tabela 5.5.2). Assim, a abundância de *A. cursor*

tende a aumentar em pontos onde o dossel é mais aberto e mais baixo, subosques de 0,50 cm a 1 metro e de 1 m a 1,5 mais abertos, menos árvores maiores que 1 metro e menos árvores com DAP maior que 5 cm, e mais caules herbáceos e lenhosos; ainda, tende a aumentar com subosque 0 a 0,50cm mais denso e obstrução foliar mais alta.

Tabela 5.5.1: Valor de Beta, Chi-Quadrado e Alfa dos *factors scores* da ACP em relação a abundância de *Akodon cursor*

Parâmetros	Beta	Chi-Quadrado	
		de Wald	P
Fator 1	0.43	7.04	0.01
Fator 2	-0.35	6.84	0.01
Fator 3	-0.14	0.87	0.35

Tabela 5.5.2: Correlação entre as variáveis de habitat e os três primeiros componentes da análise de componentes principais e porcentagem da variação nos dados explicada por cada um dos fatores. Em negrito são mostradas correlações acima de 0.60.

Variáveis de habitat	Fator 1	Fator 2	Fator 3
OFV	0.19	-0.80	-0.31
ARV_DAP	-0.69	0.08	-0.11
ARV>1	-0.75	0.04	-0.17
SUB1	0.05	-0.74	-0.27
SUB2	-0.62	0.09	0.03
SUB3	-0.86	0.14	0.21
ALT_DOSS	-0.88	0.07	-0.08
CHL	0.78	0.38	-0.20
FOL	-0.71	-0.07	-0.53
SOL	-0.20	-0.21	0.83
PEDRA	0.11	-0.45	0.50
DOSSSEL	-0.85	-0.02	0.09
Nº DE TRONCOS	-0.49	-0.32	0.08
% variação explicada	39%	13%	12%

6. DISCUSSÃO

6.1. Levantamento e caracterização da fauna de pequenos mamíferos

A fauna de pequenos mamíferos registrada neste trabalho foi composta predominantemente por espécies típicas para o bioma Mata Atlântica (Rocha et al. 2004). Em relação aos roedores registra-se a ampliação da área de distribuição de *Trinomys s. setosus* com o primeiro registro desta espécie para o estado do Rio de Janeiro. Os espécimes capturados nesse estudo quando comparados com outras sequências disponíveis para o mesmo gênero agruparam-se com *Trinomys setosus elegans* e *Trinomys setosus denigratus* (Figura 6.1.1), que correspondem aos espécimens da região costeira da Mata Atlântica segundo Lara & Patton

(2000).

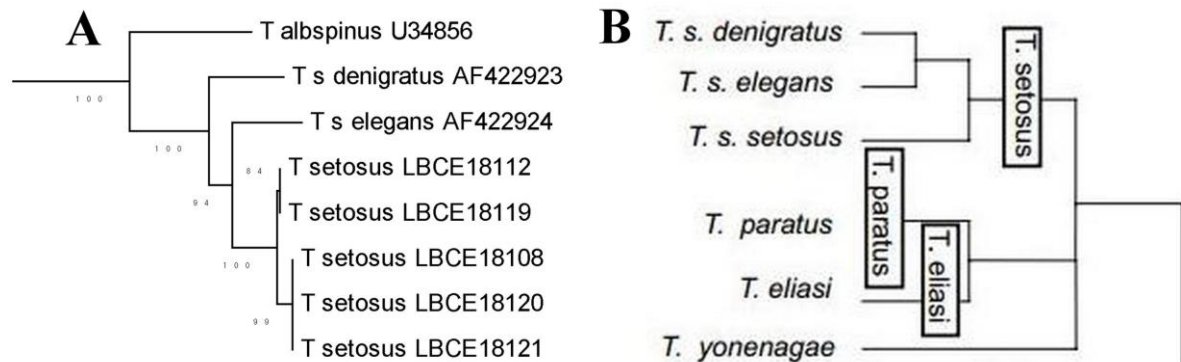


Figura 6.1.1: **A= Agrupamento obtido nas análises moleculares do laboratório; B= Árvore obtida por Lara & Patton (2000)**

A ocorrência deste gênero na região noroeste já era conhecida por um levantamento realizado no município de Cambuci, onde identificou-se os espécimes coletados apenas como *Trinomys setosus* (Attias et al. 2009; Albuquerque et al. 2013), sem indicação do nível sub-específico. No entanto, os espécimens do estudo de Albuquerque e colaboradores (2013) são morfologicamente diferentes dos coletados neste estudo, e segundo Dra. Leila Pessôa, (comunicação pessoal), foram identificados como *Trinomys setosus elegans*. Desta forma, sugere-se a existência de duas sub-espécies nesta localidade. A determinação do nível sub-específico desses espécimes deve ser melhor investigada visando a compreensão de sua taxonomia e o mapeamento de sua distribuição no estado do Rio de Janeiro. Segundo Lara e colaboradores (2002), a distribuição dessas sub-espécies são: *T. s. setosus* restrito ao estado de Minas Gerais, *T. s. elegans* de Alagoas até Minas Gerais e *T. s. denigratus* que se estende da Bahia até Minas Gerais. A presença da sub-espécie *Trinomys s. setosus* aumenta a distribuição dessa espécie para a região noroeste do Rio de Janeiro.

A maioria das espécies de roedores capturadas (Tabela 5.1.2; Tabela 5.1.3) são consideradas generalistas, ocorrendo tanto em áreas conservadas quanto degradadas. A abundância destas espécies tende a aumentar em paisagens fragmentadas em detrimento de espécies mais especialistas, como *Trinomys s. setosus*, *Euryoryzomys russatus* e espécies arborícolas (Olifiers, 2002; Rocha et al. 2001; Pardini & Umetsu, 2007). Particularmente, *A. cursor* é frequentemente o roedor mais abundante em paisagens fragmentadas de Mata Atlântica (Stallings, 1988; Paglia et al. 1995; Gentile, 1996; Olifiers, 2002; Projeto Blumen, dados não publicados). Tendo hábitos generalistas, esta espécie é tolerante ao processo de antropização, com fêmeas sexualmente ativas ao longo do ano inteiro, embora apresente maiores taxas reprodutivas na estação seca (junho a setembro; Geise, 2012). Neste estudo, sua abundância foi maior em áreas abertas (pasto), como já encontrado em outros estudos (Pires et al. 2002; Olifiers 2002, Projeto Blumen, dados não publicados). De fato, a análise de preferência de habitat deste roedor mostrou que ele ocorre com maior frequência em locais com características típicas de

áreas mais abertas e degradadas (ver item 6.2).

