

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL, MOLECULAR E GENÉTICA**

FLÁVIA DEL BELLO DA SILVA

**GENÉTICA FORENSE: UMA FERRAMENTA PARA A CONSERVAÇÃO DA
FAUNA DOS CAMPOS GERAIS DO PARANÁ**

PONTA GROSSA

2022

FLÁVIA DEL BELLO DA SILVA

**GENÉTICA FORENSE: UMA FERRAMENTA PARA A CONSERVAÇÃO DA
FAUNA DOS CAMPOS GERAIS DO PARANÁ**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva da Universidade Estadual de Ponta Grossa em associação com a Universidade Estadual do Centro-Oeste, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Evolutiva)

Orientador: Prof. Dr. Roberto Ferreira Artoni

PONTA GROSSA

2022

S58

Silva, Flávia Del Bello da

Genética forense: uma ferramenta para a conservação da fauna dos campos gerais do paraná / Flávia Del Bello da Silva. Ponta Grossa, 2022.

58 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Área de Concentração: Biologia Evolutiva), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Ferreira Artoni.

1. Campos Gerais. 2. Crimes ambientais. 3. Legislação ambiental. 4. Genética forense. 5. Dna mitocondrial. I. Artoni, Roberto Ferreira. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Biologia Evolutiva. III.T.

CDD:



Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva
Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética) e a Universidade Estadual do Centro-Oeste (Departamento de Ciências Biológicas)



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº. 08/2022/UEPG

Ata referente à Defesa de Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, uma Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa e a Universidade Estadual do Centro-Oeste, pela candidata Flávia Del Bello da Silva.

Aos trinta dias de agosto de dois mil e vinte e dois, sob a presidência do Prof. Dr. Roberto Ferreira Artoni em sessão pública, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da aluna **Flávia Del Bello da Silva**, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Área de concentração em Biologia Evolutiva, visando o título de Mestre, constituída pelos(as): Prof. Dr. Jonathan Pena Castro (SEED), Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva (UNICENTRO) e Profa. Dra. Susete Wambier Christo (UEPG) - Suplente. Atestada pela colenda Congregação do Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia Evolutiva. Iniciados os trabalhos a presidência deu conhecimento aos membros da Comissão e ao candidato das normas que regem a defesa de dissertação. A seguir a candidata passou a defesa de sua dissertação intitulada: "GENÉTICA FORENSE: UMA FERRAMENTA PARA A CONSERVAÇÃO DA FAUNA DOS CAMPOS GERAIS DO PARANÁ". Encerrada a defesa, procedeu-se ao julgamento e a Comissão Examinadora considerou o candidato **APROVADO**. A Presidência ressaltou que a obtenção do título de Mestre está condicionada ao disposto da atual aprovação de outorga do Título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de concentração em Biologia Evolutiva, **com validade de sessenta dias**; assim como comprovante de envio de um artigo científico proveniente de seu trabalho de dissertação a revista com Qualis igual ou superior a B1 (Biodiversidade – Capes) **até o prazo máximo de 90 dias após a defesa**; o não depósito da versão definitiva da Dissertação, bem como as cópias em CD (PDF) com todas as correções feitas e atestadas pelo orientador, assim como o comprovante de envio do artigo nestes prazos, anulará toda possibilidade de outorga definitiva do Título, recebimento de Certidão e outros documentos, bem como a solicitação do Diploma. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Observação (se necessário)

Alteração de Título: sim não

Novo título: _____

Ponta Grossa, 30 de agosto de dois mil e vinte e dois.

Prof. Dr. Roberto Ferreira Artoni (UEPG)

Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva (UNICENTRO)

Prof. Dr. Jonathan Pena Castro (SEED)

DEDICO,
À minha querida mãe, Angelina.

AGRADECIMENTOS

Aos que passaram pela minha vida e me ofereceram um pouco de sua verdade, minha eterna gratidão.

Ubi dubium ibi libertas: Onde há dúvida, há liberdade.
Provérbio latino

RESUMO

As ameaças ao meio ambiente derivadas das crescentes intervenções humanas, caracterizadas pela fragmentação de habitats, invasões biológicas, caça ilegal e abusiva, tráfico e contrabando de animais, entre outras, prejudicam as atividades de conservação e manutenção da biodiversidade brasileira. Neste cenário, a crescente preocupação com a proteção da fauna e combate ao tráfico ilegal de animais silvestres se desenvolve paralelamente ao surgimento de novas tecnologias acessórias para resolução de investigações criminais relacionadas ao comércio de animais silvestres. Dentre tais ferramentas, os métodos de avaliação genética de organismos ou produtos derivados destacam-se como os principais meios para diferenciação entre espécies, delineando o campo da genética forense aplicada a crimes contra a fauna. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é verificar a acurácia da identificação molecular de espécies de vertebrados terrestres com base no sequenciamento do gene COI (Cox-1), bem como realizar levantamento do arcabouço legal do estado do Paraná no que concerne à legislação voltada à utilização de técnicas de genética forense em investigações de crimes contra a fauna. Para tanto, duas amostras de tecido muscular foram coletadas às cegas junto ao CETAS Ponta Grossa e submetidas ao método de extração de DNA mediante protocolo de fenol-clorofórmio adaptado, seguida de amplificação do gene COI (Cox-1) via PCR, sequenciamento e identificação. A confirmação da identidade do consenso das sequências obtidas foi realizada pela comparação com sequências de bancos de dados disponíveis (*BOLD System* e *NCBI*). Normativas jurídicas relativas ao estado do Paraná foram levantadas utilizando-se o Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná. Para ambas as amostras, a identificação molecular confirmou com 100% de certeza que o tecido muscular analisado era do FILO Chordata, CLASSE Mammalia, ORDEM Artiodactyla, FAMÍLIA Cervidae, GÊNERO *Mazama* ESPÉCIE *Mazama gouazoubira*. Por sua vez, o levantamento do arcabouço legal do estado sugere a existência de insegurança jurídica no âmbito dos serviços de genética forense aplicáveis aos crimes ambientais cometidos contra a fauna.

Palavras-chave. Campos Gerais. Crimes Ambientais. Legislação Ambiental. Genética Forense. DNA Mitochondrial.

ABSTRACT

The environmental threats derived from the human interventions on ecosystems, such as habitat loss and fragmentation, biological invasions, illegal and abusive hunting, and animal trafficking and smuggling, impairs conservation efforts directed to Brazilian biodiversity. In this context, concerns about fauna protection and illegal trafficking control come together with the emergence of new accessory technologies applied on criminal investigations related to wildlife trade. The methods of genetic evaluation of organisms or animal-derived products stand out as a relevant tool for species differentiation, contributing for the establishment of forensic genetic applied to crimes against wildlife. The goal of the present study was to verify the accuracy of molecular identification of terrestrial vertebrate species based on COI gene (Cox-1) sequencing, as well as to realize a survey of the legal framework of the Parana state turned to the use of forensic genetic techniques on investigations of environmental crimes against the fauna. For this purpose, two samples of muscular tissue were blindly obtained from the CETAS Ponta Grossa and submitted to DNA extraction according to the adapted phenol-chloroform method, followed by Cox-1 gene amplification using PCR, sequencing, and identification. The confirmation of the consensus identity from the sequences obtained was held by the comparison with sequences from open data banks (BOLD System and NCBI). Legal regulations of Parana state were assessed using the *Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná*. For the two samples, the molecular identification confirmed (99,99%) that the muscular tissue belong to the PHYLUM Chordata, CLASS Mammalia, ORDER Artiodactyla, FAMILY Cervidae, GENUS *Mazama* SPECIE *Mazama gouazoubira*. In turn, the survey of the state legal framework suggests the existence of a legal uncertainty in respect to the forensic genetic services application on crimes against fauna.

Keywords: Campos Gerais. Environmental Crimes. Environmental Law. Forensic Genetic. Mitochondrial DNA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Área de abrangência da região dos Campos Gerais do estado do Paraná.....	12
Figura 2 - Representação geográfica das Unidades de Conservação pertencentes à Região dos Campos Gerais (incluindo as RPPNs).....	22
Figura 3 - Procedimentos de processamento e percentual de certeza de identificação da amostra (veado-catingueiro, <i>Mazama gouazoubira</i> (Fischer, 1814)	44
Figura 4 - Percentual de certeza de identificação da amostra 1 em relação a diferentes níveis taxonômicos utilizando dados disponíveis no site BOLD Identification.....	45
Figura 5 - Descrição de similaridade da amostra 1 com dados disponíveis no site BOLD Identification, indicativos da identificação da espécie <i>Mazama gouazoubira</i>	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Unidades de Conservação inseridas na região dos Campos Gerais do Paraná (excetuando-se as RPPNs).....	21
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 CARACTERIZAÇÃO BIOGEOGRÁFICA DOS CAMPOS GERAIS.....	11
1.1.1 Localização da região dos Campos Gerais.....	11
1.1.2 A cobertura vegetal dos Campos Gerais.....	13
1.1.3 Caracterização da fauna regional.....	14
1.1.4 Áreas protegidas dos Campos Gerais.....	19
1.1.5 Processo de ocupação e degradação dos Campos Gerais: impactos sobre a fauna local.....	22
1.2 CRIMES AMBIENTAIS E O DIREITO BRASILEIRO.....	28
1.3 CAÇA ILEGAL E TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES.....	30
1.4 GENÉTICA FORENSE APLICADA À RESOLUÇÃO DE CRIMES AMBIENTAIS.....	31
2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	35
2.1 JUSTIFICATIVA.....	35
2.2 OBJETIVOS.....	35
2.2.1 Objetivo geral.....	35
2.2.2 Objetivos específicos.....	35
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA DE FAUNA SILVESTRE.....	37
3.2 PROCESSAMENTO E ANÁLISES MOLECULARES.....	37
3.3 INVENTÁRIO DE NORMATIVAS JURÍDICAS.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 GENÉTICA FORENSE: UMA FERRAMENTA PARA A CONSERVAÇÃO DA FAUNA DOS CAMPOS GERAIS DO PARANÁ.....	39
4.1.1 Introdução.....	40
4.1.2 Materiais e Métodos.....	41
4.1.2.1 Obtenção de amostra da fauna silvestre.....	41
4.1.2.2 Processamento e análise genética.....	42
4.1.2.3 Inventário de normativas jurídicas.....	42
4.1.3 Resultados e Discussão.....	43
4.1.3.1 Investigação forense.....	43
4.1.3.2 Genética forense e normativas ambientais do Paraná.....	46
4.1.4 Conclusão.....	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

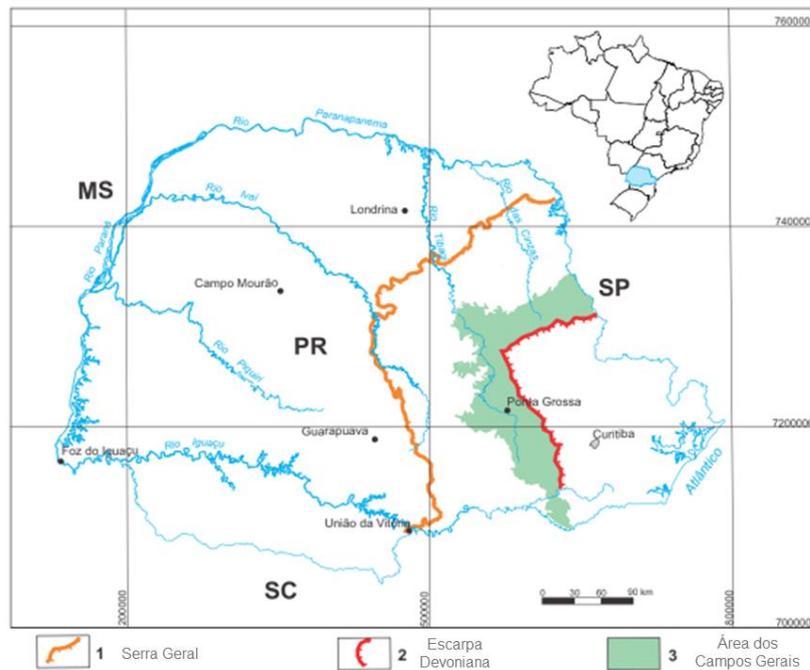
1.1 CARACTERIZAÇÃO BIOGEOGRÁFICA DOS CAMPOS GERAIS

1.1.1 Localização da região dos Campos Gerais

De acordo com Melo, Moro e Guimarães (2014) e Pontes et. al (2018), a região dos Campos Gerais estende-se pela porção centro-leste do estado do Paraná sobre o Segundo Planalto do estado, delineando a face reversa da Escarpa Devoniana. Ao total, os Campos Gerais ocupam uma área de 11.761,41 km² do território estadual situada entre as coordenadas 23°45' e 26°15' de latitude sul e 49°15' e 50°45' de longitude oeste, percorrendo um total de 22 municípios paranaenses no sentido norte-sul do estado, sendo eles: Rio Negro, Campo do Tenente, Lapa, Porto Amazonas, Balsa Nova, Palmeira, Campo Largo, Ponta Grossa, Teixeira Soares, Imbituva, Ipiranga, Tibagi, Carambeí, Castro, Imbaú, Telêmaco Borba, Ventania, Piraí do Sul, Jaguariaíva, Sengés, Arapoti e São José da Boa Vista (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014; PONTES *et al.*, 2018).

Embora a delimitação da região sofra modificações e adaptações correlatas aos processos locais de dinâmica territorial, esta foi originalmente concebida por Maack (1948) com base em seus limites fitogeográficos, isto é, pela cobertura vegetal naturalmente encontrada na área. Em distintos momentos da história, outras delimitações foram estabelecidas com base em critérios de natureza econômica, política, histórica e geográfica, tais como as delimitações estabelecidas por consórcios intermunicipais e órgãos de defesa ambiental. Entretanto, o presente trabalho considera as demarcações estabelecidas por Melo, Moro e Guimarães (2014), cuja construção se baseou na atualização das delimitações apresentadas no Mapa Fitogeográfico do Estado do Paraná de Maack (1950), por meio da incorporação de áreas e correções de posicionamento geográfico, compondo uma definição territorial que incorpora aspectos fitogeográficos e geomorfológicos da região (vide Figura 1).

Figura 1 - Área de abrangência da região dos Campos Gerais do estado do Paraná.



Fonte: Adaptado de MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. Os Campos Gerais do Paraná. *In*: MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Orgs.). **Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 17-22.

1.2.2 Geologia dos Campos Gerais.

A constituição geológica atual dos Campos Gerais é caracterizada pela presença de rochas constituídas em distintas fases do processo de formação da Bacia do Paraná. Trata-se de uma região formada no interior de uma área tectônica estável e cujo processo de formação está intimamente associado ao surgimento e evolução do Arco de Ponta Grossa, caracterizando-se pela presença de fraturas, falhas e diques que se orientam no sentido noroeste-sudeste. Segundo Pontes *et al.* (2018), a região abriga uma geodiversidade significativa que inclui canyons, escarpas, cachoeiras, afloramentos rochosos, cavidades subterrâneas e abundantes seções-tipo que, por sua vez, escondem diversos sítios arqueológicos. Além disso, as características da paisagem rochosa da região (presença de furnas, lagoas, depressões, sumidouros) são indicativas de processos químicos de dissolução mineral provocados pelo fluxo de águas. Neste sentido, as rochas compõem um cenário complexo de aquíferos que se espalham por toda a área (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014).