Todas as espécies de marsupiais capturadas neste estudo já possuíam registros para este bioma no estado do Rio de Janeiro (Reis et al. 2006; Emmons & Feer, 1997; Paglia et al. 2012) e são relativamente comuns em paisagens fragmentadas (Olifiers, 2002; Vieira et al. 2009; Feliciano et al. 2002; Pires et al., 2002). Mesmo espécies mais especialistas com hábitos arborícolas, como *M. incanus*, *M. paraguayana* e *G. microtarsus* ocorrem com frequência em pequenos fragmentos florestais (Olifiers, 2002; Vaz et al. 2007; Pardini et al. 2005; Castro & Fernandez, 2004). Entretanto, neste estudo estas espécies apresentaram sucesso de captura relativamente baixo. Sabe-se que *P. frenatus*, *M. nudicaudatus* e *M. paraguayana* são marsupiais capturados com abundância relativamente alta mesmo em paisagens fragmentadas (Pinto et al. 2009, Vieira et al. 2009, Projeto Blumen, dados não publicados). No entanto, *M. nudicaudatus* tem sua abundância aumentada em anos úmidos, enquanto a abundância de *P. frenatus* aumenta em períodos secos (Crouzeilles et al. 2010). Neste estudo, a abundância de ambas as espécies foi muito baixa.

6.2. Influência das métricas de paisagem na composição de espécies de pequenos mamíferos

Neste estudo, nenhuma das métricas de paisagem (tamanho, forma, grau de isolamento e distância entre fragmentos) ou de habitat (complexidade e heterogeneidade) analisados explicou a composição de espécies de pequenos mamíferos (Tabela 5.3.1). Em um estudo na Bacia do Rio Macacu, RJ, Olifiers (2002) também não encontrou relação entre forma e grau de isolamento dos remanescentes florestais com a composição de espécies e o tamanho dos fragmentos só foi importante quando o Parque Nacional da Serra dos Órgãos – com área muito superior a dos fragmentos estudados (até cerca de 100 ha) – foi incluído nas análises. Como a grande maioria dos fragmentos inventariados neste estudo foi menor do que 100 ha (Tabela 4.4.1.1), era esperado que o tamanho do fragmento não influenciasse na composição de espécies (Bierregaard *apud* Debinski & Holt, 2000; Olifiers, 2002). No entanto, o fragmento que apresentou a espécie de equimídeo *Trinomys s. setosus* e o marsupial *G. microtarsus* foi o fragmento de Cambuci com cerca de 1.500 hectares, sugerindo que espécies mais especialistas tendem a ocorrer em fragmentos maiores.

Olifiers (2002) encontrou relação - embora fraca - entre a composição de espécies e a distância entre os fragmentos. Tal relação não foi encontrada neste estudo porque as espécies capturadas eram em sua maioria generalistas e ocorreram na paisagem como um todo (matriz e fragmentos). Da mesma maneira, considerando o baixo isolamento entre os fragmentos (Tabela 4.4.1.1), era esperado que essa variável não influenciasse fortemente a composição de espécies. Como por exemplo, Pires e colaboradores (2002) mostram que as espécies de marsupiais *D. aurita*, *P. frenatus*, *M. nudicaudatus* e os roedores *A. cursor*, *N. squamipes* e *O. nigripes* (também capturadas neste estudo) possuem uma movimentação significativa entre a matriz e os

fragmentos, estabelecendo populações em ambientes alterados, facilitando assim a colonização dos mesmos.

Segundo Murcia (1995), a composição de espécies do interior dos fragmentos pode ser afetada por espécies que ocorrem frequentemente na matriz e na borda dos fragmentos e isso interfere na conservação e ocorrência de espécies que dependem de um habitat inalterado e/ou conservado. Ainda, o efeito de borda tende a ser maior em fragmentos mais recortados, o que pode determinar a composição de espécies que nele ocorre, com espécies mais generalistas (Harris, 1984; Volatão, 1998). No entanto, não foi encontrada relação entre a composição de espécies e a forma dos fragmentos. De fato, a maior parte dos fragmentos são bem pequenos e provavelmente dominados pelo efeito de borda. Ainda, os transectos possuíam 280 metros somente e mesmo quando colocados nos dois fragmentos maiores do que 100 hectares, eles estavam relativamente próximos das bordas dos remanescentes. Assim, provavelmente todos os transectos estavam sujeitos a um efeito de borda similar, visto que o efeito de borda pode ser sentido a 300 metros ou mais em florestas tropicais (Bierregard et al. 1992). Mesmo Olifiers (2002), que amostrou áreas de interior de mata e portanto com efeito de borda ausente ou mínimo, não encontrou a relação entre a composição de espécies e a forma dos remanescentes.

Habitats mais complexos podem conter uma composição de espécies dominada por espécies mais especialistas, enquanto habitats mais heterogêneos podem mostrar uma composição de espécies mais variada, com espécies tanto especialistas quanto generalistas (Gentile & Fernandez, 1999; Gentile et al. 2000; Grelle, 2003). No entanto, as variáveis de habitat utilizadas também não explicaram a composição de espécies de pequenos mamíferos dos fragmentos. Outras variáveis bióticas ou abióticas não relacionadas neste estudo, como o histórico da fragmentação nas áreas, podem influenciar na composição de espécies. Olifiers (2002) também não havia encontrado relação entre variáveis de habitat e a composição de espécies de pequenos mamíferos da bacia do Rio Macacu. As variáveis de habitat provavelmente apresentam um efeito mais visível na abundância de espécies (Bayne & Hobson, 1998; Gentile & Fernandez, 1999; Rocha et al. 2011) - como foi verificado no caso da preferência de habitat por *A. cursor* - mas seu efeito pode não ser tão visível na presença/ausência de espécies.

Apesar da composição de espécies não ter sido influenciada por nenhum dos descritores geográficos e de habitat, a análise dos dendrogramas de similaridade na composição de espécies revelou alguns padrões (Figura 5.3.2 e Figura 5.3.3). Os fragmentos que apresentaram ao menos uma espécie especialista se agruparam (Figura 5.3.2 e Tabela 5.1.2), enquanto que os fragmentos que apresentaram apenas espécies generalistas agruparam-se separadamente (Tabela 5.1.2 - Fragmentos 1 e 2 de Sumidouro e Fragmento1 de Miracema). De fato, a riqueza de espécies destes fragmentos foi baixa e composta somente por espécies muito generalistas (*A. cursor* e *D. aurita*). Este resultado é um indício de que a fauna de pequenos mamíferos da região está relativamente depauperada (Olifiers et al. 2005; D' Andrea et al. 1999; Gentile, 1997; Gentile & Fernandez, 1999).

No dendrograma gerado pela similaridade na composição de espécies entre os municípios (incluindo também espécies capturadas na matriz), foi observado que Sumidouro e Varre-sai agruparam-se separadamente de Miracema e Cambuci. Miracema e Cambuci são os municípios mais próximos entre si (cerca de 40 km), o que justificaria pelo menos parcialmente a maior similaridade na composição de espécies. Ainda, ambos apresentam grandes fragmentos e a cobertura vegetal da área amostrada é similar (30 a 35%, considerando um raio de 2,5Km a partir dos transectos mais externos). Os municípios de Sumidouro e Varre-sai, por outro lado, são os municípios mais distantes entre si e a razão pela qual a composição de espécies foi mais similar provavelmente está ligada ao grau de distúrbio das áreas amostradas, pois ambas apresentam menor cobertura vegetal (15 e 20%, respectivamente) com a presença de fragmentos relativamente menores.

6.3. Diagnóstico de infecção por hantavírus e caracterização do hábitat dos reservatórios encontrados

Das amostras sorológicas obtidas, apenas uma fêmea da espécie *Akodon cursor* apresentou reatividade. Sabe-se que a incidência de roedores infectados é geralmente maior em machos adultos do que em fêmeas ou jovens (Limongi, 2013) e isso limita as explicações sobre a infecção por hantavírus encontrada. Segundo Plyusnin (2001) a transmissão do hantavírus entre roedores ocorre principalmente durante disputas por territórios e acasalamento, ou por inalação de aerossóis de urina e fezes. Estudos ecológicos comprovam que áreas perturbadas e com hábitat descaracterizados favorecem a ocorrência de espécies generalistas potenciais reservatórios, onde facilmente se adaptam e aumentam em abundância, favorecendo o contato entre os indivíduos e também a transmissão horizontal (Mills, 2006). De fato, o roedor soropositivo foi capturado no município de Varre-sai na expedição de coleta onde foi possível observar a maior abundância total de pequenos mamíferos dentre as nove coletas realizadas neste estudo. Araujo e colaboradores (2012) já encontraram marsupiais e morcegos infectados em áreas previamente conhecidas pela presença de roedores reservatórios.

Como não foi possível a caracterização molecular do RNA viral do roedor soropositivo, como os municípios estudados não possuem até o momento casos de hantavirose ou mesmo diagnóstico positivo em amostras de reservatórios, não é possível no momento a identificação do genótipo viral circulante na região ou mesmo de potenciais reservatórios. As áreas estudadas localizam-se na porção oeste do estado, região esta que é limítrofe ao estado de Minas Gerais que é o estado de maior ocorrência de hantavirose do país (cerca de 277 casos até o momento). Para este estado e demais áreas de Cerrado, o hospedeiro reconhecido é o roedor *N. lasiurus* (Suzuki et al. 2004), espécie tipicamente de Cerrado e de ocorrência em áreas degradadas de Mata Atlântica (Pardini et al. 2005). A região noroeste apresenta apenas 4% do total de remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro, e a descaracterização do habitat pode

favorecer a ocorrência deste roedor.

Em outros estudos no Rio de Janeiro foi encontrada evidência sorológica em *O. nigripes* em Sumidouro (Sobreira et al. 2008); evidência sorológica e detecção molecular em *O. nigripes* na região do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, em Teresópolis e Valença (Strecht, 2014) com o vírus Juquitiba e evidência sorológica em *A. cursor* em Nova Friburgo (Sobreira et al. 2008). Sobreira et al. 2008, encontrou soropositividade em quatro espécimens de roedores, sendo três em *O. nigripes* e um *A. cursor*. A autora sugere que o roedor *A. cursor* está associado ao vírus Araraquara assim como *N. lasiurus*, porém referencia esta informação em Sukuki et al. 2004 e Figueiredo et al. 2006, onde os espécimens foram identificados como *Akodon* sp. A recorrente dificuldade em amplificar o genoma do hantavírus em *A. cursor* tanto neste estudo como nos citados anteriormente, pode ser devido à baixa viremia nos fragmentos de tecidos dos espécimens infectados, sugerindo uma infecção eventual pelo vírus Araraquara nesta espécie. Neste estudo a caracterização molecular também foi negativa, porém a presença de anticorpos para hantavírus em roedores (apesar da baixa prevalência) sinaliza a circulação de hantavírus na área estudada. Estes resultados sugerem a necessidade de um estudo longitudinal para se compreender a dinâmica de transmissão dos hantavírus nesta região.

A partir deste resultado, sendo *A. cursor* a única espécie tida como potencial reservatório com infecção por hantavírus detectada, estudou-se a preferência do hábitat deste roedor. Neste estudo, relacionou-se a abundância de *A. cursor* com os três primeiros fatores da análise de componentes principais para variáveis de hábitat. As variáveis correlacionadas negativamente mostram que a abundância de *A. cursor* é maior em pontos com subosques de 0 a 0,50 m e 0,50 a 1 metro, dossel mais abertos e mais baixos, com menor quantidade de árvores com DAP acima de 5 centímetros e árvores acima de um metro de altura (Tabela 5.5.2). Estas características são comuns em áreas abertas e/ou pastagens, o que explica a maior abundância da espécie na matriz alterada. Geise (2012) compila as informações sobre esta espécie, onde os autores descrevem sua taxonomia, ecologia e estudo de populações. Sabe-se que esta espécie é generalista e pode ser encontrada em diversos habitats. Diversos autores elucidam que em locais de cobertura herbácea densa e folhiço favorecem a ocorrência desta espécie (Stallings, 1988; Hermann, 1991; Gentile & Fernandez, 1999). No estudo de Olifiers (2002) a abundância de *A. cursor* teve relação positiva com irizeiros, gramíneas, cobertura vegetal (grau de abertura de dossel) e relação negativa com árvores predominantes (ocorrentes na estação de captura com perímetro maior de 30 cm). Assim, sugere-se que o processo de fragmentação favoreça a abundância deste roedor e os resultados deste estudo corroboram a importância do acompanhamento do processo de fragmentação dessas áreas para elucidar a transmissão de hantavírus e a ecologia dos seus potenciais reservatórios encontrados.

7. CONCLUSÕES

- A fauna de pequenos mamíferos da região estudada no noroeste do estado do Rio de Janeiro apresenta elementos típicos do bioma Mata Atlântica, está fortemente reduzida em sua diversidade e é composta principalmente por espécies generalistas e adaptadas a uma paisagem fragmentada;
- Fragmentos florestais menores que 100 hectares aparentemente apresentam composição de espécies que não se relaciona significativamente aos descritores geográficos e de hábitat estudados;
- A evidência sorológica de circulação de hantavírus na região noroeste do Rio de Janeiro, particularmente no município de Varre-sai, sinaliza para a necessidade de um acompanhamento longitudinal da transmissão de hantavírus entre roedores;
- A abundância de *A. cursor* está relacionada a habitats mais simplificados e sua ocorrência está significativamente relacionada a áreas de matriz.

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrellos R., Bonvicino C.R., Rosa E.S.T., Marques A.A.R., D'Andrea P.S., Weksler M., 2012. The taxonomic status of the Castelo dos Sonhos Hantavirus reservoir. *Zootaxa* 3220: 1–28.

Araujo J., Thomazelli L.M., Henriques D.A., Lautenschlager D., Ometto T., Dutra L.M., Aires C.C., Favorito S., Durigon E.L., 2012. Detection of hantavirus in bats from remaining rain forest in São Paulo, Brazil. *BMC Res Notes* 5: 690

Attias, N., Raíces D.S.L., Pessôa F.S., Albuquerque H.G., T. Jordão-Nogueira, T.C. Modesto and H.G. Bergallo. 2009. Potential distribution and new records of *Trinomys* species (Rodentia: Echimyidae) in the state of Rio de Janeiro. *Zoologia* 26(2): 305-315.

Albuquerque H.G., Paula Ferreira Martins P.F, Pessôa F.S, Modesto T.C, Luz J.L. Raíces D,S,L., Ardente N.C, Motta I.C. Attias, N., Jordão-Nogueira T. Enrici M.C. & Bergallo, H.G., 2013. Mammals of a forest fragment in Cambuci municipality, state of Rio de Janeiro, Brazil . *Check List* 9(6): 1505–1509;

August, P V 1983. The Role of Habitat Complexity and Heterogeneity in Structuring Tropical Mammal Communities. *Ecology* 64: 1495–1507.