Diversos grupos de rochas compõem a estrutura geológica dos Campos Gerais, incluindo as rochas mais antigas da região, pertencentes ao Grupo Rio Ivaí, além de rochas do Grupo Paraná, Grupo Itararé (amplamente difundidas na área), Grupo Guatá e Grupo São Bento. Além disso, ocorrem ainda sedimentos da Era Cenozóica ao longo dos principais rios, bem como soleiras e diques pertencentes à Formação Serra Geral e intrusões ígneas verificadas

no Terceiro Planalto do estado, constituídas principalmente de diabásio e presentes em áreas menos significativas de municípios localizados ao norte dos Campos Gerais (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014).

Segundo Melo, Moro e Guimarães (2014), a história geológica da região contribuiu para a formação de uma barreira natural que separa o Primeiro e o Segundo Planalto do estado do Paraná, a Escarpa Devoniana, que deve seu nome ao seu período de formação. Pontes *et al.* (2018) destacam que a escarpa exerce um papel importante de barreira geomorfológica à região, contribuindo para o predomínio de solos rasos, arenosos e com baixa fertilidade, que constituem a base para a formação de paisagens campestres.

1.1.2 A cobertura vegetal dos Campos Gerais

De acordo com Meneguzzo e Albuquerque (2009) e Pontes *et al.* (2018), a vegetação dos Campos Gerais é caracterizada pelo predomínio de paisagens campestres marcadas por vegetação de cerrado que se intercala com matas de araucária remanescentes e zonas de mata ciliar que margeiam cursos d'água e capões. Melo, Moro e Guimarães (2014) e Behling (1997) apontam que os campos limpos da região são formados por vegetação remanescente de períodos secos da história geológica da Terra, marcadamente o Quaternário (correspondente aos últimos 1,8 milhões de anos), que mantiveram as suas características de solo marcado pela baixa aptidão agrícola em função de sua reduzida profundidade e composição arenosa. Mais uma vez, destaca-se o papel da barreira natural formada pela Escarpa Devoniana na manutenção do isolamento da região, contribuindo, de maneira significativa, para o padrão de formação vegetal na área dos Campos Gerais.

Neste contexto, Behling (1997) oferece uma reconstrução da história climática e de formação vegetal nas terras dos Campos Gerais, destacando os processos de formação dos campos e expansão progressiva dos conjuntos florestais que hoje formam os pequenos fragmentos de mata remanescentes. Assim, a região se encontra em franco processo de transformação da paisagem, que acontece em função da gradual elevação da temperatura e umidade ocorrida após a última glaciação do período Quaternário da história da Terra. Neste sentido, as formações florestais passam a ocupar gradativamente o espaço dos campos (BEHLING, 1997; MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014).

No que diz respeito à biodiversidade local, diversos estudos têm demonstrado a riqueza natural encontrada nos Campos Gerais (CERVI *et al.*, 2007; NANUNCIO; MORO, 2008;

DALAZOANA, 2010; RITTER *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2011; MIODUSKI; MORO 2011; CARMO *et al.*, 2012; CARMO; ASSIS, 2012; MORO *et al.*, 2012), incluindo áreas sob plena pressão antrópica (ANDRADE *et al.*, 2017).

1.1.3 Caracterização da fauna regional

A combinação dos domínios de mata, campos e cerrados na região dos Campos Gerais define ecossistemas ímpares inseridos no território paranaense. Assim, a área abriga uma rica biodiversidade cuja composição ainda se encontra em processo de exploração científica (MENEGUZZO; ALBUQUERQUE, 2009).

De acordo com Bianconi, Silva e Roque (2020), a ictiofauna dos Campos Gerais abrange espécies raras, ameaçadas e pouco conhecidas pela ciência, havendo necessidade de plano de manejo e estudos na área. Nos 21 mil hectares do Parque Nacional da região dos Campos Gerais, a ictiofauna é diversificada e pertence a duas importantes bacias hidrográficas: a bacia do rio Ribeira e do rio Tibagi. De acordo com levantamento realizado pelos autores, cerca de 50 espécies de peixes podem ser observadas na região, tal como o lambari, do gênero *Psalidodon*, e o barrigudinho (*Cnesterodon hypselurus*). Paraná (2009) sinaliza o registro de 110 espécies de peixes na Bacia Hidrográfica do rio Tibagi, com predominância de indivíduos pertencentes aos táxons Characiformes e Siluriformes. Além disso, descreve espécies ameaçadas de extinção, tal como a pirapitinga (*Brycon nattereri*), piraputanga (*Brycon orbignyanus*), dourado (*Salminus brasiliensis*), cascudo-preto (*Rhinelepis áspera*), surubim (*Steindachneridion scripta*) e bagre-sapo (*Pseudopimelodus mangurus*).

Informações relativas aos anuros da região dos Campos Gerais foram levantadas por Crivellari *et al.* (2014), que registraram 61 espécies de anuros em diferentes pontos do território paranaense, incluindo a área de cobertura dos Campos Gerais (Parque Estadual de Vila Velha, Parque Estadual Guartelá, Parque Nacional dos Campos Gerais). O levantamento demonstrou predomínio (48%) de indivíduos da família Hylidae, seguidos por representantes da família Leptodactylidae. Particularmente, foram identificadas na região dos Campos Gerais espécies de ambas as famílias, com 24 representantes da família Hylidae, como *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872), *Hypsiboas bischoffi* (Boulenger, 1887), *Aplastodiscus albosignatus* (A. Lutz & B. Lutz, 1938), *Scinax fuscovarius* (A. Lutz, 1925) e *Scinax perereca* Pombal Jr., Haddad & Kasahara, 1995, e 10 representantes da família Leptodactylidae, incluindo *Leptodactylus* cf. *latrans*, *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 e *P. aff. gracilis*. Tais dados corroboram com

levantamento realizado por Batista e Bastos (2014) nos municípios de Sengés, Jaguariaíva, Piraí do Sul, Tibagi, Carambeí e Ponta Grossa, em 66 pontos localizados juntos a corpos d'água, cujos resultados indicam predominância de espécies da família Hylidae (24 espécies) e Leptodactylidae (13 espécies). Segundo os autores, tais espécies encontradas representam 44% da riqueza do estado do Paraná e 6% do Brasil. Dados mais recentes relativos ao Estado do Paraná indicam a incidência de 137 espécies de anuros, sendo a maioria das espécies (42,3%) representadas pela família Hylidae. Para a região de Ponta Grossa, o estudo aponta o registro das espécies *Melanophryniscus vilavelhensis* e *Gastrotheca microdiscus* (SANTOS-PEREIRA; POMBAL JÚNIOR; ROCHA, 2018).

Moro, Melo e Guimarães (2014) relatam que o maior número dos dados referentes aos estudos dos répteis é resultado de acervos de universidades e museus situados na região, bem como de dados decorrentes dos planos de manejo de unidades de conservação e relatos descritivos das comunidades da região. Em estudo feito por Souza Filho e Oliveira (2015), foram registradas 34 espécies de répteis na região da Hidrelétrica de Mauá, localizada na porção média do rio Tibagi. Cerca de 70,6% dos registros foram de espécies de serpentes distribuídas em diversas famílias, sendo as famílias Colubridae (15), Viperidae (3) e Dipsadidae (2) as mais encontradas. Os registros foram predominantemente feitos em regiões de Floresta Atlântica Semidecidual e Mata de Araucárias, indicando um padrão florestal de ocorrência. Dados semelhantes foram relatados por Oliveira (2012), que realizou levantamento de dados da região da APA Escarpa Devoniana, indicando a presença de 62 espécies de répteis, sendo 48 (77%) delas espécies de serpentes. Além dessas, o autor ainda relata a presença de outras nove espécies de lagartos, duas de anfisbenas e três de cágados, com ênfase à espécie *Hydromedusa tectifera*, amplamente distribuída no território paranaense.

No que diz respeito à região do Parque Estadual de Vila Velha, segundo Oliveira (2012) os dados sobre herpetofauna são baseados no Plano de Manejo da unidade, expedido no ano de 2004. Segundo o autor, há uma estimativa de 60 espécies de répteis para o local, sendo muitas delas espécies de serpentes raras e ameaçadas de extinção, como *Epicrates cenchria*, *Ditaxodon taeniatus*, *Chironius flavolineatus*, *Liophis almadensis*, *Lygophis flavifrenatus*, *Lygophis meridionalis* e *Phalotris reticulatus*. Ainda, Bérnils e Mora-Leite (2010) citam o primeiro registro de *Phimophis* cf. *guerini* no estado do Paraná, representada por um exemplar capturado no século passado e permanecendo como o único da espécie para a região.

Com relação a avifauna dos Campos Gerais, cerca de 427 aves foram registradas em sua área, equivalente a 58% das espécies conhecidas no Estado do Paraná (DO VALE *et al.*, 2021). Segundo Uejima e Bornschein (2014), a Floresta Ombrófila Mista abriga a maior parte das aves

da região. Não obstante, os Campos Gerais também sofrem influência de espécies da Floresta Estacional Semidecidual, como a arara-vermelha-grande (*Ara chloroptera*) e o pica-pau-de-topete-vermelho (*Campephilus melanoleucus*), bem como da Floresta Ombrófila Densa, como o saíra-da-mata (*Hemithraupis ruficapilla*), o sanhaço-de-encontro-azul (*Thraupis cyanoptera*) e outras. Pereira *et al.* (2014) relataram um registro de *Tinamus solitarius* na área de cobertura do Parque Nacional dos Campos Gerais, no município de Ponta Grossa, Paraná, uma espécie raramente visualizada fora da planície litorânea do estado. Na região do Parque Estadual do Guartelá, resultados apresentados por Scherer-Neto (2020) indicaram a presença de 311 espécies de aves na área, distribuídas em 59 famílias e 21 ordens. Em Ponta Grossa, especificamente no Parque Estadual de Vila Velha, o autor relata a identificação de 228 espécies, corroborando com dados apresentados por Oliveira (2012), cujas campanhas de avaliação ecológica rápida no parque renderam o registro de um total de 217 espécies. Adicionalmente, este autor ainda apresenta informações acerca da diversidade de aves encontrada na APA da Escarpa Devoniana, obtidas a partir do plano de manejo da unidade, que resume um total de 337 espécies, incluindo aves endêmicas da floresta de araucárias, como o garimpeirinho (*Leptasthenura setaria*), bem como espécies tipicamente florestais dependentes de tais ambientes. Ainda, segundo Do Vale *et al.* (2021), os Campos Gerais abrigam espécies que são endêmicas do Brasil e encontram-se em risco de extinção, incluindo o macuquinho-da-várzea (*Scytalopus iraiensis*), saíra-sapucaia (*Tangara peruviana*), patativa-tropeira (*Sporophila beltoni*), caboclinho-de-barriga-preta (*Sporophila melanogaster*) e o papagaio-do-peito-roxo (*Amazona vinacea*). Scherer-Neto (2020) apresenta uma lista das aves mais emblemáticas da região, destacando a curicaca (*Theristicus caudatus*), a codorna (*Nothura maculosa*), o perdiz (*Rynchotus rufescens*), o chopim-do-brejo ou do banhado (*Pseudoleistes guirahuro*), a noivinha-do-campo (*Xolmis cinerea*), a maria-preta-bolacha (*Knipolegus lophotes*), os canários (*Sicalis* spp.), os caminheiros (*Anthus* sp.), a gralha (*Cyanocorax caeruleus* e *C. chrysops*), o tauató-pintado (*Micrastur semitorquatus*), bem como as aves de rapina, tais como o carcará (*Caracara plancus*) e a águia-cinzenta (*Urubitinga coronata*). A gralha-azul (*Cyanocorax caeruleus*) é a ave símbolo do estado do Paraná e também compõe a avifauna regional, sendo protegida pela Lei Estadual nº. 7.957 de novembro de 1984 (DO VALE *et al.*, 2021).

Os levantamentos da mastofauna da região dos Campos Gerais foram realizados em áreas restritas e ainda conservadas do território. Ainda, segundo Pereira, Bazilio e Orsi (2018), a área apresenta poucos estudos de biodiversidade, sobretudo de mamíferos de médio e grande porte. Nesse quesito, dados apresentados por Braga (2014) indicam a presença de 98 espécies

de mamíferos terrestres na região, divididas em dez ordens e 24 famílias, totalizando cerca de 54% dos registros de espécies no estado do Paraná. As espécies registradas reúnem marsupiais como, por exemplo, o gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*); xenartros, representados pelo tamanduá bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetadactyla*) e primatas, como o bugio-ruivo (*Alouatta guariba*) e o maior primata das américas, o mono-carvoeiro (*Brachyteles arachnoides*), cuja distribuição se limita ao entorno dos Campos Gerais, na Floresta Ombrófila Densa que está associada à Floresta Ombrófila Mista.

Ainda segundo os autores, a ordem Carnívora registrou 16 espécies, incluindo a onça-pintada (*Panthera onca*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), puma (*Puma concolor*), lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*). Particularmente, o cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*) foi registrado uma única vez após atropelamento na estrada do Cerne (rodovia PR-090), no município de Castro (BRAGA, 2014). Informações complementares sobre a região foram relatadas por Pereira, Bazilio e Orsi (2018) em levantamento realizado nos limites do Parque Nacional dos Campos Gerais, localizado no Estado do Paraná. Segundo dados do estudo, foram registradas 31 espécies de mamíferos de médio e grande porte, com predomínio da ordem Carnívora (12 espécies), seguida pelas ordens Rodentia e Cetartiodactyla (5 espécies cada), Cingulata, Didelphimorphia, Pilosa, Primates e Lagomorpha (2 espécies cada). Dentre os carnívoros, destacam-se as espécies de felinos representadas por *Leopardus pardalis*, *L. gutullus*, *L. wiedii*, *Puma concolor* e *P. yagouaroundi*, bem como as espécies de canídeos *Cerdocyon thous* e *Chrysocyon brachyurus*. Salienta-se o registro de *C. brachyurus*, obtido por meio da observação de pegadas e relatos da comunidade próxima ao parque. Tais resultados complementam as informações obtidas por Bender, Pereira e Bazilio (2018) em levantamento realizado na Reserva Biológica das Araucárias, que abrange o território dos municípios de Imbituva, Ipiranga e Teixeira Soares, os quais encontram-se nos limites fitogeográficos estabelecidos para os Campos Gerais (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014). Segundo o estudo, foram identificadas 30 espécies de mamíferos, sendo uma delas de pequeno porte (*Guerlinguetus brasiliensis* Thomas, 1901). Novamente, a ordem Carnívora predominou, seguida pelas ordens Cetartiodactyla, Cingulata, Rodentia, Lagomorpha e Pilosa. Investigações sobre a população carnívora da região dos Campos Gerais foram também executadas por Bastiani *et al.* (2015), particularmente na região da Floresta Nacional de Pirai do Sul. Os resultados indicaram a presença de cinco espécies da família Felidae, representadas por *L. pardalis*, *L. tigrinus*, *L. wiedii*, *P. concolor* e *P. yagouaroundi*. Na mesma localidade, Grazzini *et al.* (2015) realizaram levantamento da fauna de pequenos mamíferos, capturando

um total de 801 indivíduos distribuídos em 16 espécies de pequenos mamíferos não voadores, com evidente predomínio das espécies *Akodon montensis*, *Oligoryzomys nigripes* e *Thaptomys nigrita*. Na região norte da área de cobertura dos Campos Gerais, em dois fragmentos florestais de Floresta Ombrófila Mista inseridos no interior de área particular localizada no município de Sengés, Pereira, Bazilio e Yoshioka (2018a) registraram a circulação de 25 espécies de mamíferos de médio e grande porte, incluindo oito espécies ameaçadas de extinção no estado: *Myrmecophaga tridactyla*, *Alouatta guariba clamitans*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus guttulus*, *Leopardus wiedii*, *Puma concolor*, *Sylvilagus brasiliensis* e *Cuniculus paca*. Na mesma região geográfica, especificamente em três fragmentos florestais localizados nos municípios de Arapoti, Jaguariaíva e Piraí do Sul, os mesmos autores registram um total de 30 espécies de mamíferos de médio e grande porte, com predomínio de espécies da ordem Carnívora, Cetartiodactyla, Rodentia e Cingulata. Salienta-se o registro fotográfico e visual de *C. brachyurus* nos três fragmentos avaliados (PEREIRA; BAZILIO; YOSHIOKA, 2018b).