Bergallo, H. G.; Geise, L.; Bonvicino, C. R.; Cerqueira, R.; D'Andrea, P.S.; Esberard, C. E.; Fernandez, F. A. dos S.; Grelle, C. E.; Peracchi, A.; Siciliano, S.; Vaz, S. M. Mamíferos. In: Bergallo, H. G.; Rocha, C. F. D.; Alves, M. A. S.; Van Sluys, M. (Org.). *A fauna ameaçada de extinção do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro: Ed. UERJ, 2000. p. 125-135.

Bergallo, H. G., Luz, J. L., Raíces, D. S., Hatano, F. H. e Martins-Hatano, F. , 2005. Habitat use by *oryzomys subflavus* (rodentia) in an open shrubland formation in restinga de jurubatiba national park, rj, brazil. *Braz. J. Biol.*, 65(4): 583-588.

Bergallo, H.G., Fidalgo, E.C.C., Rocha, C.F.D., Uzeda, M.C., Costa, M.B., Alves, M.A.S., Van sluys, M., Santos, M.A., Costa, T.C.C. & Cozzolino, A.C.R. 2009. Estratégias e ações para a conservação da biodiversidade no Estado do Rio de Janeiro. Instituto Biomas, Rio de Janeiro.

Bittencour, T. E. B., & Rocha, C. F. D.. 2002. Spatial use of rodents (Rodentia: Mammalia) host body surface by ectoparasites. *Brazilian Journal of Biology*, 62(3), 419-425.

Bonecker ST, Portugal LG, Costa-Neto SF, Gentile R, 2009. A long term study of small mammal

populations in a Brazilian agricultural landscape. *Mamm Biol* 74(6): 467–477.

Bonvicino, C.R., S.M. Lindbergh and L.S. Maroja. 2002. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. *Revista Brasileira de Biologia* 62(4B): 765-774.

Bonvicino, C.R., J.A. Oliveira and P.S. D'Andrea. 2008. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS. 120 p.

Bonvicino C.R., 2011. Diversidade cariotípica em roedores Akodontini do Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia* 62: 7–11.

Briani D.C., Palma A.R.T, Vieira E.M., Henriques R.P.B., 2004. Post-fire succession of small mammals in the Cerrado of central Brazil. *Biodiversity and Conservation* 13: 1023–1037.

Cárceres, N.C. & Monteiro-Filho, E.L.A. 2001. Food habits, home and activity of the common opossum (*Didelphis marsupialis*) in a forest fragment of southern Brazil. *Stud. Neotrop. Fauna E.* 36(2):85-92.

Cárceres, N.C. 2004. Diet of three marsupials (Mammalia, Didelphimorphia) in southern Brazil. *Mammalian Biology, Jena*, 69: 430-433

Cardozo, TC. 2011. Caracterização da fauna de pequenos mamíferos e avaliação dos potenciais reservatórios de hantavírus (Bunyaviridae: Hantavirus), em oito municípios do estado do Rio de Janeiro. Trabalho de conclusão de curso de graduação – modalidade zoologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Carvalho F.M.V, Pinheiro P.S., Fernandez F.A.S, Nessimian J.L. 1999. Diet of small mammals in Atlantic Forest fragments in southeastern Brazil. *Rev. bras. De Zociências Juiz de Fora.V. 1 N° 1 Dez/99 p. 91-101.*

Castro, E.B.V. & Fernandez, F.A.S. 2004. Determinants of differential extinction vulnerabilities of small mammals in Atlantic forest fragments in Brazil. *Biol. Conserv.* 119(1):73-80.

Caughley, G., 1994. Directions in conservation biology. *Journal of Animal Ecology*, 63, 215-244.

Cerqueira, R. & Lemos, B., 2000. Morphometric differentiation between Neotropical black-eared

opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). *Jour. of Mammal.*, vol. 64, no. 3, p. 319-327.

Cheren J.J., Graipel M.E., Menezes M.E., Soldateli M., 1996. Observações sobre a biologia do gambá (*Didelphis marsupialis*) na Ilha de Ratonés Grande, Estado de Santa Catarina, Brasil. *Biotemas* 9:47-56.

Connor, E. F. & McCoy, E. D., 1979. The Statistics and Biology of the Species-Area Relationship. *The American Naturalist*, 6, 791–833.

Costa, T.C.C., E.C.C. Fidalgo, R.F. Santos, J.V. Rocha, J.P. Metzger, R.S. Vicens, K. Tanizaki-Fonseca and C.B.A. Bohrer. 2009. Diversidade de paisagens no estado do Rio de Janeiro; p. 101-110. Estratégias e ações para a conservação da biodiversidade no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Instituto Biomas.

Crouzeilles R., Barros C.S, Fernandez F.A.S, 2010. *Philander frenatus* e *Metachirus nudicaudatus*: Competição ou necessidades ecológicas diferentes na floresta atlântica?. *Mastozoología Neotropical*, 17(1):135-140, Mendoza.

Cunha, A.A. & Vieira M.V.. 2002. Support diameter, incline, and vertical movements of four didelphid marsupials in the Atlantic forest of Brazil. *Journal of Zoology, Cambridge*, 258: 419-426.

Cunha, A.A. & Rajão, H. 2007. Mamíferos terrestres e aves da Terra Indígena Sapukai (Aldeia Guarani do Bracuí) Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Prof. Mello Leitão*, Nova Série, 21:19-34.

Daszak P, Cunningham A.A., Hyatt A.D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *Science (New York, N.Y.)* 287: 443–449.

D'Andrea P.S., Gentile R., Cerqueira R., Grelle C.E.V., Horta C., Rey L., 1999. Ecology of small mammals in a Brazilian rural area. *Rev Bras Zool* 16(3): 611–620.

Debinski D.M. & Holt R.D., 2000. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conservation Biology* 14: 342-355.

Delciellos, A.C., Novaes, R.L.M., Loguercio, M.F.C., Geise, L., Santori, R.T., Souza, R.F., Papi, B.S., Raices, D.S.L., Vieira, N.R., Felix, S., Detogne, N., Silva, C.C.S., Bergallo, H.G. & Rocha-Barbosa, O., 2012. Mammals of Serra da Bocaina National Park, state of Rio de Janeiro,

southeastern Brazil. *Check List* 8(4):675-692.

Diamond, J.N. & R. M. May, 1976. Island biogeography and the design of natural reserves 163-186. In R. M. May (Ed.), *Theoretical ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Donalisio M.R., Peterson A.T., 2011. Environmental factors affecting transmission risk for hantaviruses in forested portions of Southern Brazil. *Acta tropica* 119: 125–130.

Eisenberg J.F. & De Wilson 1981. Relative brain size and demographic strategies in Didelphid Marsupials. *The American Naturalist*, 118: 1-15.

Emmons, L. and F. Feer. 1990. *Neotropical rainforest mammals*. Chicago: University of Chicago Press. 307 p.

Emmons, L. H.; Feer, F., 1997. *Neotropical rainforest mammals: a field guide*. 2.ed. Chicago and London: University of Chicago Press.

Feliciano B.R., Fernandez F.A.S, Freitas D., Figueiredo MSL, 2002. Population dynamics of small rodents in a grassland between fragments of Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Mammalian Biology* 67(5): 304–314.

Fidalgo, E.C.C., M.C. Uzêda, H.G. Bergallo, T.C.C. Costa and M.B. Abreu. 2009. Distribuição dos remanescentes vegetais no Estado do Rio de Janeiro; p. 31-100. Rio de Janeiro: Instituto Biomás.

Figueiredo LTM, Moreli ML, Sousa RLM, Borges AA, Figueiredo GG, Machado AM, Bisordi I, Nagasse-Sugahara TK, Suzuki A, Pereira LE, Souza RP, Souza LTM, Braconi CT, Harsi CM, Zanotto PM de A, 2009. Hantavirus pulmonary syndrome, central plateau, southeastern, and southern Brazil. *Emerging infectious diseases* 15: 561–567.

Fonseca G.A.B. & Kierulff M.C.M., 1989. Biology and natural history of Brazilian Atlantic forest small mammals. *Bull Flor State Mus Biol Sci* 34: 99–152.

Fonseca, G.A.B. & Robinson, J.G., 1990. Forest size and structure: competitive and predatory effects on small mammal communities. *Biological Conservation* 53: 265-294.

Fonseca, G.A.B., Herrmann, G., Leite, Y.L.R., Mittermeier, R.A., Rylands, A.B. & Patton, J.L. 1996. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. *Occas. Pap. Conserv. Biol.* 4:1-38.

Forman, R.T.T., Galli, A.E. and Leek, C.F., 1976. Forest size and avian diversity in New Jersey woodlots with some landuse implications. *Oecologia* 26: 1-8.

Forman, R.T.T., Collinge, S., 1997. Nature conserved in changing landscapes with and without spatial planning. *Landscape and Urban Planning* 37, 129–135.

Freitas, S. R.; Cerqueira, R.; Vieira, M. V. 2002. A device and standard variables to describe microhabitat structure of small mammals based on plant cover. *Braz. J. Biol.*, v. 62, p. 795-800.

Freitas, S.R., Neves, C.L. & Chernicharo P., 2006. Tijuca National Park: two pioneering restorationist initiatives in Atlantic forest in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, V.66, n.4,p.975-982.

Fundação S.O.S. Mata Atlântica e Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2009. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: período: 2005-2008. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica. 120 p.

Fundação SOS Mata Atlântica, 2014 Atlas interativo; Link:<http://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/>Acesso em 05/07/2014

Galetti, M.; R.S. Bueno; C.S.S. Bernardo; R. Bovendorp; C.E. Steffler; P. Rubim; S.K. Kobbo; R.M. Marques; R.A. Nobre; C.I. Donatti; R.A. Begotti; F. Meirelles; A. Giacomini; A.G. Chiarello & C.A. Peres. 2009. Conservation priorities and regional scale determinants of medium and large mammal abundance across the Atlantic forest biome. *Biological Conservation* 142: 1229-1241.

Gardner, A. L. 1993. Order Didelphimorphia. In *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference* (D.E. Wilson & D.A.M. Reeder, eds.). D.C.: Smithsonian Institution Press. Pp.15-23.

Gardner, A. L. 2005. Order Didelphimorphia. In *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference* (D.E. Wilson & D.A.M. Reeder, eds.). 3rd ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, p.3-18

Geise, L.; Pereira, L. G.; Bossi, D. E. P.; Bergallo, H. G., 2004. Pattern of elevational distribution and richness of non volant mammals in Itatiaia National Park and its surrounding, in the southeastern Brazil. *Braz. J. Biol.*, v. 64, n. 3B, p. 599-612.

Geise, L. , 2012. *Akodon cursor*. *Mammalian Species* Volume 44, Issue 1 :33-43. 2012.

Gentile, R.; D'Andrea P.S. & Cerqueira R. 1997. Home ranges of *Philander frenata* and *Akodon cursor* in a Brazilian resting (coastal shrubland). *Mastozoología Neotropical* 4: 105-112.

Gentile R, Fernandez F.A.S. 1999. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. *Mammalia* 63: 29–40

Gentile, R. & Fernandez F.A.S. 1999. A field comparison of two capture-mark-recapture estimators of small mammal populations. *Revista Brasileira de Zoologia* 16: 1109-1114.

Gentile R, Costa-Neto SF, D'Andrea PS 2010. Uma revisão sobre a participação do rato d'água *Nectomys Squamipes* na dinâmica de transmissão da Esquistossomose Mansônica: um estudo multidisciplinar de longo prazo em uma área endêmica. *Oecologia Australis* 14: 711–725.

Gilpin, M. E. and M. E. Soule 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. In *Conservation biology: the science of scarcity and diversity* (Eds. M. E. Soule). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. pp.19-34

Graipel ME, Cherem JJ, Monteiro-Filho ELA, Glock L, 2006. Dinâmica populacional de marsupiais e roedores no Parque Municipal da Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. *Mastozoología Neotrop* 13(1): 31–49

Graipel M.E. & Santos-Filho M. 2006. Reprodução e dinâmica populacional de *Didelphis aurita* Wied-Neuwied (Mammalia: Didelphimorphia) em ambiente periurbano na Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Biotemas* 19:65-73

Harrell, FE 2001. *Regression Modeling Strategies: with applications to linear models, logistic regression, and survival analysis*. Springer-Verlag New York, Inc. New York, USA.

Husson, A. M. 1978. *The Mammals of Suriname*. E. J.Brill, Leiden, Netherlands, 569 pp.

Huxel G.R, Hastings A 1999 Habitat loss, fragmentation, and restoration. *Restor. Ecol.* 7, 309–315

Katz G, Williams RJ, Burt, MS, Souza LTM, Pereira LE, Mills JN. 2001. Hantavirus Pulmonary Syndrome in the State of São Paulo, Brazil, 1993-1998. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*;1:181-89

Kruess A, Tscharntke T. 1994. Habitat fragmentation, species loss, and biological control. *Science* 264:1581–1584

Lamas, CC, Oliveira, RC, Bóia, MN, Kirsten, AH, Silva, AP, Maduro, R, Bragagnolo, C, Bezerra.L.,Lemos, ERS. 2006. Seroprevalence of hantavirus infection in HIV positive individuals in Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brazil.

Lara, MC, Patton JL & Hingst-Zaher E. 2002. *Trinomys mirapitanga*, a new species of spiny rat (Rodentia: Echimyidae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Mammalian Biology*, 67, 233-242p.

Laurance, W. F. & Bierregaard, R. O. (Eds.).1997. Tropical forest remnants: Ecology, Management, and Conservation of fragmented communities. The University of Chicago Press. Chicago. USA. 616 p.

Lee HW, Lee PW, Johnson KM 1978. Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic fever. *The Journal of infectious diseases* 137: 298–308.

Lednicky JA, 2003. Hantaviruses: A Short Review. *Arch Pathol Lab Med* 127(1): 30–35.