Dentre tais informações, destaca-se a presença de espécies de cervídeos nas diferentes regiões avaliadas, incluindo *Ozotoceros bezoarticus*, *Mazama gouazoubira*, *M. americana* e *M. nana*, conforme descrito por Braga (2014). Na região de Sengés, região norte dos Campos Gerais, foi detectada a presença de *M. gouazoubira* em dois fragmentos florestais próximos (PEREIRA; BAZILIO; YOSHIOKA, 2018a). Ainda na região norte, Pereira, Bazilio e Yoshioka (2018b) registram a presença de *Mazama gouazoubira* e *M. americana* em três fragmentos florestais analisados. Adicionalmente, dados de Pereira, Bazilio e Orsi (2018) confirmam a presença de *M. gouazoubira*, *M. americana* e *M. nana* na região de abrangência do Parque Nacional dos Campos Gerais. Recentemente, Bender, Pereira e Bazilio (2018) observaram as mesmas espécies na região da Reserva Biológica das Araucárias. Pereira e Bazilio (2014), por sua vez, registraram a ocorrência de *M. americana* e *M. gouazoubira* na área de cobertura da Floresta Nacional de Irati que, embora não esteja dentro dos limites estabelecidos para a região dos Campos Gerais, configura uma área adjacente à esta, sendo contínua à Reserva Biológica das Araucárias, incluída nos limites dos Campos Gerais (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2014; BENDER; PEREIRA; BAZILIO, 2018).

Por fim, outros trabalhos ainda exploram as populações de morcegos (ZANON; REIS, 2007; ZANON; REIS, 2014), insetos (LEIVAS; GROSSI; ALMEIDA, 2013; FACHIN; SANTOS; AMORIM, 2020) e anelídeos (DEMETRIO *et al.*, 2018) na região. Em relação à população de quirópteros, registros históricos indicam que a região dos Campos Gerais abriga 30 espécies de morcegos, com predomínio da família Phyllostomidae. Em particular, o levantamento conduzido por Zanon e Reis (2007) em fragmentos florestais localizados no

município de Ponta Grossa e Tibagi demonstra a circulação de 8 espécies de quirópteros nas regiões avaliadas, com predomínio de indivíduos das espécies *Artibeus lituratus* e *Sturnira lilium* (Phyllostomidae).

1.1.4 Áreas protegidas dos Campos Gerais

A preocupação humana, acompanhada pela necessidade de preservação dos ecossistemas, se materializou nos processos legais de proteção ambiental, que incluíram a delimitação de áreas protegidas do patrimônio natural mundial. Neste sentido, concebidas sob a forma de Unidades de Conservação, a instituição legal de tais áreas surgiu com propósitos diversos, incluindo a proteção de paisagens consideradas de singular beleza cênica, bem como de características naturais relacionadas com a composição geológica, geomorfológica, espeleológica, arqueológica, paleontológica, hídrica e edáfica das áreas protegidas. Não obstante, as Unidades de Conservação se estabeleceram como importantes nichos de pesquisa científica e educação ambiental (MENEGUZZO; ALBUQUERQUE, 2009; MOREIRA; ROCHA, 2014).

Historicamente, as áreas de proteção no Estado do Paraná e, por extensão, na região dos Campos Gerais, foram estabelecidas por meio de políticas ambientais governamentais voltadas ao controle do uso do solo e da água, seguindo os mesmos padrões nacionais legais. Neste sentido, fatores de natureza econômica balizaram as políticas ambientais, objetivando-se a regulação das atividades poluidoras industriais e agrícolas (MENEGUZZO; ALBUQUERQUE, 2009). Por fim, seguindo o modelo norte-americano de conservação da biodiversidade nacional, as políticas basearam-se no estabelecimento de áreas protegidas (MOREIRA; ROCHA, 2014), definidas por Meneguzzo e Albuquerque (2009) nas seguintes palavras:

“Também é fácil notar que essas unidades de conservação foram pensadas fundamentalmente para proteger áreas remanescentes de biomas de florestas ou áreas de patrimônio natural para fins de ecoturismo, e apenas secundariamente para proteção das áreas de ecossistemas de campo que formam o domínio predominante da região dos Campos Gerais.” (MENEGUZZO; ALBUQUERQUE, 2009, p. 55)

O Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC), instituído pela Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000 (BRASIL, 2000), classifica as UCs em dois grupos distintos: as de Proteção Integral e as de Uso Sustentável. Sucintamente, o primeiro grupo define as áreas de proteção cujo uso deve ser indireto e, portanto, baseado nos benefícios que a área pode trazer

para a região enquanto integralmente protegida. As categorias de manejo que compõem este grupo são: Parque Nacional (PARNA), Reserva Biológica (REBIO), Estação Ecológica (EE), Monumento Natural (MN) e Refúgio da Vida Silvestre (RVS). O segundo grupo, por sua vez, categoriza as áreas de uso direto e que, sendo assim, podem ser utilizadas de forma direta para exploração e aproveitamento econômico, desde que tal processo ocorra de forma planejada e legalizada. As seguintes categorias encontram-se inseridas neste grupo: Área de Proteção Ambiental (APA), Floresta Nacional (FLONA), Reserva Extrativista (RESEX), Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE), Reserva de Fauna (RF), Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) e as Reservas Particulares do Patrimônio Natural (RPPN). É indispensável que toda UC possua um plano de manejo, no qual devem constar todas as informações técnicas relevantes para o estabelecimento e manutenção da área (BRASIL, 2000; MOREIRA; ROCHA, 2014).

No contexto brasileiro, as áreas protegidas perfazem um total de 8.516.037 km² do território nacional, distribuídas em todas as regiões do país (BRASIL, 2021). No estado do Paraná, por sua vez, as Unidades de Conservação cobrem atualmente uma área total de 11.857,96 km², sendo 93,2% (11.051,6 km²) desta área destinada às UCs de Uso Sustentável, notavelmente as APAs da Escarpa Devoniana, Serra da Esperança, Guaraqueçaba e Guaratuba, e a ARIE do Marumbi, e 6,8% para UCs de Proteção Integral. Na região dos Campos Gerais, em particular, aproximadamente 28% da área encontra-se inserida em Unidades de Conservação, das quais somente 0,36% são de Proteção Integral (VASCONCELLOS; ROCHA, 2011).

Neste cenário, a atual composição das UCs inseridas na região dos Campos Gerais, se consideradas apenas aquelas estabelecidas pelo âmbito federal e estadual, é constituída por 9 UCs que, em conjunto, cobrem uma área de 4.343 km² do território paranaense. Seis delas são classificadas como UCs de Proteção Integral (Parques Estaduais de Vila Velha, Guartelá, do Cerrado e do Monge, o Parque Nacional dos Campos Gerais e a Reserva Biológica das Araucárias) que representam apenas 9,5% das áreas protegidas da região, e outras 3 são de Uso Sustentável (APA da Escarpa Devoniana, Floresta Estadual do Passa Dois e a FLONA de Pirai do Sul) que correspondem a quase totalidade das áreas protegidas. Curiosamente, apenas a APA da Escarpa Devoniana, que engloba os Parques Estaduais de Vila Velha, do Cerrado, do Monge e do Guartelá, representa mais de 90% da área total protegida nos Campos Gerais (IAP, 2004; MOREIRA; ROCHA, 2014). Adicionalmente, Moreira e Rocha (2014) afirmam que a região dos Campos Gerais ainda apresenta 24 RPPNs legalmente estabelecidas. Entretanto, considerando os municípios cobertos pela região dos Campos Gerais, estabelecidos por Melo,

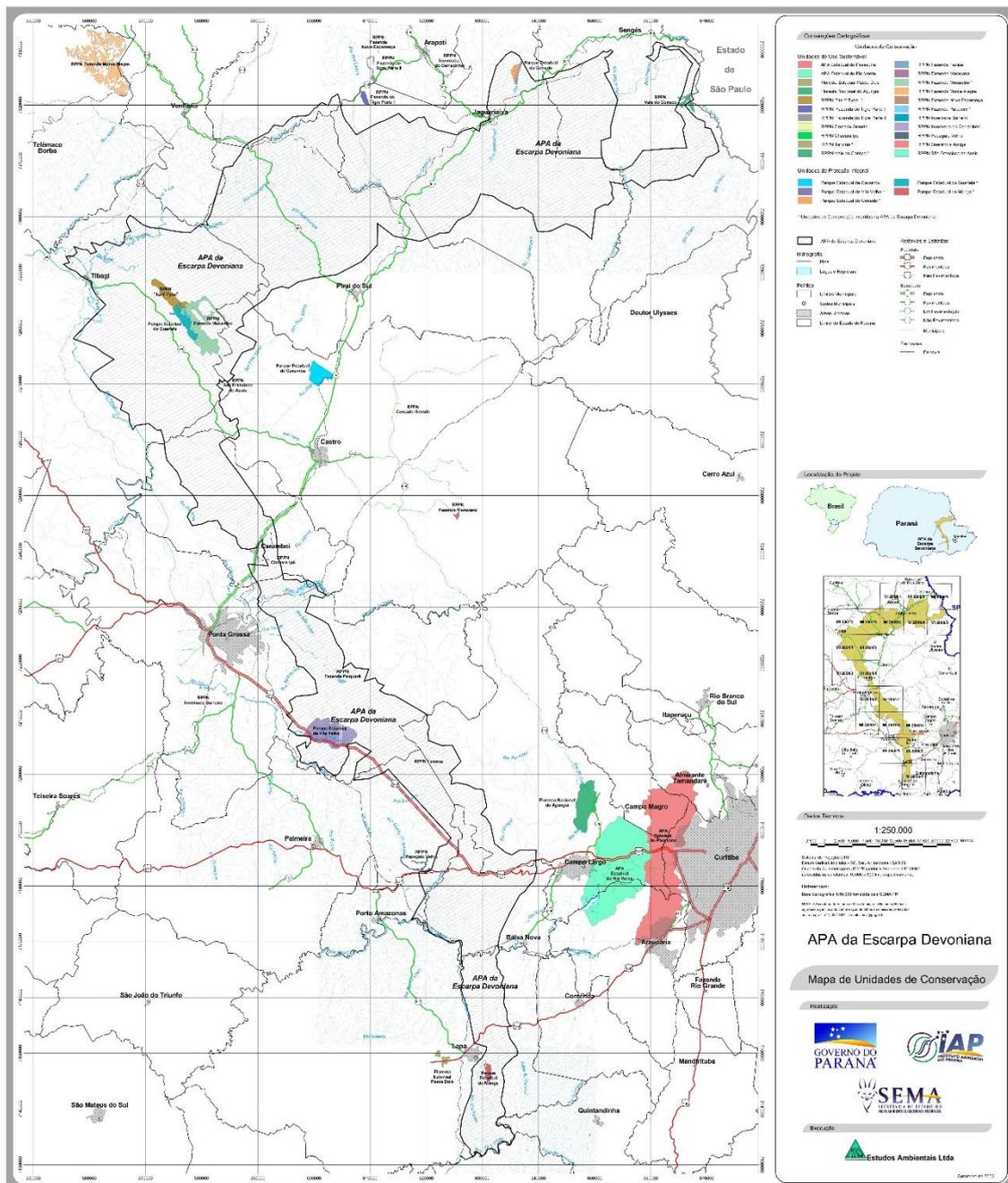
Moro e Guimarães (2014), bem como dados extraídos do Painel de Unidades de Conservação Brasileiras (MMA, 2021), a região dos Campos Gerais possui 7 RPPNs que cobrem um total de 86,2 km². A Tabela 1 resume as principais Unidades de Conservação atualmente inseridas dentro da região dos Campos Gerais, excetuando-se as RPPNs anteriormente citadas. A Figura 2, por sua vez, ilustra a distribuição de todas as Unidades de Conservação anteriormente citadas.

Tabela 1 - Unidades de Conservação inseridas na região dos Campos Gerais do Paraná (excetuando-se as RPPNs)

Grupo de manejo	Categoria e administração	Unidades de Conservação	Área de cobertura (ha)	Localização
Proteção Integral	Parque Estadual	Vila Velha	3.803	Ponta Grossa
		Guartelá	790	Tibagi
		Cerrado	420	Jaguariaíva
		Gruta do Monge	298	Lapa
	Parque Nacional	Campos Gerais	21.288	Ponta Grossa, Castro e Carambeí
	Reserva Biológica (Nacional)	Araucárias	14.920	Teixeira Soares, Imbituva e Ipiranga
Uso Sustentável	Floresta Nacional	Piraí do Sul	276	Piraí do Sul
	Floresta Estadual	Passa Dois	171	Lapa
	Área de Proteção Ambiental	Escarpa Devoniana	392.336	Diversos

Fonte: Adaptado de MOREIRA, J. C., ROCHA, C. H. Unidades de conservação nos Campos Gerais. *In*: MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Orgs.). **Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 201-212.

Figura 2 - Representação geográfica das Unidades de Conservação pertencentes à Região dos Campos Gerais (incluindo as RPPNs).



Fonte: IAP (2004).

1.1.5 Processo de ocupação e degradação dos Campos Gerais: impactos sobre a fauna local

O povoamento e a aplicação de técnicas de uso da terra na região dos Campos Gerais remontam ao período inicial do Holoceno, com populações ameríndias que habitaram a região muito antes da chegada dos primeiros colonizadores europeus, conforme evidências oferecidas

em extensa revisão apresentada por Behling (1997). Outras evidências da presença desses povos na região se baseiam na observação de pinturas rupestres e achados arqueológicos que se espalham pelas regiões escarpadas, cachoeiras, vales e *canyons*. Entretanto, o processo de ocupação e degradação dos ambientes da região dos Campos Gerais deve ser primordialmente entendido sob a ótica dos ciclos econômicos do estado do Paraná, desde o início do processo de povoação em massa da região, em meados do século XVIII (ROCHA; NETO, 2014).

A partir do século XVI, o processo de ocupação começou a se intensificar com as primeiras expedições portuguesas e espanholas em busca de metais, escravos e rotas de cruzamento no sentido leste-oeste do Novo Mundo. Neste quesito, destaca-se o Caminho do Peabiru, uma rota utilizada pelos indígenas e, posteriormente, também pelos colonizadores europeus para cruzar o continente, que cortava os Campos Gerais e conduzia seus caminhantes até os países do oeste da América do Sul. Neste contexto, já a partir do início do século XVII, o território do estado do Paraná era ocupado por assentamentos jesuíticos instalados desde a margem leste do Rio Paraná até o Rio Tibagi, os quais se mantiveram ali por pouco tempo em função de conflitos com espanhóis e bandeirantes. Pouco tempo depois, a descoberta de ouro no Primeiro Planalto do estado propulsionou a instalação de povoados e a aplicação de técnicas de uso do solo para produção agrícola. Em seguida, a transferência das atenções para áreas do território mineiro e mato-grossense transformaram a dinâmica social e econômica da região sul do país, que passou a operar como uma área voltada à exploração econômica das atividades ligadas ao comércio, transporte e criação de animais para abastecimento das regiões mineradoras, inaugurando o período do tropeirismo na região e constituindo os fatores primordiais de ocupação dos Campos Gerais. A partir de então, a instalação de latifúndios por meio de sesmarias concedidas a figuras influentes determinou a intensificação do ciclo de ocupação e degradação das terras dos Campos Gerais. De fato, a região passou a representar uma área de ligação entre os campos produtores da região sul e as áreas de exploração mineral do país. Dessa maneira, por ali passavam animais de criação, viajantes, equipamentos e colonizadores, gerando um contexto paisagístico marcado progressivamente pelas grandes áreas de pastagens, pelas queimadas, conflitos entre colonizadores e indígenas, bem como pelas benfeitorias das fazendas e, marcadamente, o trabalho escravo representado pelo negro e indígena. Assim, em meio às mudanças no padrão socioeconômico regional, as primeiras vilas começaram a surgir, dando origem às atuais cidades da região (ROCHA; NETO, 2014).

Transformações no cenário econômico e político ocorreram na região em períodos posteriores, particularmente a partir do final da fase áurea da mineração, decorrendo em mudanças nos objetos produtivos das fazendas e no comércio local, impelidos pelo

desenvolvimento da cafeicultura no estado de São Paulo. Já no século XIX, a expansão das estradas de ferro na região, aliada à intensificação do uso do solo e seu consequente empobrecimento, determinaram um golpe à economia de invernada no estado. Neste sentido, uma profunda mudança na organização social do estado começou a operar com a ascensão dos chamados “ervateiros” e, posteriormente, com a indústria madeireira e os descendentes da onda de imigrantes que chegava ao país desde o século anterior, que determinaram uma intensa exploração das regiões de mata da região (ROCHA; NETO, 2014).

Já no início do século XIX, outras regiões do estado encontravam-se em pleno processo de ocupação e uso da terra, com lavouras de grãos instalando-se na região oeste do estado e as lavouras de café impulsionando a expansão da exploração da terra na região norte do estado. Paralelamente, a baixa fertilidade do solo determinou o prolongamento do ciclo agropecuário extensivo na região dos Campos Gerais, que permaneceu neste estado até meados de 1960. Somente em anos posteriores, com transformações no mercado internacional de soja e a aplicação intensa de capital no desenvolvimento e aplicação de técnicas do uso do solo, a região sofreria uma mudança paisagística com os campos nativos e pastagens cedendo lugar às extensas lavouras de plantio de soja, a então principal fonte de proteína para alimentação animal no comércio global. Apenas em áreas com alto declive e solos mais rasos e arenosos, restritas à região da Escarpa Devoniana, alguns campos puderam ser preservados (ROCHA; NETO, 2014; BIANCONI; SILVA; ROQUE, 2020).

O resultado desse processo longo e intenso de uso dos recursos naturais da região dos Campos Gerais, guiado pela implantação de políticas de incentivo produtivo direcionadas pelo mercado, pela competição e pelo lucro, produziu uma paisagem com intensa fragmentação e profundamente devastada (ROCHA; NETO, 2014), relegando aos distintos ecossistemas da região dos Campos Gerais o título de mais ameaçados do país (PEREIRA; BAZILIO; ORSI, 2018). Atualmente, é possível visualizar apenas pequenos fragmentos do que restou da Floresta Ombrófila Mista na região (MENEGUZZO; ALBUQUERQUE, 2009; ROCHA; NETO, 2014). Segundo Bianconi, Silva e Roque (2020), o que restou é representado pelos escassos remanescentes de campos nativos restritos a algumas Unidades de Conservação de administração pública ou particular. Entretanto, mesmo em áreas protegidas, o uso intensivo e incorreto do solo se expande e corrói a estrutura ambiental nativa de diferentes regiões dos Campos Gerais. Um caso exemplar é o da APA Escarpa Devoniana, cuja área nativa sofreu uma redução de 100 mil hectares nos últimos 25 anos, segundo dados apresentados por Rosa, Rocha e Ribeiro (2017). Complementarmente, de acordo com mapeamento citado por Pontes *et al.* (2018), as áreas nativas da APA se resumem a 20% de seu território. Por tais motivos,

Pereira, Bazílio e Orsi (2018) classificam os ecossistemas da região dos Campos Gerais como uma das áreas mais ameaçadas do país.

Neste contexto de estabelecimento e expansão das lavouras, pastagens e centros urbanos ao longo de todo o território dos Campos Gerais, os impactos sobre a biodiversidade local foram devastadores (BIANCONI; SILVA; ROQUE, 2020). Dessa maneira, no que diz respeito à fauna local, são inúmeros os fatores que a afetam. A drástica modificação dos habitats naturais, com a descaracterização das regiões de campo e a implantação de monoculturas de espécies exóticas silvícolas, geraram um processo de fragmentação intensa das áreas nativas preservadas, restringindo os territórios de circulação das espécies locais e gerando processos danosos relacionados à endogamia e redução populacional (UEJIMA; BORNSCHEIN, 2014). Não menos relevante é a pressão da caça ilegal, que representa um importante fator impactante para espécies de grande porte e aquelas com reduzido potencial reprodutivo. No mesmo sentido, é possível citar o tráfico ilegal de animais e derivados, bem como a introdução de espécies exóticas e domésticas (BRAGA, 2014). Como exemplo desse processo de redução de biodiversidade local, um recente estudo apresentado por Pereira *et al.* (2021) revela uma agudização do processo de defaunação na região da APA Escarpa Devoniana, localizada na região dos Campos Gerais (MORO; MELO; GUIMARÃES, 2014), utilizando dados comparativos que remontam à Era Pré-Colombiana, cerca de 500 anos atrás. Ainda segundo dados do estudo, os principais fatores ligados com este processo são a silvicultura e a agricultura, já que maiores taxas de defaunação foram observadas em locais altamente modificados por forças antrópicas.

Com relação à mastofauna do Paraná, Bender, Pereira e Bazilio (2018) apontam que, das 180 espécies registradas, cerca de 31% encontram-se sob ameaça de extinção no estado. O Decreto Estadual nº 7.264, de 01 de junho de 2010 (PARANÁ, 2010) estabelece e atualiza a lista de espécies de mamíferos ameaçados no estado, reportando um total de 182 espécies, das quais 8 encontram-se classificadas como Criticamente em Perigo, 7 Em Perigo e 28 como Vulneráveis. Particularmente, no que diz respeito à fauna de cervídeos, o decreto inclui 6 espécies, sendo elas: *M. nana*, *M. bororo*, *M. americana*, *M. gouazoubira*, *O. bezoarticus* e *Blastocerus dichotomus*. Destas, as três primeiras encontram-se Vulneráveis, enquanto *O. bezoarticus* e *Blastocerus dichotomus* se classificam como Criticamente em Perigo e *M. gouazoubira* como em Menor Risco. Braga (2014) destaca que populações numerosas de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) ocupavam a região do Segundo Planalto do estado do Paraná, restringindo-se atualmente a escassos e pequenos fragmentos de mata nativa suficientes para o sustento da espécie. González e Duarte (2020) destacam que as principais

ameaças a populações de cervídeos na região da América Latina são representadas pela perda de habitats, transmissão de doenças por animais exóticos e domésticos, bem como a caça. De fato, é comum a observação de espécies exóticas e domésticas em levantamentos de fauna realizados em diferentes áreas da região dos Campos Gerais, tais como *Lepus europaeus*, *Sus scrofa* e *Canis lupus familiaris* (PEREIRA; BAZILIO; ORSI, 2018; BENDER; PEREIRA; BAZILIO, 2018; PEREIRA; BAZILIO; YOSHIOKA, 2018a; PEREIRA; BAZILIO; YOSHIOKA, 2018b).

O contexto das demais espécies pode ser entendido a partir de informações obtidas em levantamentos mastofaunísticos realizados em diferentes áreas da região dos Campos Gerais. Em levantamento conduzido nos limites do Parque Nacional dos Campos Gerais, Pereira, Bazilio e Orsi (2018) indicam que, das 31 espécies identificadas, 11 encontram-se classificadas como ameaçadas em nível estadual, 8 em nível nacional e 6 em nível internacional. Na região norte dos Campos Gerais, Pereira, Bazilio e Yoshioka (2018a) indicam que oito das 24 espécies registradas em fragmentos de mata na região do município de Sengés encontram-se ameaçadas no estado, incluindo *Myrmecophaga tridactyla*, *Alouatta guariba clamitans*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus guttulus*, *Leopardus wiedii*, *Puma concolor*, *Sylvilagus brasiliensis* e *Cuniculus paca*. Em região próxima ao município de Sengés, em fragmentos florestais localizados nos municípios de Arapoti, Piraí do Sul e Jaguariaíva, os mesmos autores observaram a presença de 30 espécies de mamíferos de médio e pequeno porte, sendo metade delas classificadas dentro de alguma categoria de ameaça (PEREIRA; BAZILIO; YOSHIOKA, 2018b). Neste mesmo contexto, outras espécies nativas, como o *P. tajacu*, são afetadas pela introdução de espécies exóticas, especialmente o javali (*S. scrofa*), bem como pela caça ilegal (BENDER; PEREIRA; BAZILIO, 2018). *Chrysocyon brachyurus*, por sua vez, embora presente na região dos Campos Gerais, é uma espécie classificada como Vulnerável a nível estadual e nacional, sendo uma espécie de difícil visualização (PEREIRA; BAZILIO; ORSI, 2018). Pereira *et al.* (2021) indicam que os processos de defaunação tem afetado especialmente as populações de vertebrados de grande porte com baixo potencial reprodutivo e fases de vida prolongadas nas regiões de Mata Atlântica, representando um sério risco à manutenção do bioma como um todo.

Por fim, no que diz respeito à quiropterofauna regional, Zanon e Reis (2014) destacam que 13 espécies encontram-se sob-risco de extinção no estado, incluindo *Diaemus youngi*, *Chiroderma dorie*, *Chrotopterus auritus*, *Diphylla caudata*, *Eumops hansae*, *Mimon bennettii*, *Tonatia bidens*, *Chiroderma villosum*, *Micronycteris sylvestris*, *Myotis ruber*, *Roghessa tumida*, *Sturnira tildae* e *Uroderma bilobatum*. Destas, 6 já foram registradas na região dos

Campos Gerais, considerando os dados apresentados pelos autores. Complementarmente, uma comparação entre a quiropterofauna presente na região dos Campos Gerais (ZANON; REIS, 2014) e a lista de espécies ameaçadas de extinção no estado do Paraná (PARANÁ, 2010) permite inferir que 28 das 30 espécies de morcegos registradas na região encontram-se inseridas em tal lista, representando cerca de 93,3% das espécies de quirópteros que circulam pela região. Neste sentido, considerando os importantes papéis ecológicos desempenhados pela quiropterofauna dos Campos Gerais, destaca-se a relevância do estudo e conservação das espécies existentes (ZANON; REIS, 2014).

No que tange à avifauna regional, o Decreto Estadual nº. 11.797, de 22 de novembro de 2018 (PARANÁ, 2018) atualiza a lista de espécies pertencentes a avifauna do Paraná que encontram-se sob risco de extinção no estado. Ao total, são 209 espécies inseridas na lista. Destas, 118 (56,5%) encontram-se classificadas em algum grau de ameaça (Criticamente em Perigo, Em Risco de Extinção ou Vulnerável), 35 (16,7%) estão com o status de Espécies Quase-ameaçadas e 56 (26,8%) com status desconhecido. Segundo Do Vale *et al.* (2021), cerca de 58% das espécies de aves do estado podem ser observadas nos Campos Gerais do Paraná. Destas, 15 espécies da região encontram-se sob risco de extinção, a saber: Pato-mergulhão (*Mergus octosetaceus*), Jacutinga (*Aburria jacutinga*), Socó-boi-escuro (*Tigrisoma fasciatum*), Uiraçu (*Morphnus guianensis*), Gavião-real (*Harpia harpyja*), Paparu-espelho (*Claravis geoffroyi*), Papagaio-do-peito-roxo (*Amazona vinacea*), Macuquinho-da-várzea (*Scytalopus iraiensis*), *Alectrurus tricolor*, Galito (*Xolmis dominicanus*), Saíra-supucaia (*Tangara peruviana*), Patativa-tropeira (*Sporophila beltoni*), Caboclinho-da-barriga-vermelha (*Sporophila hypoxantha*), Caboclinho-da-barriga-preta (*Sporophila melanogaster*) e Tico-tico-da-mascara-negra (*Coryphospiza melanotis*). Segundo Uejima e Bornschein (2014), três espécies da avifauna local foram consideradas regionalmente extintas: o inhambu-carapé ou codorninha (*Taoniscus nanus*), a ema (*Rhea americana*) e a arara-vermelha-grande (*Ara chloroptera*). Destaca-se o registro fotográfico de *Tinamus solitarius* (macuco) realizado por Pereira *et al.* (2014) no Parque Nacional dos Campos Gerais, localizado no município de Ponta Grossa. A espécie enfrenta sérias pressões antrópicas relacionadas à perda e fragmentação de habitats e caça ilegal, encontrando-se em perigo de extinção em nível estadual (PARANÁ, 2010; PEREIRA *et al.*, 2014). Por fim, Uejima e Bornschein (2014) destacam que muitas espécies da fauna dos Campos Gerais do Paraná encontram-se sob sério risco de extinção a nível regional, embora ainda não estejam incluídas na lista estadual de espécies da avifauna ameaçada de extinção.

Neste panorama, o futuro da região dos Campos Gerais apresenta grandes desafios no que concerne à conservação das paisagens e da biodiversidade local. A perda de habitat, fragmentação espacial e superexploração dos solos são eventos vividos globalmente e que se reproduzem na região, representando uma barreira aos fluxos gênicos e gerando processos de intercruzamento de indivíduos da mesma espécie que, por sua vez, culminam com o surgimento de indivíduos consanguíneos suscetíveis a inúmeros problemas, contribuindo significativamente para o progressivo declínio da biodiversidade em todos os níveis (UEJIMA; BORNSCHEIN, 2014; PEREIRA *et al.*, 2021).

1.2 CRIMES AMBIENTAIS E O DIREITO BRASILEIRO

As ameaças ao meio ambiente derivadas das crescentes intervenções humanas caracterizadas pela fragmentação de habitats, invasões biológicas, caça ilegal e abusiva, tráfico e contrabando de animais, entre outras, prejudicam as atividades de conservação e manutenção da biodiversidade brasileira (OGDEN; LINACRE, 2015). Desde a implantação da lei nº 5197 de 3 de janeiro de 1967, a fauna de espécies silvestres no Brasil recebe atenção especial no que diz respeito à sua proteção. De acordo com essa lei, é proibida a caça, captura, comercialização e posse de particulares de espécies silvestres sem a devida autorização, sendo que todos os animais da fauna silvestre nacional e seus produtos são considerados de propriedade do Estado.

A Constituição Federal Brasileira de 1988 (BRASIL, 1988) qualifica o meio ambiente como bem de uso comum do povo e essencial à boa qualidade de vida (SANTOS, 2010). O mesmo texto reservou à temática algumas formas de reparação ao dano ambiental, constituindo três tipos de responsabilidade: civil, penal e administrativa, sendo cada uma delas independente e autônoma com relação às demais. Ainda, o artigo 225, § 1º, da Constituição Federal de 1988, tutela a fauna proibindo qualquer ato que coloque em risco seu papel ecológico, provoque a extinção de espécies ou pratique crueldade aos animais. De maneira complementar a este artigo, foi decretada a Lei nº 9.605, de fevereiro de 1998, conhecida como Lei dos Crimes Ambientais, que estabelece sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente. Assim, em 1998, com a publicação desta Lei, a legislação ambiental brasileira passou a contar com mais um instrumento para a preservação ambiental através da responsabilização e aplicação de sanções, penais ou administrativas, aos responsáveis pelos recém-implementados crimes ambientais (MATTEI, 2006).