Legendre, 2013. Versão 3.4 alpha 9 do Programa Permute!
<http://adn.biol.umontreal.ca/~numerica/ecology/old/permute-index.html>

Legendre P, Legendre L 1998. Numerical Ecology: Developments in Environmental Modelling 20. Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands.

Leite, Y.L.R.; Costa, L.P. & Stallings, J.R. 1996. Diet and vertical space use of three sympatric opossums in a Brazilian Atlantic forest reserve. *Journal of Tropical Ecology*12: 435-440.

Lemos, B., R. Cerqueira. 2002. Morphological differentiation in the white-eared opossum group (Didelphidae:Didelphis). *Journal of Mammalogy*, 83:2: 354-369.

Limongi JE, Costa FC, Paula MBC, Pinto RMC, Oliveira MCA, Pajuaba Neto AA, Borges AS, Ferreira MS, 2007. Síndrome Cardiopulmonar por hantavírus no triângulo mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, 1998-2005: aspectos clínicos-epidemiológicos de 23 casos. *Rev Soc Bras Med Trop*40: 295-299.

Limongi JE, da Costa FC, Pinto RM, et al. Cross-sectional survey of hantavirus infection, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:1981–1983.

Limongi JE 2013. Caracterização genética dos hantavírus em roedores sigmodontíneos e humanos em área endêmica de Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus no Estado de Minas

Gerais. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. Universidade Federal de Uberlândia: 95p

Loretto, D. 2006. Demografia e seleção de habitat de Marsupiais arborícolas neotropicais com uso de ninhos artificiais. Dissertação de Mestrado em Ecologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Macedo, J.; Loretto, D.; Mello, M. C. S.; Freitas, S. R.; Vieira, M. V.; Cerqueira, R. História Natural dos mamíferos de uma área perturbada do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. In: CRONEMBERGER, C.; VIVEIROS de CASTRO, E. B. Ciência e conservação da Serra dos Órgãos. Brasília: Ibama, 2007.

Magurran, A. E. 1988. Ecological Diversity and its Measurements. Croom Helm, Sydney. 179p.

Magrini L. & Facure K.G. 2008. Barn Owl (*Tyto alba*) predation on small mammals and its role in the control of hantavirus natural reservoirs in a periurban area in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 68(4): 733–740.

Mills JN, Childs JE 1998. Ecologic studies of rodent reservoirs: their relevance for human health. *Emerg Infect Dis* 4: 529-538

Mills JN 2006. Biodiversity loss and emerging infectious disease: An example from the rodent-borne hemorrhagic fevers. *Emerging Infectious Diseases* 7: 9–17.

Mittermeier, R.A. & Patton, J.L. 2012. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. 2. ed. Occas. Pap. *Conserv. Biol.* 6:1-76.

Modesto, T.C., F.S. Pessôa, T. Jordão-Nogueira, M.C. Enrici, L.M. Costa, N. Attias, J. Almeida, D.S.L. Raíces, H.G. Albuquerque, B.C. Pereira, C.E.L. Esbérard and H.G. Bergallo. 2008(a). Mammals, Serra da Concórdia, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Check List* 4(3): 341-348

Modesto, T.C., F.S. Pessôa, M.C. Enrici, N. Attias, T. Jordão-Nogueira, L.M. Costa, H.G. Albuquerque, and H.G. Bergallo. 2008(b). Mamíferos do Parque Estadual do Desengano, Rio de Janeiro, Brasil. *Biota Neotropica* 8(4): 153-159.

Murcia, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10: 58-62.

Mustrangi, M.A. & Patton, J.L. 1997. Phylogeography and systematics of the slender mouse opossum *Marmosops* (Marsupialia, Didelphidae). University of California Press, Berkeley, 86 p. Publications in Zoology, v. 130.

Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, R. A.; Arantes, A. A., Prado, J. & Ranaivosoa, M. A. Rodriguésia 59 (4): 845-858. 2008 C. G.; Fonseca, G. A. B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853-858.

Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov SP, Rollin PE, Ksiazek TG, Feldmann H, Sanchez A, Childs JE, Zaki SR, Peters CJ 1993. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. Science (New York, N.Y.) 262: 914–917.

Olifiers, 2002. Fragmentação, habitat e as comunidades de pequenos mamíferos da bacia do rio Macacu, RJ. Dissertação de Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Universidade Federal de Minas Gerais.

Olifiers, N., A. Cunha, C.E.V. Grelle, C.R. Bonvicino, L. Geise, L.G. Pereira, M.V. Vieira, P.S. D'Andrea and R. Cerqueira. 2007. Lista de espécies de pequenos mamíferos não-voadores do Parque nacional da Serra dos Órgãos; p. 183-192 Ciência e Conservação na Serra dos órgãos. Brasília: IBAMA, Centro Nacional de Informação, Tecnologias Ambientais e Editoração.

Oliveira, RC, Martinez, VP, Bellomo, C, Padula, PJ, Bonvicino, CR, Lima, DIF, Pereira, AP, Bragagnolo, C, Lima, LB, Caldas, ACS, Zeccer, S, D'Andrea, PS, Lemos, ERS. 2007. Identification of *Akodon montensis* as reservoir host of a novel hantavirus in South Brazil. VII International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses, Buenos Aires, Argentina, Abstract Book, p. 126

Oliveira RC, Teixeira BR, Mello FCA, Pereira AP, Duarte AS, Bonaldo MC, Bonvicino CR, D'Andrea PS, Lemos ERS, 2009. Genetic characterization of a Jujutiba-like viral lineage in *Oligoryzomys nigripes* in Rio de Janeiro, Brazil. Acta Trop 112(2): 212–218.

Oliveira RC, Padula PJ, Gomes R, Martinez VP, Bellomo C, Bonvicino CR, Lima DI, Bragagnolo C, Caldas AC, D'Andrea PS, Lemos ER, 2011. Genetic characterization of hantaviruses associated with sigmodontine rodents in an endemic area for hantavirus pulmonary syndrome in southern Brazil. Vector Borne Zoonotic Dis 11: 301–314.

Oliveira RC, Cordeiro-Santos M, Guterres A, Fernandes J, de Melo AX, João GA, Novais MA, Travassos da Rosa ES, Vasconcelos PF, Vilges de Oliveira S, de Albuquerque BC, de Lemos ER. Rio Mamoré virus and hantavirus pulmonary syndrome, Brazil. Emergence Infectious Diseases. 2014 Sep;20(9):1568-70. doi: 10.3201/eid2009.131472

Owen RD, Goodin DG, Koch DE, Chu Y-K, Jonsson CB, 2010. Spatiotemporal variation in *Akodon montensis* (Cricetidae: Sigmodontinae) and hantaviral seroprevalence in a subtropical forest ecosystem. *J Mammal* 91(2): 467–481.

Paglia A., Júnior P.D.M., Costa F.M, Pereira R.F., Lessa G., 1995. Heterogeneidade estrutural e diversidade de pequenos mamíferos em um fragmento de mata secundária de Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*. Vol.12(1): 67-69.