A Lei dos Crimes Ambientais, na Seção primeira, “Crimes Contra a Fauna”, em seu artigo 29 esclarece que

“...matar, perseguir, caçar, apanhar, utilizar espécimes da fauna silvestre, nativos ou em rota migratória, sem a devida permissão, licença ou autorização da autoridade competente, ou em desacordo com a obtida é considerado crime e tem como pena detenção de seis meses a um ano, além de multa.”

No artigo 32, na mesma Seção, é estabelecido que “praticar ato de abuso, maus tratos, ferir ou mutilar animais silvestres, domésticos ou domesticados, nativos ou exóticos, tendo como pena detenção de três meses a um ano e multa”.

No que tange ao tráfico e contrabando, considerando os artigos 29, 30 e 31 da mesma Lei, bem como o artigo 334 do Código Penal, entende-se por tráfico a frequente entrada e saída de algo, a partir do comércio ilegal de mercadorias, pessoas e animais. Em contrapartida, o contrabando refere-se à entrada de mercadorias proibidas pelas leis de determinado país (REIS *et al.*, 2016). Segundo relatório da Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres (RENCTAS) (2001), as principais vias de tráfico de animais silvestres no país compreendem um fluxo com origem nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, com destino localizado nas regiões Sudeste, Sul e Nordeste, sendo utilizados meios terrestres e fluviais para execução da prática. Neste contexto, são destacadas as características do tráfico de animais silvestres no Brasil, as quais possuem relação com as espécies traficadas e ao destino dado a elas. Genericamente, o comércio ilegal é classificado em quatro modalidades: (1) Animais para colecionadores particulares e zoológicos; (2) Animais para fins científicos (Biopirataria); (3) Animais para pet shop; (4) Produtos de Fauna. Em estudo onde foi realizado levantamento de dados quantitativos relacionados à caça ilegal e comercialização de carnes de animais silvestres, observou-se uma evidente importância de espécies de mamíferos no que diz respeito à distribuição percentual de animais envolvidos neste processo, atingindo cerca de 64% do total de espécies identificadas (CHAGAS *et al.*, 2015).

Graves consequências são geradas a partir da exploração desgovernada de espécies nativas resultando na extinção das mesmas do seu meio natural e, dessa maneira, desequilibrando o meio ambiente e ameaçando a conservação da natureza (ALACS *et al.*, 2010; MUNRO; MUNRO, 2013). Com o crescente número de espécies listadas em extinção, a demanda do tráfico acaba sendo ainda maior, visto que a procura por espécies raras e com alto valor agregado são mais comuns (IYENGAR, 2014).

Visto que a prática de degradação ambiental é crime, com base na Lei nº 9.605/98 (Lei dos Crimes Ambientais), os órgãos de fiscalização, tais como o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), foram criados a fim de realizarem a implementação de normativas técnicas e jurídicas, bem como executar operações de fiscalização (GALETTI *et al.* 2017). A Portaria IBAMA nº 93, de 7 de julho de 1998, que trata da importação e exportação de produtos, subprodutos e espécimes vivos da fauna nativa e exótica, constitui um exemplo dos mecanismos de atuação de tais órgãos no contexto do tráfico de animais.

Dentro do aspecto jurídico, as investigações científicas colaboram com a atuação dentro das investigações criminais no que tange aos próprios crimes ambientais. A prova no direito é considerada “meio retórico, regulado pela legislação, destinado a convencer o Estado da validade de proposições controversas no processo, dentro de parâmetros fixados pelo direito e de critérios racionais” (MARINONI; MITIDIERO, 2011). Assim, dentro do processo administrativo ambiental, a produção da prova é de suma importância para a pretensão de punição e da tentativa pedagógica do Estado para com o agente infrator, visto que, sem ela, o crime ambiental cometido restará impune.

1.3 CAÇA ILEGAL E TRÁFICO DE ANIMAIS SILVESTRES

Inúmeros relatos destacam que o volume de extração ilegal de animais silvestres de seus ambientes naturais constitui um processo insustentável e, invariavelmente, capaz de levar à extinção de diversas populações locais, representando um dos maiores desafios para a conservação de vertebrados de grande porte (GALETTI *et al.*, 2009). No Brasil, a caça ilegal é um dos crimes ambientais mais frequentes, seguida pelo comércio ilegal que também ameaça a fauna silvestre do território brasileiro. No entanto, apesar dos esforços de conservação, criação e soltura de animais silvestres que já são feitos pelo IBAMA por meio de legislação específica, o país é responsável por 10-15% do valor mundial referente ao tráfico ilegal envolvendo espécies silvestres (SANCHES *et al.*, 2012; GONÇALVES, 2018).

Neste contexto, de acordo com Charity e Ferreira (2020), estimativas acerca do volume de animais silvestres traficados no país são dificultosas em função da natureza ilegal da atividade, bem como pelo alto grau de dispersão dos dados de apreensões realizadas pelos órgãos de fiscalização federais e estaduais. Ainda, as autoras salientam que o comércio ilegal da fauna permanece crescente no país devido essencialmente a fatores organizacionais,

financeiros e jurídicos relacionados aos serviços de fiscalização e penalização de infratores. Atualmente, a demanda por espécimes vivos ou por produtos derivados da fauna silvestre de origem legal ou ilegal provenientes do ambiente silvestre ou de criadouros, caracteriza-se por uma ampla gama de setores, incluindo zoológicos e aquários, mercado pet, indústria de beleza, produtos ornamentais, setor de alimentação, medicina tradicional, religiões tradicionais e indústria madeireira (SINOVAS *et al.*, 2017).

Dados do IBAMA indicam que mais de 72.000 animais da fauna silvestre foram recebidos por diferentes Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) administrados pelo órgão no território nacional no ano de 2018 (CHARITY; FERREIRA, 2020). Em levantamento de dados, realizado por Destro *et al.* (2012), voltado a apreensões de animais vivos revelou que o ano de 2008 registrou um total de 60.000 animais da fauna silvestre recebidos nos CETAS, a maioria proveniente de apreensões realizadas por forças policiais. O estudo ainda destaca que um percentual de 81% dos animais recebidos pelos CETAS entre os anos de 2002 e 2009 foi representado por pássaros, predominantemente passeriformes. Neste quesito, em estudo realizado por Alves, Lima e Araujo (2013), foi possível verificar que, pelo menos, 295 espécies de pássaros foram ilegalmente comercializadas no mercado pet. Ainda, os autores estimam que cerca de 400 espécies são atualmente impactadas pelo comércio ilegal, correspondendo a cerca de 20% da avifauna nacional.

Por fim, verifica-se que a maioria das apreensões são realizadas dos consumidores finais que mantêm a criação ilegal de animais da fauna silvestre. Adicionalmente, é relevante destacar que o atual número de animais apreendidos é provavelmente maior, uma vez que muitos são devolvidos ao ambiente natural antes de serem encaminhados aos CETAS. Além disso, as estimativas não consideram os produtos derivados da fauna silvestre, tais como carne e pele, bem como espécimes mortos. Assim, alguns autores estimam que as apreensões realizadas pelos órgãos oficiais correspondem a apenas 0.45% de todos os animais que são inseridos no mercado ilegal (CHARITY; FERREIRA, 2020).

1.4 GENÉTICA FORENSE APLICADA À RESOLUÇÃO DE CRIMES AMBIENTAIS

A crescente preocupação com a proteção da fauna e combate ao tráfico ilegal de animais silvestres se desenvolve paralelamente ao surgimento de novas tecnologias acessórias para resolução de investigações criminais relacionadas ao comércio de animais silvestres (LINACRE; TOBE, 2011; GARRIDO; RODRIGUES, 2017). No que concerne a processos

legais contra crimes ambientais, segundo a legislação brasileira, a identificação do animal acometido em nível de espécie é necessária (BRASIL, 1998). Entretanto, este é um processo no qual pode não ser viável a classificação apenas por meio da observação de características externas do indivíduo, especialmente em ocasiões envolvendo a apreensão de carnes, peles, ovos e outros materiais biológicos (CARVALHO, 2013). Neste contexto, mecanismos moleculares de identificação genética de espécies contribuem de maneira significativa na investigação do comércio ilegal de espécies selvagens protegidas ou ameaçadas de extinção, exercendo papel importante nos processos legais. No Brasil, tais processos colaboram de maneira significativa na resolução de crimes ambientais (LINACRE; TOBE, 2011; DO CARMO *et al.*, 2017; GARRIDO; RODRIGUES, 2017).

Dentre tais ferramentas, os métodos de avaliação genética de organismos ou produtos derivados destacam-se como os principais meios para diferenciação entre espécies (LINACRE; TOBE, 2011; CARVALHO, 2013; DO CARMO *et al.*, 2017). Os métodos de análise de DNA aplicados na investigação de crimes ambientais possuem bases teórico-práticas daqueles empregados para identificação de seres humanos. Entretanto, considerando a identificação de animais, os métodos possuem como finalidade realizar estudos de classificação taxonômica e filogenética (ARDURA *et al.*, 2010; LINACRE; TOBE, 2011; MITRA; ROY; HAQUE, 2018). A identificação de espécies por meio da ciência forense abrange a análise de *loci* gênicos derivados de estudos taxonômicos e filogenéticos e que são fundamentalmente encontrados no genoma mitocondrial (mtDNA). Tal avaliação permite padronização nos testes de especiação e comparação entre diferentes laboratórios (THOMSON; WANG; JOHNSON, 2010; LINACRE; TOBE, 2011; DO CARMO, 2017). Por razões variadas, *loci* mitocondriais são as regiões gênicas avaliadas por métodos moleculares para identificação de espécies. A explicação mais plausível para isso se baseia no fato de que o material genético mitocondrial sofre baixas variações ao longo do processo de transferência de material genético entre os indivíduos, sendo traduzido em uma baixa taxa de recombinação durante os processos celulares de formação de gametas, fazendo com que todo descendente da linhagem de animais portadores de mtDNA específico herde da mãe a mesma sequência nucleotídica mitocondrial (MITRA; ROY; HAQUE, 2018).

A avaliação dos níveis de variação de determinadas regiões do mtDNA entre indivíduos permite a mensuração do grau de divergência ou convergência filogenética existente entre eles. A variação de tais sequências gênicas entre membros de uma mesma espécie exibe pequena amplitude, permitindo correlação filogenética importante entre indivíduos de dada população

natural. Por outro lado, quando considerados organismos filogeneticamente distantes, tais sequências demonstram variações consideráveis a ponto de permitirem uma distinção de espécie entre os mesmos. O *locus* gênico do citocromo b (Cit b), encontrado no mtDNA humano, é o principal *locus* usado em estudos forenses de identificação taxonômica (HSIEH *et al.*, 2003, 2006; TOBE; LINACRE, 2008; LINACRE; TOBE, 2011; SANCHES, 2012; DO CARMO, 2017). Além desse, após sua inclusão em bancos genéticos, o citocromo c oxidase I (COI) passou a ser amplamente utilizado. Trata-se de um *locus* também encontrado no genoma humano e que, apesar de ter sido primariamente aplicado para identificação de espécies de insetos, logo passou a ser empregado na identificação de diversas outras espécies animais (LINACRE; TOBE, 2011).

Embora sejam utilizados *loci* de diferentes naturezas, a análise de amostras de material genético é realizada por amplificação de regiões específicas do DNA, destacando-se as regiões do gene COI e Cit b, empregando-se a técnica de *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Em seguida, é realizado o sequenciamento da amostra e, finalmente, a comparação desta com bancos de dados genéticos disponíveis no meio eletrônico (ARDURA *et al.*, 2010; LINACRE; TOBE, 2011).

Neste cenário, a importância dos procedimentos de identificação de espécies apoia-se no fato de que muitas espécies encontram-se listadas e protegidas internacional e nacionalmente (LINACRE; TOBE, 2011). Assim, a investigação forense tem colaborado de maneira extensiva na resolução de crimes ambientais e, em última análise, na proteção à fauna silvestre (ARDURA *et al.*, 2010; CHAGAS *et al.*, 2015; DO CARMO *et al.*, 2017; SANCHES *et al.*, 2012). Ardura *et al.* (2010) desenvolveram marcadores genéticos para identificação de determinadas espécies de peixes pertencentes ao rio Amazonas utilizando técnicas de extração de DNA e amplificação de regiões específicas do mtDNA, incluindo o gene COI, utilizando material proveniente de mercados locais. Ainda neste mesmo estudo, os pesquisadores construíram uma árvore filogenética baseada nas sequências de genes inseridos no mtDNA das diferentes espécies, contribuindo para conservação e manejo das populações de peixes da região.

Do Carmo *et al.* (2017), utilizando amostras provenientes de animais de zoológico e amostras apreendidas, elaboraram estudo objetivando o estabelecimento de regiões do DNA (Cit b ou COI) representativas das diferentes espécies e, secundariamente, a avaliação da efetividade dos métodos empregados para análise genética em amostras degradadas, contribuindo com a inserção do material genético gerado em banco de dados online e, ainda, com a padronização de método para sua extração. Outros estudos com objetivos estabelecidos

na padronização de métodos e regiões específicas do mtDNA para caracterização de espécie podem ser encontrados na literatura (HSIEH *et al.*, 2003, 2006).

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICATIVA

Considerando o contexto jurídico associado ao combate das crescentes intervenções humanas nas populações naturais, essencialmente no que diz respeito à caça e ao comércio ilegal de espécies silvestres protegidas ou ameaçadas de extinção, mecanismos moleculares de identificação genética de fauna podem contribuir de maneira significativa na investigação de crimes ambientais ligados a tais práticas, exercendo papel crucial nos processos legais mediante a produção de provas.

Neste sentido, a execução do presente trabalho justifica-se pela tangente necessidade de medidas protetivas em relação à fauna da região dos Campos Gerais, historicamente afetada por pressões antrópicas de naturezas distintas, incluindo a caça e comércio ilegal de indivíduos ou seus produtos, que vêm contribuindo para a progressiva defaunação da região. Neste aspecto, destaca-se a natureza deste trabalho no que tange à produção de evidências que suplantem os processos legais de combate às práticas ambientais criminosas, contribuindo para resolução de crimes ambientais no âmbito jurídico.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

A presente proposta tem como principal objetivo suportar ações conservacionistas de animais silvestres da região dos Campos Gerais pelo uso de ferramentas da genética molecular aplicada à investigação forense.

2.2.2 Objetivos específicos

- Executar a caracterização genética de amostra mediante o sequenciamento de *loci* gênicos específicos, destacando-se as regiões do gene *COI*.

- Produzir subsídios para solicitação da implantação de técnicas de biologia molecular e biotecnologia para identificação de crimes ambientais relacionados à fauna.
- Realizar o levantamento de normativas jurídicas do estado do Paraná relativas à utilização de ferramentas de genética forense, com ênfase aos marcadores moleculares gene *COI*, para identificação forense de animais silvestres, com foco em vertebrados terrestres.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA DE FAUNA SILVESTRE

Duas amostras de tecido muscular foram selecionadas às cegas junto ao Centro de Triagem e Atendimento a Animais Silvestres dos Campos Gerais (Instituto Klimonte Ambiental) CETAS Ponta Grossa. Em seguida, ambas foram preservadas sob refrigeração (-20°C) em álcool etílico 70%, sendo estes materiais intitulados como amostras 1 e 2, respectivamente. A informação disponibilizada pelo CETAS foi de que estes eram materiais oriundos de espécies do FILO Chordata, CLASSE Mammalia, e foram apreendidas mediante denúncia.

3.2 PROCESSAMENTO E ANÁLISES MOLECULARES

O DNA total da amostra 1 foi obtido por meio do protocolo de fenol-clorofórmio adaptado (SAMBROOK; RUSSEL, 2006). O fragmento do gene mitocondrial *COI* (*Cox-1*) foi amplificado utilizando os iniciadores LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACCTTCAGGTGACCAAAAAATCA-3') (FOLMER *et al.*, 1994). A Reação da Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada com um volume final (50µL) contendo primer (100 ng/µl), MgCl₂ (2 mM), dNTP (1,25 mM), tampão de amplificação (1 X), 1 U/µL Platinum™ *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen™ - Thermo Fisher Scientific), 30-40 ng de DNA total e água ultrapura até completar o volume final (adaptado de DO CARMO *et al.*, 2017). A PCR seguiu o programa: 1 ciclo de desnaturação inicial por 4 minutos a 95°C, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 1 ciclo de anelamento a 53°C por 30 segundos, seguido da etapa de extensão a 72°C por 30 segundos e, finalmente, com mais uma etapa de extensão final dos fragmentos a 72°C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram purificados com *ExoSAP-IT PCR Product* (ThermoFisher Scientific), segundo instruções do fabricante; visualizados em um gel de agarose a 1% e posteriormente sequenciado SANGER em ambas as direções na ACTGene Análises Moleculares (www.actgene.com.br/). O sequenciamento da amostra 2 mostrou-se inviável devido à baixa qualidade do material genético.

Após o sequenciamento, cada eletroferograma foi verificado manualmente. O consenso da sequência foi corrigido usando o programa Mega 10.2.2 (KUMAR *et al.*, 2018) e alinhadas

no algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004). A confirmação da identidade do consenso da sequência obtida foi realizada pelos programas BLAST (ALTSHUL, *et al.*, 1997; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) e BOLD *Identification* (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine). Essas sequências de referência (exceto no NCBI) são consideradas “Padrões de código de barras”, ou seja, seu *status* taxonômico tinha sido previamente confirmado por análises morfológicas e ecológicas de especialistas.

3.3 INVENTÁRIO DE NORMATIVAS JURÍDICAS

Normativas jurídicas relativas ao estado do Paraná foram levantadas utilizando-se o Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná (<https://www.legislacao.pr.gov.br/legislacao/entradaSite.do?action=iniciarProcesso>), onde termos como “Genética Forense”, “Perícia Ambiental”, “Proteção Ambiental”, “Crimes ambientais”, “Tráfico ilegal de animais”, “Comércio ilegal de animais” “Ciência forense” e “Proteção à fauna” foram inseridos a fim de realizar a filtragem de documentos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentam-se em formato de artigo científico.

4.1 GENÉTICA FORENSE: UMA FERRAMENTA PARA A CONSERVAÇÃO DA FAUNA DOS CAMPOS GERAIS DO PARANÁ

RESUMO

As ameaças ao meio ambiente derivadas das crescentes intervenções humanas, caracterizadas pela fragmentação de habitats, invasões biológicas, caça ilegal e abusiva, tráfico e contrabando de animais, entre outras, prejudicam as atividades de conservação e manutenção da biodiversidade brasileira. Neste cenário, a crescente preocupação com a proteção da fauna e combate ao tráfico ilegal de animais silvestres se desenvolve paralelamente ao surgimento de novas tecnologias acessórias para resolução de investigações criminais relacionadas ao comércio de animais silvestres. Dentre tais ferramentas, os métodos de avaliação genética de organismos ou produtos derivados destacam-se como os principais meios para diferenciação entre espécies, delineando o campo da genética forense aplicada a crimes contra a fauna. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é verificar a acurácia da identificação molecular de espécies de vertebrados terrestres com base no sequenciamento do gene COI (Cox-1), bem como realizar levantamento do arcabouço legal do estado do Paraná no que concerne à legislação voltada à utilização de técnicas de genética forense em investigações de crimes contra a fauna. Para tanto, duas amostras de tecido muscular foram coletadas às cegas junto ao CETAS Ponta Grossa e submetidas ao método de extração de DNA mediante protocolo de fenol-clorofórmio adaptado, seguida de amplificação do gene COI (Cox-1) via PCR, sequenciamento e identificação. A confirmação da identidade do consenso das sequências obtidas foi realizada pela comparação com sequências de bancos de dados disponíveis (*BOLD System* e *NCBI*). Normativas jurídicas relativas ao estado do Paraná foram levantadas utilizando-se o Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná. Para ambas as amostras, a identificação molecular confirmou com 100% de certeza que o tecido muscular analisado era do FILO Chordata, CLASSE Mammalia, ORDEM Artiodactyla, FAMÍLIA Cervidae, GÊNERO *Mazama* ESPÉCIE *Mazama gouazoubira*. Por sua vez, o levantamento do arcabouço legal do estado sugere a existência de insegurança jurídica no âmbito dos serviços de genética forense aplicáveis aos crimes ambientais cometidos contra a fauna.

Palavras-chave. Campos Gerais. Crimes Ambientais. Legislação Ambiental. Genética Forense. DNA Mitochondrial.

ABSTRACT

The environmental threats derived from the human interventions on ecosystems, such as habitat loss and fragmentation, biological invasions, illegal and abusive hunting, and animal trafficking and smuggling, impairs conservation efforts directed to Brazilian biodiversity. In this context, concerns about fauna protection and illegal trafficking control come together with the emergence of new accessory technologies applied on criminal investigations related to wildlife trade. The methods of genetic evaluation of organisms or animal-derived products stands out as a relevant tool species differentiation, contributing for the establishment of forensic genetic applied to crimes against wildlife. The goal of the present study was to verify the accuracy of molecular identification of terrestrial vertebrate species based on COI gene (Cox-1) sequencing, as well as to realize a survey of the legal framework of the Parana state turned to the use of forensic genetic techniques on investigations of environmental crimes against the fauna. For this purpose, two samples of muscular tissue were blindly obtained from the CETAS Ponta Grossa and submitted to DNA extraction according to the adapted phenol-chloroform method, followed by Cox-1 gene amplification using PCR, sequencing, and identification. The confirmation of the consensus identity from the sequences obtained was held by the comparison with sequences from open data banks (BOLD System and NCBI). Legal regulations of Parana state were assessed using the *Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná*. For the two samples, the molecular identification confirmed (99,99%) that the muscular tissue belong to the PHYLUM Chordata, CLASS Mammalia, ORDER Artiodactyla, FAMILY Cervidae, GENUS *Mazama* SPECIE *Mazama gouazoubira*. In turn, the survey of the state legal framework suggests the existence of a legal uncertainty in respect to the forensic genetic services application on crimes against fauna.

Keywords. Campos Gerais. Environmental Crimes. Environmental Law. Forensic Genetic. Mitochondrial DNA.

4.1.1 Introdução

A crescente preocupação com a proteção da fauna e combate ao tráfico ilegal de animais silvestres se desenvolve paralelamente ao surgimento de novas tecnologias acessórias para resolução de investigações criminais relacionadas ao comércio de animais silvestres (LINACRE; TOBE, 2011; GARRIDO; RODRIGUES, 2017). Dentro do aspecto jurídico, as investigações científicas colaboram com a atuação dentro das investigações criminais no que tange aos próprios crimes ambientais.

A prova no direito é considerada “meio retórico, regulado pela legislação, destinado a convencer o Estado da validade de proposições controversas no processo, dentro de parâmetros fixados pelo direito e de critérios racionais” (MARINONI; MITIDIERO, 2011). Assim, dentro do processo administrativo ambiental, a produção da prova é de suma importância para a pretensão de punição e da tentativa pedagógica do Estado para com o agente infrator, visto que, sem ela, o crime ambiental cometido restará impune.

Neste cenário, a importância dos procedimentos de identificação de espécies apoia-se no fato de que muitas espécies encontram-se listadas e protegidas internacional e nacionalmente (LINACRE; TOBE, 2011). Assim, a investigação forense tem colaborado de maneira extensiva na resolução de crimes ambientais e, em última análise, na proteção à fauna silvestre (ARDURA *et al.*, 2010; CHAGAS *et al.*, 2015; DO CARMO *et al.*, 2017; SANCHES *et al.*, 2012).

Embora sejam utilizados *loci* de diferentes naturezas, a análise de amostras de material genético é realizada por amplificação de regiões específicas do DNA, destacando-se as regiões do gene COI e Cit b, empregando-se a técnica de *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Em seguida, é realizado o sequenciamento da amostra e, finalmente, a comparação da mesma com bancos de dados genéticos disponíveis no meio eletrônico (ARDURA *et al.*, 2010; LINACRE; TOBE, 2011). O gene citocromo c oxidase I (COI) é um *locus* também encontrado no genoma humano e que, apesar de ter sido primariamente aplicado para identificação de espécies de insetos, logo passou a ser empregado na identificação de diversas outras espécies animais (LINACRE; TOBE, 2011).

Neste contexto, o presente estudo tem o objetivo de executar a caracterização genética de amostra mediante o sequenciamento de *loci* gênicos específicos, destacando-se as regiões do gene *COI*. Paralelamente, objetiva o levantamento de normativas jurídicas do estado do Paraná relativas à utilização de ferramentas de genética forense, com ênfase nos marcadores moleculares gene *COI*, para identificação forense de animais silvestres, com foco em vertebrados terrestres.

4.1.2 Materiais e Métodos

4.1.2.1 Obtenção de amostra da fauna silvestre

Duas amostras de tecido muscular foram selecionadas às cegas junto ao Centro de Triagem e Atendimento a Animais Silvestres dos Campos Gerais (Instituto Klimonte Ambiental) CETAS Ponta Grossa. Em seguida, ambas foram preservadas sob refrigeração (-20°C) em álcool etílico 70%, sendo estes materiais intitulados como amostras 1 e 2, respectivamente. A informação disponibilizada pelo CETAS foi de que estes eram materiais oriundos de espécies do FILO Chordata, CLASSE Mammalia, e foram apreendidas mediante denúncia.

4.1.2.2 Processamento e análise genética

O DNA total da amostra foi obtido por meio do protocolo de fenol-clorofórmio adaptado (SAMBROOK; RUSSEL, 2006). O fragmento do gene mitocondrial *COI* (*Cox-1*) foi amplificado utilizando os iniciadores LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACCTTCAGGTGACCAAAAAATCA-3') (FOLMER *et al.*, 1994). A Reação da Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada com um volume final (50µL) contendo primer (100 ng/µl), MgCl₂ (2 mM), dNTP (1,25 mM), tampão de amplificação (1 X), 1 U/µL Platinum™ *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen™ - Thermo Fisher Scientific), 30-40 ng de DNA total e água ultrapura até completar o volume final (adaptado de DO CARMO *et al.*, 2017). A PCR seguiu o programa: 1 ciclo de desnaturação inicial por 4 minutos a 95°C, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 1 ciclo de anelamento a 53°C por 30 segundos, seguido da etapa de extensão a 72°C por 30 segundos e, finalmente, com mais uma etapa de extensão final dos fragmentos a 72°C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram purificados com *ExoSAP-IT PCR Product* (ThermoFisher Scientific), segundo instruções do fabricante; visualizados em um gel de agarose a 1% e posteriormente sequenciado SANGER em ambas as direções na ACTGene Análises Moleculares (www.actgene.com.br/). O sequenciamento da amostra 2 mostrou-se inviável devido à alta instabilidade do material genético.

Após o sequenciamento, cada eletroferograma foi verificado manualmente. O consenso da sequência foi corrigido usando o programa Mega 10.2.2 (KUMAR *et al.*, 2018) e alinhadas no algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004). A confirmação da identidade do consenso da sequência obtida foi realizada pelos programas BLAST (ALTSHUL, *et al.*, 1997; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) e BOLD *Identification* (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine). Essas sequências de referência (exceto no NCBI) são consideradas “Padrões de código de barras”, ou seja, seu *status* taxonômico tinha sido previamente confirmado por análises morfológicas e ecológicas de especialistas.

4.1.2.3 Inventário de normativas jurídicas

Normativas jurídicas relativas ao Estado do Paraná foram levantadas utilizando-se o Sistema Estadual de Legislação do Estado do Paraná (<https://www.legislacao.pr.gov.br/legislacao/entradaSite.do?action=iniciarProcesso>), onde

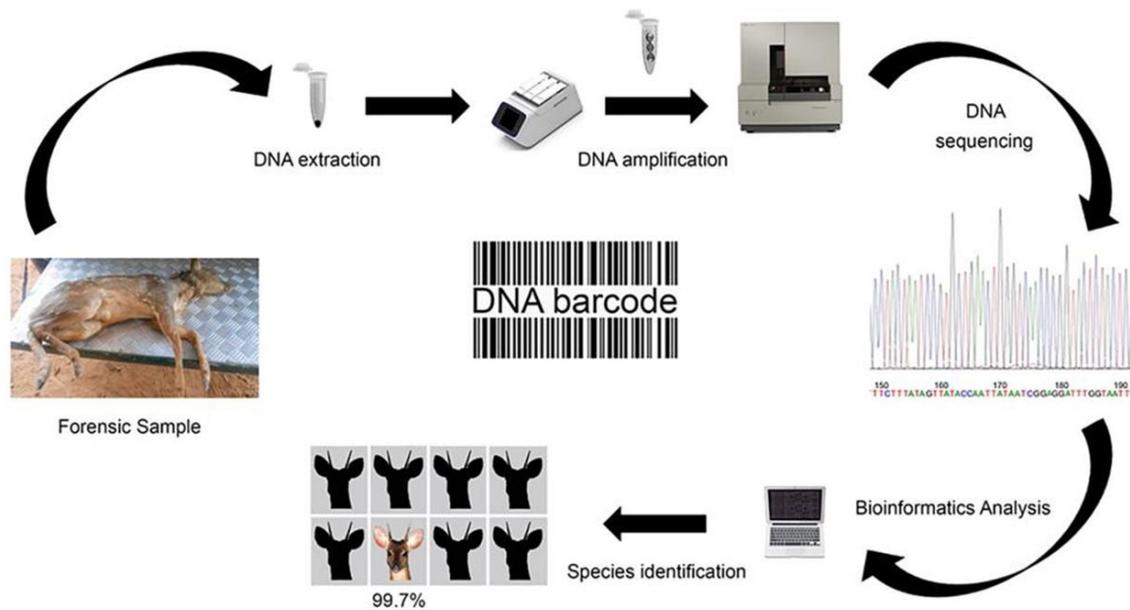
termos como “Genética Forense”, “Perícia Ambiental”, “Proteção Ambiental”, “Crimes ambientais”, “Tráfico ilegal de animais”, “Comércio ilegal de animais” “Ciência forense” e “Proteção à fauna” foram inseridos a fim de realizar a filtragem de documentos.