Paglia, A.P., Fonseca, G.A.B., Rylands, A.B., Herrmann, G., Aguiars, L.M.S., Chiarello, A.G., Leite, Y.L.R., Costa, L.P., Siciliano, S., Kierullff, M.C.M., Mendes, S.L., Tavares, V.C., Mittermeier R.A & P.J.L. 2012. Annotated Checklist of Brazilian Mammals, 2^a ed. Arlington, V.A.: Occasional Papers in Conservation Biology, No.6 Conservation Biology.

Pardini R, Souza SM, Braga-Neto R, Metzger JP 2005. The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. *Biological Conservation* 124: 253–266

Pardini, R. & Umetsu, F. 2006. Non-volant small mammals from the Morro Grande Forest Reserve: distribution of species and diversity in an Atlantic Forest area. *Biota Neotrop.* 6(2): <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/abstract?article+bn00606022006> (último acesso em 31/08/2009).

Pardini, R.; Bueno, A.A.; Gardner, T.A.; Prado, P.I.; Metzger, J. P., 2010. Beyond the Fragmentation Threshold Hypothesis: Regime Shifts in Biodiversity Across Fragmented Landscapes. *Plos One*, v.5.

Passamani, M. 1995. Vertical Stratification of small mammals in Atlantic Hill Forest. *Mammalia*, 59(2): 276-279.

Passamani, M. 2000. Análise da comunidade de marsupiais em Mata Atlântica de Santa Teresa, Espírito Santo. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão* 11/12: 215-228

Patton, D.R. 1975. A diversity index for quantifying habitat “edge”. *Wildlife Society Bulletin* 3, 171-173.

Patton, J.L. & Costa, L.P. 2003. Molecular phylogeography and species limits in rainforest Didelphid marsupials of South America. In *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials* (M. John, C. Dickman & M. Archer, eds.). Csiro Publishing, Collingwood, Australia, p.

63-81.

Pessoa, F.S., T.C. Modesto, H.G. Albuquerque, N. Attias and H.G. Bergallo. 2009. Non-volant mammals, Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Rio das Pedras, municipality of Mangaratiba, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Check List* 5(3): 577-586.

Pereira, L. G., S. E. M. Torres, H. S. Da Silva, and L. Geise. 2001. Non-volant mammals of Ilha Grande and adjacent areas in Southern Rio de Janeiro State, Brazil. *Boletim do Museu Nacional* 459: 1-15

Pereira S.N., Dias D., Lima I.P, Maas A.C.S, Martins M.A, Bolzan D.P, França D.S., Oliveira M.B, Peracchi A.L., Ferreira M.F.S. 2013. Mamíferos de um fragmento florestal em volta redonda, estado do Rio de Janeiro. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 1017-1027, July/Aug.

Pinto, L. D.; De Araujo, F. A. P.; Stobb, N. S.; Marques, S. M. T. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.8, p.2464-2469, 2009.

Pires, A.S., P.K. Lira, F.A.S. Fernandez, G.M. Schittini and L.C. Oliveira. 2002. Frequency of movements of small mammals among Atlantic Coastal Forest fragments in Brazil. *Biological Conservation* 108: 229-237.

Plyusnin A, Vapalahti O. & Vaheri A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. *Journal of General Virology* (1996), 77, 2677-2687.

Primack, R. B.; Rodrigues, E. *Biologia da conservação*. Londrina: E. Rodrigues, 2001. 328p, 2001
Puttker, T., Y. Meyer-Lucht, S. Sommer. 2008. Effects of fragmentation on parasite burden (nematodes) of generalist and specialist small mammal species in secondary forest fragments of the coastal Atlantic forest, Brazil. *Ecological Research*, 23: 207-215.

Raboni SM, Probst CM, Bordignon J, Zeferino A, Duarte dos Santos CN, 2005. Hantaviruses in Central South America: phylogenetic analysis of the S segment from HPS cases in Paraná, Brazil. *J Med Virol* 76(4): 553–562.

Raboni SM, Hoffmann FG, Oliveira RC, Teixeira BR, Bonvicino CR, Stella V, Carstensen S, Bordignon J, D'Andrea PS, Lemos ERS, Duarte dos Santos CN, 2009. Phylogenetic characterization of hantaviruses from wild rodents and hantavirus pulmonary syndrome cases in the State of Parana (Southern Brazil). *J Gen Virol* 90: 2166–2171.

Raboni SM, de Borba L, Hoffmann FG, Noronha L, Azevedo MLV, Carstensen S, Mazzarotto GACA, Bordignon J, Duarte dos Santos CN, 2009. Evidence of circulation of Laguna Negra-like hantavirus in the Central West of Brazil: Case report. *J Clin Virol* 45(2): 153–156.

Ralls, K.; Harvey, P.H.; Lyles, A.M. 1986. Inbreeding in natural populations of birds and mammals. pp. 35-56.

Reis, N.R., A.L. Peracchi, W.A. Pedro and I.P. Lima. 2006. *Mamíferos do Brasil*. Londrina: Universidade Estadual de Londrina. 437 p.

Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J. & Hirota, M.M. 2009. The Brazilian Atlantic forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Conserv. Biol.* 142:1141-1153

Rocha, C.F.D., Bergallo, H.G., Alves, M.A.S. & Van Sluys, M. 2003. *A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica*. RiMa Editora, São Carlos

Rocha, C. F. D.; Bergallo, H. G.; Pombal Jr.; J. P.; Geise, L.; Van Sluys, M.; Fernandes, R.; Caramaschi, U. 2004 Fauna de anfíbios, répteis e mamíferos do Estado do Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil. *Publicações Avulsas do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, n. 104, p. 3–23, jun.

Rosa EST, Mills JN, Padula PJ, Elkhoury MR, Ksiazek TG, Mendes WS, Santos ED, Araújo GCB, Martinez VP, Rosa JFST, Edelstein A, Vasconcelos PFC 2005. Newly recognized hantaviruses associated with hantavirus pulmonary syndrome in northern Brazil: partial genetic characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. *Vector borne and zoonotic diseases* (Larchmont, N.Y.) 5: 11–19.

Rosa, E.S. 2008. *Correlação vírus-hospedeiro e epidemiologia molecular de hantavírus em dois distintos ecossistemas amazônicos: Maranhão e Pará-Mato Grosso*. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Parasitária. FIOCRUZ

Ruo SL, Li YL, Tong Z, Ma QR, Liu ZL, Tang YW, Ye KL, McCormick JB, Fisher-Hoch SP, Xu ZY 1994. Retrospective and prospective studies of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. *The Journal of infectious diseases* 170: 527–534.

Santori, R.T.; Astua de Moraes D.; Grelle C.E.V. & Cerqueira R. 1997. Natural diet at a restinga

forest and laboratory food preferences of the opossum *Philander frenata* in Brazil. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, 32: 12-16

Saunders, D.A, De Rebeira, C.P. (1991). Values of corridors to avian populations in a fragmented landscape. In: *Nature Conservation 2: The Role of Corridors* (eds D.A. Saunders and R.J. Hobbs), pp. 221–240. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton.

Schweiger, E.W., Diffendorfer J.E, Pierotti R., e Holt, R.D. The relative importance of small scale and landscape-level heterogeneity in structuring small mammals communities. Pag. 175-210, Springer, New York.

Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NTR, Veiga APR, Canzian M, Marotto PCF, Lima VCP 1997. Hantavirus Pulmonary Syndrome: Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 39: 231–234.

Smith MF, Patton JL 1993. The diversification of South American murid rodents: evidence from mitochondria1 DNA sequence data for the Akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society* 50: 149–177.

Spiropoulou C, Morzunov S, Feldman H, Sanchez A, Peters CJ, Nichol ST. Genome structure and variability of a virus causing hantavirus pulmonary syndrome. *Virology* 200:715-723, 1994.

Stevens, S.M. & Husband, T.P. 1998. The influence of edge on small mammals: evidence from Brazilian Atlantic forest fragments. *Biol. Conserv.* 85:1-8

Strecht, L. 2014. Avaliação da infecção por hantavirus em amostras humanas e de roedores silvestres e sinantrópicos no estado do Rio de Janeiro. *Dissertação de Mestrado em Medicina tropical, IOC.*

Sutherst RW 2001. The vulnerability of animal and human health to parasites under global change. *International Journal for Parasitology* 31: 933-948.

Suzuki A, Bisordi I, Levis S, Garcia J, Pereira LE, Souza RP, Sugahara TKN, Pini N, Enria D, Souza LTM, 2004. Identifying rodent hantavirus reservoirs, Brazil. *Emerg Infect Dis* 10(12): 2127–2134.

Turner, I.M., 1996. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. *Journal of Applied Ecology* 33, 200–209.

Umetsu F, Pardini R 2007. Small mammals in a mosaic of forest remnants and anthropogenic habitats — evaluating matrix quality in an Atlantic forest landscape. *Landscape Ecology* 22: 517–530

Vaheri A., Mills J. N., Spiropoulou C. F., Hjelle B. (2011). Hantaviruses. In *Oxford Textbook of Zoonoses - Biology, Clinical Practice, and Public Health Control*, 2nd edn, pp. 307-322. Edited by S. R. Palmer, Lord Soulsby, P. Torgerson & D. W. G. Brown. Oxford: Oxford University Press.

Vaz, S.M. 1984. Lista preliminar sobre os mamíferos existentes na Serra do Tinguá. *Boletim Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza* 19: 149-153

Vaz, V. C., D'andrea, P. S. and Jansen, A. M. 2007. Effects of habitat fragmentation on wild mammal infection by *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology* 134, 1785–1793.

Vidolin, G.P., Biondi, D., & Wandembruck, A. (2011). Análise da estrutura da paisagem de um remanescente de floresta com Araucária, Paraná, Brasil. *Revista Árvore*, 35(3), 515-525.

Vieira, M.V., N. Olifiers, A.C. Delciellos, V.Z. Antunes, L.R. Bernardo, C.E.V. Grelle and R. Cerqueira. 2009. Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. *Biological Conservation* 142: 1191-1200.

Volatão, C. F. S. Trabalho de análise espacial Métricas do Fragstats. INPE, São José dos Campos. 1998.

Voss, R. S. & S. A. Jansa. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, an extant radiation of New World metatherian mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 322:1–177.

Wilson, D. E.; Reeder, D. A. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 2.ed. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1993.

9. ANEXOS

ANEXO 1 – Licença permanente de coleta de material zoológico



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Observações, ressalvas e condicionantes

1	A participação do(a) pesquisador(a) estrangeiro(a) nas atividades previstas nesta autorização depende de autorização expedida pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT);
2	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural, Área de Relevante Interesse Ecológico e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas;
3	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
4	Esta licença permanente não exige o seu titular 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.
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
6	Esta autorização NÃO exige 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.
7	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)
8	O órgão gestor de unidade de conservação estadual, distrital ou municipal poderá, a despeito da licença permanente e das autorizações concedidas pelo Ibama, estabelecer outras condições para a realização de pesquisa nessas unidades de conservação.
9	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.
10	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
11	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 Ibama e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
12	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
13	Este documento não dispensa a obtenção de autorização de acesso ao componente do patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado nos termos da legislação vigente.
14	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ORDEM	Rodentia, Didelphimorphia
2		

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Museu Nacional (UFRJ)	colecção

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91827146



Página 1/2

ANEXO 2 – Ficha de registro dos animais capturados

Nº LBCE : _____ **TAG:** _____ **Espécie:** _____

Sexo: Macho () Fêmea () **Data de captura:** ____/____/____

PROCEDÊNCIA:

Estado: ____ Município: _____ Localidade (fragmento): _____

Trilha: _____ Ponto: _____ Armadilha: _____

AMOSTRAS

Coleta de sangue: sim () não ()

Hemocultivo: sim () nº de tubos ____ não () **Exame a fresco:** sim () não ()

Soro: sim () não () Eppendorf () Eluato () **Microhematócrito:** _____

Cariótipo: sim () nº de tubos ____ não () Responsável: _____

Coleta para Hantavirus: rim () pulmão () fígado () baço () coração ()

Banco genético: Fígado () baço () **Ectoparasitas:** sim () não ()

Endoparasitas: sim () não () Responsável: _____

Perfusão: sim () não () **Esfregaço:** sim () não () nº de lâminas: ____

CONDIÇÃO REPRODUTIVA / OUTRAS INFORMAÇÕES

Vagina: aberta () fechada ()

Secreção: sim () não () Tipo: _____

Grávida: Sim () Não () **Lactante:** Sim () Não ()

Útero: virgem () não virgem: ()

Embriões/Filhotes nº: _____ Tamanho do embrião: _____

Escrotado: () **Não escrotado:** ()

Ectoparasitas: sim () não () **Vesícula:** sim () não ()

Cicatriz: Orelha: Sim () Não () / Cauda: Sim () Não ()

MARSUPIAIS

Filhotes de marsupiais: nº _____ Hb _____ TA _____

Características: _____

Manchas: sim () não ()

Bolsa: virgem () não virgem () Tetas: _____

Dentição (sup./inf.): _____/_____

MEDIDAS (em mm) / COLEÇÃO

Peso: _____ Comp. Corpo _____ Cauda _____ Orelha: _____

Pé: c/ unha: _____ s/ unha: _____

Pele: Taxidermizado () Aberta () em álcool ()

Meio líquido: c/ pele () s/ pele ()

OBSERVAÇÕES:

ANEXO 3 – Licença do Comitê de Ética de Uso de Animais



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo CruzVice-presidência de Pesquisa e
Laboratórios de ReferênciaComissão de Ética
no Uso de Animais

LICENÇA

LW-39/14

Certificamos que o protocolo (P-70/13.2), intitulado “ESTUDOS TAXONÔMICOS E ECO-EPIDEMIOLÓGICOS SOBRE PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES NÃO VOADORES DO BRASIL”, sob a responsabilidade de PAULO SERGIO D’ANDREA atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exige a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 19/05/2018 e inclui o uso total de:

Marsupialia

- 1000 machos;
- 1000 fêmeas.

Rodentia

- 1000 machos;
- 1000 fêmeas

Rio de Janeiro, 19 de maio de 2014.

Octavio Augusto França Presgrave

Coordenador da CEUA/FIOCRUZ

Octavio A. F. Presgrave
Coordenador
CEUA/FIOCRUZ
SIAPE 04626550