4.1.3 Resultados e Discussão

4.1.3.1 Investigação forense

Neste trabalho, foi processado o tecido muscular e obtido uma sequência do gene COI (COX-1) de 623 nucleotídeos da amostra 1 (vide Figura 1). A identificação molecular confirmou com 99,9% de certeza que o tecido muscular analisado pertence ao FILO Chordata, CLASSE Mammalia, ORDEM Artiodactyla, FAMÍLIA Cervidae, GÊNERO *Mazama* (vide Figura 2). Quando comparada com sequências disponíveis em banco de dados (números de acesso genbank: JN632658.1; KJ772514.1; números de acesso BOLD System: ABGYB437-06; ABGYC625-06; ABGYG1240-08; GBMA9137-15; GBMNA13691-19; GBMTG2789-16), esta mesma amostra confirmou com mais de 99,9% de certeza que o tecido muscular pertence à espécie *Mazama gouazoubira*, cujo nome popular é veado-catingueiro (Fischer, 1814) (figuras 2 e 3). Paralelamente, considerando o ocorrido com a amostra 2, nota-se a necessidade de estabelecimento de protocolo de coleta e armazenamento de materiais de apreensão, garantindo a integridade do material genético e, em última análise, contribuindo com as investigações forenses.

Figura 3- Procedimentos de processamento e percentual de certeza de identificação da amostra 1 (veadocatingueiro, *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814))



Fonte: O autor.

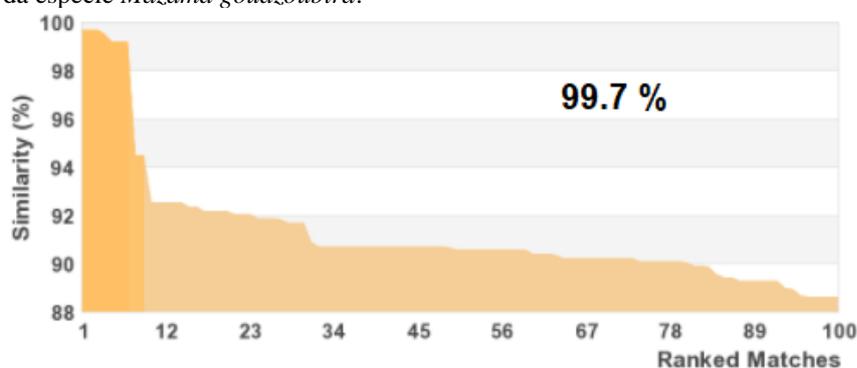
A espécie *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) representa uma das dez espécies de cervídeos pertencentes ao gênero *Mazama*, família Cervidae, apresentando uma ampla dispersão por diferentes regiões da América do Sul, incluindo todos os biomas brasileiros (com exceção do bioma Amazônico), regiões pré-Andinas da Argentina e Bolívia, estendendo-se pelo Uruguai e Paraguai até a porção sudeste do Peru (DUARTE; MERINO 1997; CAPARROZ *et al.*, 2015).

Atualmente, análises genéticas evidenciam que a família apresenta um alto grau de polimorfismos cromossômicos que ocorrem até em nível intraespecífico, incluindo na espécie *M. gouazoubira* (VALERI; TOMAZZELA; DUARTE, 2018), gerando extensos debates acerca da diferenciação entre espécies, especialmente entre *M. gouazoubira* e *M. nemorivaga*. Com base em análises filogenéticas, Duarte, González e Maldonado (2008) e Borges (2017) verificaram que as espécies citadas não compõem um grupo monofilético, sugerindo a criação de dois gêneros distintos para alocação das espécies.

Figura 4 - Percentual de certeza de identificação da amostra 1 em relação a diferentes níveis taxonômicos utilizando dados disponíveis no site BOLD *Identification*.

Taxonomic Level	Taxon Assignment	Probability of Placement (%)
Phylum	Chordata	100
Class	Mammalia	100
Order	Artiodactyla	100
Family	Cervidae	100
Genus	<i>Mazama</i>	100
Species	<i>Mazama gouazoubira</i>	99.7

Figura 5 - Descrição de similaridade da amostra 1 com dados disponíveis no site BOLD *Identification*, indicativos da identificação da espécie *Mazama gouazoubira*.



Recentemente, resultados de um novo estudo conduzido por BERNEGOSSI *et al.* (2022) a partir de análise filogenética dos mitogenomas baseada na árvore de Inferência Bayesiana fortaleceram esta teoria, confirmado a polifilia existente no gênero *Mazama* e sugerindo a alteração da espécie *M. gouazoubira* para *Subulus gouazoubira*. Entretanto, a nomenclatura apresentada no presente trabalho obedece àquela ainda vigente no momento das análises.

Caparroz *et al.* (2015) oferecem dados a cerca do mapeamento completo do DNA mitocondrial (mtDNA) de *M. gouazoubira*. Segundo os autores, o mtDNA da espécie apresenta a forma clássica de genoma de metazoários e soma um total de 16.356 nucleotídeos que se organiza em 13 genes codificadores de proteínas, dois genes codificadores de subunidades de RNA ribossomal (RNAr), 22 genes codificadores de RNAs transportadores e a região de controle. O gene codificador da *COX-I*, especificamente, é constituído por uma sequência de

1.545 nucleotídeos, localizados entre a posição 5.319 e 6.865 da fita. A sequência do gene *COX-I* obtida da amostra possui 623 nucleotídeos e se localiza entre a posição 5.376 e 5.998 da fita do genoma mitocondrial (mtDNA) de *M. gouazoubira*.

Considerando o contexto da análise de materiais provenientes de apreensão, é fundamental salientar a necessidade de estabelecimento de protocolos voltados à extração e identificação correta de amostras, na perspectiva de geração do material constituinte da prova em investigações de crimes ambientais (ALMEIDA; OLIVEIRA; PANNO, 2003; ARENAS *et al.*, 2017). Sendo assim, os resultados obtidos no presente trabalho salientam a relevância das técnicas de mapeamento do gene COI como estratégia de identificação de espécie do gênero *Mazama*, tal como verificado nos trabalhos executados por Downey *et al.* (2007), Yan *et al.* (2013), Carvalho (2014) e Mantellatto, González e Duarte (2020). Por outro lado, as informações aqui apresentadas contrapõem àquelas obtidas por Do Carmo *et al.* (2017), que evidenciaram baixa taxa de sucesso no sequenciamento da região citada.

4.1.3.2 Genética forense e normativas ambientais do Paraná

A proteção à fauna no estado do Paraná se institui mediante legislação estadual e federal. No âmbito estadual, o Decreto Estadual nº 3.148 de 15 de junho de 2004 (PARANÁ, 2004) estabelece a Política Estadual de Proteção à Fauna Nativa do Estado do Paraná, bem como caracteriza o Sistema Estadual de Proteção à Fauna Nativa (SISFAUNA), o Conselho Estadual De Proteção à Fauna (CONFAUNA) e, por fim, ainda implanta a Rede Estadual De Proteção à Fauna Nativa - Rede Pró-fauna. Em seu art. 5º, VI, b, apresenta um dos objetivos da Política, pautado em “fomentar e apoiar projetos de investigação científica e programas de proteção à fauna nativa”. Adicionalmente, o documento ainda define o escopo da fauna protegida pela Lei, que inclui espécies em risco de extinção, endêmicas e migratórias, entre outras. Neste quesito, destaca-se o texto incluído em seu art. 8º, parágrafo único, que define o Instituto Ambiental do Paraná (IAP) como órgão responsável pela “atualização periódica da Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção, bem como a elaboração e a atualização das listas dos alvos preferenciais de proteção, com os respectivos planos de ação”. Em cumprimento ao disposto na Lei, o IAP realizou a publicação do Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Estado do Paraná (IAP, 2007). Atualizações parciais desta lista foram publicadas posteriormente na forma de decretos. Um deles é o Decreto nº 7.264 de 01 de Junho de 2010 (PARANÁ, 2010) que atualiza a lista de mamíferos ameaçados de extinção no estado. Oito anos mais tarde, foi

publicado o Decreto nº. 11.797 de 22 de novembro de 2018 (PARANÁ, 2018) que apresenta a lista de espécies pertencentes à avifauna do Paraná sob risco de extinção no Estado. Neste contexto, é válido destacar a recente publicação de Carta Convite realizada pelo Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2022) a fim de articular a execução de trabalho voltado à atualização da Lista de Espécies de Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção no Estado do Paraná, em ação prevista pelo Plano de Ação Territorial Caminho das Tropas Paraná-São Paulo, apoiado pelo Programa Pró-espécies, coordenado pelo MMA e financiado pelo *Global Environment Facility* (GEF).

Ainda em relação ao aspecto legal da proteção à fauna, vale destacar a recente implantação do Comitê Gestor da Fauna Vitimada, ao qual foi atribuída a função de promover ações, estratégias e instrumentos para apoiar e otimizar as ações de fiscalização, apreensão, destinação e monitoramento de animais silvestres vitimados pelo tráfico, comércio ilegal, cativeiro irregular, captura de espécimes na natureza e de maus-tratos. Adicionalmente, o Estado do Paraná ainda conta com a Lei Estadual nº 14.037 de 20 de março de 2003 (PARANÁ, 2003) que institui o “Código Estadual de Proteção aos Animais”, mecanismo legal voltado ao estabelecimento de normas de proteção aos animais nos limites do Estado. Neste documento, a fauna nativa encontra-se abrangida sob a proteção da Lei, estando protegida de atos de agressão, morte lenta ou dolorosa, venda a menores, manutenção em ambiente insalubre, entre outros. De fato, a Lei se ergue como mecanismo complementar regional ao disposto no art. 225, § 1º da Constituição Federal Brasileira de 1988 (BRASIL, 1988), bem como ao disposto no art. 32 da Lei nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998 (Lei dos Crimes Ambientais) (BRASIL, 1998) que tratam do mesmo tema e estabelecem sanções penais aos atos de infração.

Neste contexto, os processos investigativos exercem papel fundamental na resolução de crimes ambientais, onde a Perícia Ambiental torna-se peça-chave na produção de provas (ALMEIDA; OLIVEIRA; PANNO, 2003). Em matéria ambiental, a produção de provas encontra vários dificultadores, conforme aponta Edis Milaré:

“Força reconhecer, aqui, as dificuldades e muitas vezes insuperáveis com que se defrontam os implementadores da lei ambiental na produção da prova necessária à boa instrução dos processos. Isso se dá por vários motivos, entre eles podemos destacar: dificuldade de interpretação da lei que exige conhecimentos técnicos múltiplos (que vão da química à geologia, passando pela botânica, engenharia florestal e mineração até a biotecnologia e engenharia genética, por exemplo); caráter assimétrico do conjunto normativo, que possui normas esparsas em estatuto próprio e legislação complementar correspondente; precariedade das condições que dispõe a Polícia Judiciária, especificamente para elaboração de laudos técnicos indispensáveis ao completo esclarecimento dos fatos.” (MILARÉ, 2002, p. 171).

O art. 332 do Código de Processo Civil (CPC) refere-se à prova com o significado de meios de prova que são os meios legais, bem como os moralmente legítimos, não repugnando assim o senso ético (WAMBIER, 2002). Ainda que não especificados no CPC, os meios de prova são hábeis para provar a verdade dos fatos, em que se funda a ação ou a defesa, ou seja, ainda nos termos das disposições ofertadas no referido artigo, apenas os fatos relevantes para a solução do litígio devem ser objeto de prova. Os meios de prova, portanto, são os instrumentos utilizados pelas partes e pelo juiz para o estabelecimento dos fatos a serem provados (MASCARENHAS, 2009).

Considerando o papel da genética forense na produção de provas em investigações de crimes cometidos contra a fauna, estabelecer mecanismos legais voltados à implantação e aplicação de tal ferramenta se torna fundamental. Atualmente, a análise do arcabouço legal estadual não oferece o vislumbre de normativas jurídicas diretamente aplicáveis à utilização das ferramentas de genética forense na resolução de crimes ambientais. Trata-se, portanto, de uma lacuna jurídica a ser preenchida pelo avanço científico e tecnológico e por atos legislativos orientados à implementação de legislação específica aplicável.

4.1.4 Conclusão

O presente trabalho demonstra a acurácia do método de identificação forense de indivíduos da espécie *Mazama gouazoubira* baseado no sequenciamento do gene *COI (Cox-1)* mitocondrial, oferecendo suporte e expansão do arcabouço científico correlato aos processos judiciais ligados a crimes cometidos contra a fauna. Ainda, destaca a escassez de normativas jurídicas estaduais que sejam diretamente aplicáveis aos trabalhos de genética forense realizados no âmbito dos crimes ambientais.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação genética de material de apreensão configura-se como ação fundamental para os processos de investigação contra crimes ambientais. Neste sentido, a identificação de *Mazama gouazoubira*, alcançada neste trabalho mediante aplicação de técnicas de genética forense, representa não somente um dado valioso para as ações de conservação, como também evidencia a capacidade de suporte oferecida pela genética forense em investigações forenses de crimes ambientais.

Não obstante, o presente estudo destaca a urgente necessidade de ampliação das normativas jurídicas estaduais e de padronização dos procedimentos técnicos de coleta, transporte e armazenamento de materiais de apreensão que orientem diretamente os trabalhos de genética forense realizados no âmbito das investigações forenses aplicadas a crimes ambientais, ampliando a base regulatória e técnica necessárias para a prática ética e técnica dos serviços por todos os atores envolvidos.

REFERÊNCIAS

- ALACS, E. A. *et al.* DNA Detective: A Review of Molecular Approaches to Wildlife Forensics. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, v. 6, n. 3, p. 180–194, 2010.
- ALMEIDA, J. R.; OLIVEIRA, S. G.; PANNO, M. *Perícia ambiental*. Rio de Janeiro: Thex, 2003.
- ALVES, R.; LIMA, J.; H. ARAUJO. The live bird trade in Brazil and its conservation implications: An overview. *Bird Conservation International*, v. 23, n. 1, p. 53-65, 2013.
- ANDRADE, A. L. P. *et al.* Floristic survey of the Furnas Gêmeas region, Campos Gerais National Park, Paraná state, southern Brazil. *Check List*, v. 13, n., p. 879–899, 2017.
- ANDRADE, B. O. *et al.* Vascular grassland plants of Tibagi River Spring, Ponta Grossa, Brazil. *Check List*, v. 7, n. 3, p. 257–262, 2011.
- ARDURA, A. *et al.* DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biological Conservation*, v. 143, p. 1438–1443, 2010.
- ARENAS, M. *et al.* Forensic genetics and genomics: Much more than just a human affair. *PLoS genetics*, v. 13, n. 9, p. e1006960, 2017.
- ALTSCHUL, S.F. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.
- BASTIANI, E. *et al.* Felinos da floresta nacional de Piraí do Sul, Paraná-Brasil. *Acta zoológica mexicana*, v. 31, n. 1, p. 23-26, 2015.
- BATISTA, V. G.; BASTOS, R. P. Anurans from a Cerrado-Atlantic Forest ecotone in Campos Gerais region, southern Brazil. *Check List*, v. 10, n. 3, p. 574–582, 2014.
- BEHLING, H. Late Quaternary vegetation, climate and fire history of the Araucaria forest and campos region from Serra Campos Gerais, Paraná State (South Brazil). *Review of Palaeobotany and Palynology*, v. 97, n. 1–2, p. 109-121, 1997.
- BENDER, D.; PEREIRA, A. D.; BAZILIO, S. Mamíferos de médio e grande porte na Reserva Biológica das Araucárias, Paraná, Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*, v. 83, p. 140-145, 2018.
- BERNEGOSI, A. M. *et al.* Resurrection of the genus *Subulo* Smith, 1827 for the gray brocket deer, with designation of a neotype. *Journal of Mammalogy*, Reino Unido, gyac068, 2022. DOI: 10.1093/jmammal/gyac068
- BÉRNILS, R. S.; MOURA-LEITE, J. C. The contribution of Andreas Mayer for the natural history of the state of Paraná, Brazil. V. Reptiles: relevant addenda and corrigenda. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 53, n. 2, p. 431–435, 2010.
- BIANCONI, G. V.; SILVA, M. D.; ROQUE, A. F. *Entre Campos: Ciência e Educação nos Campos Gerais do Paraná*. Curitiba: Instituto Neotropical, 2020. 146 p.

BORGES, C. H. S. *Caracterização morfológica, citogenética e molecular de Mazama gouazoubira (Artiodactyla, Cervidae) a partir de um topótipo atual*. 2017. Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2017.

BRAGA, F. G. Mamíferos dos Campos Gerais. In: M.S. Melo, R. S. Moro, G.B. Guimarães (Orgs.). *Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Ponta Grossa: Ed. UEPG, 2014. p. 123-133.3

BRASIL. Constituição (1988). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal: Centro Gráfico, 1988.

BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, p. 1, 13 fev. 1998.

BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. Institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, p. 1, 17 jul. 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Gabinete do Ministro. *Painel Unidades de Conservação Brasileiras*. Brasília, 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. *Carta Convite*. Brasília: MMA, 2022. 15 p.

CARMO, M. R. B. *et al.* Análise estrutural em relictos de cerrado no Parque Estadual do Guartelá, Município de Tibagi, Estado do Paraná. *Ciência Florestal*, v. 22, n. 3, p. 505–517, 2012.

CARMO M. R. B.; ASSIS, M. A. Caracterização florística e estrutural das florestas naturalmente fragmentadas no Parque Estadual do Guartelá, Município de Tibagi, Estado do Paraná. *Acta Botanica Brasílica*, v. 26, n. 1, p. 133–145, 2012.

CARVALHO, C. B. V. DNA Barcoding in Forensic Vertebrate Species Identification. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 4, n. 1, p. 12-23, 2014.

CARVALHO, C. B. V. The Use of DNA Barcoding to Identify Feathers from Illegally Traded Birds. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 2, n. 4, p. 326-332, 2013.

CAPARROZ, R. *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genome and a set of polymorphic microsatellite markers through next-generation sequencing for the brown brocket deer *Mazama gouazoubira*. *Genetics and Molecular Biology*, v. 38, p. 338-345, 2015.

CHARITY, S.; FERREIRA, J. M. *Wildlife trafficking in Brazil*. EUA: USAID, 2020. 111 pág.

CERVI, A.C. *et al.* A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, Município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Boletim do Museu Botânico Municipal de Curitiba*, Paraná, v. 69, p. 1–52, 2007.

CHAGAS, A. T. A. *et al.* Illegal hunting and fishing in Brazil: a study based on data provided by environmental military police. *Natureza e Conservação*, v. 13, p. 183-189, 2015.

CRIVELLARI, L. B. *et al.* Amphibians of grasslands in the state of Paraná, southern Brazil (Campos Sulinos). *Herpetology Notes*, v. 7, p. 639-654, 2014.

DALAZOANA, K. *Espacialização dos Campos Nativos na Escarpa Devoniana do Parque Nacional dos Campos Gerais, PR*. Orientador: Rosemeri Segecin Moro. 2010. 143 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Gestão do Território, Departamento de Gestão do Território: sociedade e natureza, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2010.

DAWNEY, N. *et al.* Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic Science International*, v. 173, n. 1, p. 1-6, 2007.

DEMETRIO, W. C. *et al.* Earthworm species in various land use systems in the Campos Gerais region of Lapa, Paraná, Brazil. *Zootaxa*, v. 4496, n. 1, p. 503-516, 2018.

DESTRO, G. F. G. *et al.* Efforts to Combat Wild Animals Trafficking in Brazil. In: L. G. Akeem (Ed.), 2012. *Biodiversity Enrichment in a Diverse World*. London: Intech Open, 2012. p. 421-436.

DO CARMO, R. R. *et al.* Identificação de Espécies de Animais Silvestres por Meio de Sequências Mitocondriais Utilizados no Combate aos Crimes Contra a Fauna – Mato Grosso – Brasil. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 6, p. 378 – 404, 2017.

DO VALE, T. F. *et al.* Interpretando a biodiversidade: a avifauna do Parque Nacional dos Campos Gerais (Paraná, Brasil). *Terr@ Plural*, v. 15, p. 1-28, 2021.

DUARTE, J. M. B. *et al.* Avaliação do Risco de Extinção do Veado-catingueiro *Mazama gouazoubira* G. Fischer [von Waldheim], 1814, no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*, v. 2, n. 1, p. 3-11, 2012.

DUARTE, J. M. B.; GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J. E. 2008. The surprising evolutionary history of South American deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 49, p. 17-22, 2008.

DUARTE, J. M. B.; MERINO, M. L. Taxonomia e Evolução. In: Duarte, J.M.B. (Ed.), *Biologia e conservação de Cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, cap.1, p. 1-21, 1997.

EDGAR, R. C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, v. 5, n. 113, 2004.

FACHIN, D. A. *et al.* Endemism within endemism: a new species of *Austroleptis* Hardy, 1920 (Diptera: Austroleptidae) from the Brazilian Atlantic Forest highlands. *Zootaxa*, v. 4803, n. 3, p. 483-494, 2020.

FIGUEIREDO, M. G. *Filogenia e Taxonomia dos Veados Cinza (*Mazama gouazoubira* e *M. nemorivaga*)*. 2014. Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Genética e

Melhoramento Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2014.

FOLMER, R. H. A. *et al.* A model of the complex between single-stranded DNA and the single-stranded DNA binding protein encoded by gene V of filamentous bacteriophage M13. *Journal of molecular biology*, v. 240, n. 4, p. 341-357, 1994.

GALETTI, M. *et al.* Priority areas for the conservation of Atlantic forest large mammals. *Biological Conservation*, v. 142, n. 6, p. 1229-1241, 2009.

GALETTI, M. *et al.* Ecological and evolutionary legacy of megafauna extinctions. *Biological Reviews*, v. 93, n. 2, p. 845-862, 2017.

GALINDO, D. J. *et al.* Chromosomal Polymorphism and Speciation: The Case of the Genus *Mazama* (Cetartiodactyla; Cervidae). *Genes*, v. 12, p. 165, 2021.

GARRIDO, R. G.; RODRIGUES, E. L. Contribuições da biologia molecular para a proteção animal e a investigação dos crimes contra a fauna. *Simioses*, v. 11, p. 32-38, 2017.

GILBERT, C.; ROPIQUET, A; HASSANIN, A. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 40, p. 101–117, 2006.

GONÇALVES, B. P. *Análises genéticas, ações educativas e criação de banco de dados forense: estratégia multidisciplinar para proteção jurídica à conservação biológica de aves traficadas*. 2018. Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

GONZÁLEZ, S.; DUARTE, J. M. B. Speciation, evolutionary history and conservation trends of neotropical deer. *Mastozoología neotropical*, v. 27, p. 37-47, 2020.

GRAZZINI, G. *et al.* Identidade, riqueza e abundância de pequenos mamíferos (Rodentia e Didelphimorphia) de área de Floresta com Araucária no estado do Paraná, Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 55, p. 217-230, 2015.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; DE WAARD, J. R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *The Royal Society: Biology Letters*, v. 270, p. 96-99, 2003.

HSIEH, H. M. *et al.* Species identification of rhinoceros horns using the cytochrome b gene. *Forensic Science International*, v. 136, n. 1-3, p. 1-11, 2003.

HSIEH, H. M. *et al.* Species identification of *Kachuga tecta* using the cytochrome b gene. *Journal of Forensic Sciences*, v. 51, n. 1, p. 52-56, 2006.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. *Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de Extinção no Estado do Paraná*. Curitiba: IAP, 2007.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. 2015. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015. *International Union for Conservation of Nature*. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/>> Acesso em: 13 out. 2010.

IYENGAR, A. Forensic DNA analysis for animal protection and biodiversity conservation: A review. *Journal for Nature Conservation*, v. 22, n. 3, p. 195-205, 2014.

KUMAR, V. P. *et al.* DNA barcoding as a tool for robust identification of cervids of India and its utility in wildlife forensics. *Mitochondrial DNA Part B*, v. 3, n. 1, p. 250-255, 2018.

LEIVAS, F. W. T.; GROSSI, P. C.; ALMEIDA, L. M. Histerídeos (Staphyliniformia: Coleoptera: Histeridae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 13, p. 196-204, 2013.

Tobe SS, Linacre AMT: A multiplex assay to identify 18 European mammal species from mixtures using the mitochondrial cytochrome b gene. *Electrophoresis* 2008, 29(2):340-347.

LINACRE, A. *et al.* ISFG: recommendations regarding the use of non-human (animal) DNA in forensic genetic investigations. *Forensic Science International: Genetics*, v. 5, n. 5, p. 501-505, 2011.

LINACRE, A.; TOBE, S. S. An overview to the investigative approach to species testing in wildlife forensic science. *Investigative genetics*, v. 2, p. 2-9, 2011.

MAACK, Reinhard. Notas preliminares sobre clima, solos e vegetação do Estado do Paraná. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, n. 2, p. 102-200, 1948.

MAACK, Reinhard. Mapa fitogeográfico do estado do Paraná. Curitiba: Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas; Instituto Nacional do Pinho, 1950. 1 mapa. Escala 1:750.000.

MANTELLATTO, A. M. B.; GONZÁLEZ, S.; DUARTE, J. M. B. Molecular identification of *Mazama* species (Cervidae: Artiodactyla) from natural history collections. *Genetics and Molecular Biology*, v. 43, n. 02, e20190008, 2020.

MARINONI, L. G.; MITIDIERO, D. *Código de processo civil comentado*. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2011. 3ª ed. 1310 p.

MASCARENHAS, L. M. A. *Interdisciplinaridade, instrumentos legais de proteção ao meio ambiente e perícia ambiental*. 2009. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

MATTEI, J.F. A perícia ambiental e a tutela jurídica do meio ambiente. *Revista Jus Navigandi*, v. 10, n. 1075, 2006. Disponível em: <<https://jus.com.br/artigos/8494>>. Acesso em: 23 jan. 2022.

MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. Os Campos Gerais do Paraná. In: MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Orgs.). *Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 17-22.

MENEGUZZO, I. S.; ALBUQUERQUE, E. S. A política ambiental para a região dos campos gerais do paraná. *RA E GA*, Curitiba, n. 18, p. 51-58, 2009.

MILARÉ, E. A a o civil pública por dano ao ambiente. *In: MILARÉ, E. (coord.). A o civil pública: lei 7.347/1985 – 15 anos. 2. ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2002. p. 155.*

MITRA, I., ROY, S., HAQUE, I., Application of molecular markers in wildlife DNA forensic investigations. *Journal of Forensic Science and Medicine*, v. 4, p. 156-160, 2018.

MIODUSKI, J.; MORO, R. S. Grupos funcionais da vegeta o campestre de Alagados, Ponta Grossa, Paraná. *Iheringia, Série Bot nica*, v. 66, p. 241–256, 2011.

MOREIRA, J. C., ROCHA, C. H. Unidades de conserva o nos Campos Gerais. *In: MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Orgs.). Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 201-212.*

MORO, R. S. *et al.* Grassland vegetation of Pitangui river valley, southern Brazil. *International Journal of Ecosystem*, v. 2 n. 6, p. 161–170, 2012.

MUNRO, R.; MUNRO, H. M. C. Some Challenges in Forensic Veterinary Pathology: A Review. *Journal of Comparative Pathology*, v. 149, n. 1, p. 57– 73, 2013.

NANUNCIO, V. M.; MORO, R. S. O mosaico de vegeta o remanescente em Piraí da Serra, Campos Gerais do Paraná: uma abordagem preliminar da fragmenta o natural da paisagem. *Terr@ Plural*, v. 2, n. 1, p. 155–168, 2008.

NAVAS-SUÁREZ *et al.* A retrospective pathology study of two Neotropical deer species (1995-2015), Brazil: Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) and brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). *PLoS ONE*, v. 13, n. 6, e0198670, 2018.

OLIVEIRA, E. A. *O Parque Nacional dos Campos Gerais: processo de cria o, caracteriza o ambiental e proposta de prioriza o de áreas para regulariza o fundiária*. 2012. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Gradua o em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

OGDEN, R.; LINACRE, A. Wildlife Forensic Science: A Review of Genetic Geographic Origin Assignment. *Forensic Science International: Genetics*, v. 18, p. 152-159, 2015.

PARANÁ. Lei Estadual n  14.037 de 20 de março de 2003. Institui o Código Estadual de Prote o aos Animais. *Diário Oficial do Estado*: Curitiba, PR, p. 25, n. 10.217, 11 abril 2003.

PARANÁ. Lei Estadual n  14.037 de 20 de março de 2003. Estabelece a Política Estadual de Prote o   Fauna Nativa, seus princípios, alvos, objetivos e mecanismos de execu o, define o Sistema Estadual de Prote o   Fauna Nativa - SISFAUNA, cria o conselho estadual de prote o   fauna (CONFAUNA), implanta a Rede Estadual de Prote o   Fauna Nativa - Rede Pr -Fauna e dá outras providências. *Diário Oficial do Estado*: Curitiba, PR, p. 54, n. 10.217, 21 mar. 2004.

PARANÁ. *Diagnóstico do Plano da Bacia Hidrográfica do Rio Tibagi*. Curitiba: SEMA. 2009. 402 p.

PARANÁ. Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Paraná. Decreto nº 7.264 de 01 de junho de 2010. Lista de Mamíferos Ameaçados de Extinção no Paraná. *Diário Oficial do Estado*: Curitiba, PR, p. 13, n. 8233, 02 jun. 2010.

PARANÁ. Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Paraná. Decreto nº 11.797 de 22 de novembro de 2018. Lista de Espécies de Aves pertencentes à Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção no Estado do Paraná. *Diário Oficial do Estado*: Curitiba, PR, p. 13, n. 10.319, 22 nov. 2018.

PEREIRA, A. D. *et al.* Ocorrência de *Tinamus solitarius* no Parque Nacional dos Campos Gerais, município de Ponta Grossa, Paraná. *Atualidades Ornitológicas*, v. 179, p 27, 2014.

PEREIRA, A. D.; BAZILIO, S. Caracterização faunística de mamíferos de médio e grande porte na Floresta Nacional de Irati, Paraná, Brasil. *Acta Iguazu*, v. 3, n. 2, p. 57-68, 2014.

PEREIRA, A. D.; BAZILIO, S.; ORSI, M. L. Checklist of medium-sized to large mammals of Campos Gerais National Park, Paraná, Brazil. *Check List*, v. 14, n. 5, p. 785, 2018.

PEREIRA, A. D.; BAZILIO, S.; YOSHIOKA, M. H. Mastofauna de médio e grande porte presente em fragmentos de Mata Atlântica, na mesorregião centro oriental do estado do Paraná, Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*, v. 83, p. 119-125, 2018a.

PEREIRA, A. D.; BAZILIO, S.; YOSHIOKA, M. H. Mamíferos de médio e grande porte em fragmentos de Floresta Ombrófila Mista, Sul do Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*, v. 83, p. 133-139, 2018b.

PEREIRA, A. D. *et al.* Mammalian defaunation across the Devonian kniferidges and meridional plateaus of the Brazilian Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation*, v. 30, n. 13, p. 4005-4022, 2021.

PONTES, H. S. *et al.* O projeto de lei de redução da APA da Escarpa Devoniana: ameaças à proteção dos campos nativos e cavernas dos Campos Gerais do Paraná, Brasil. *Terr@Plural*, v. 12, n. 2, p. 211-237, 2018.

REIS, S. T. J. *et al.* Retrospective Study of Expert Examination Performed by the Brazilian Federal Police in Investigations of Wildlife Crimes, 2013-2014. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, v. 5, n. 2, p. 198–214, 2016.

RENCTAS. *1º Relatório Nacional sobre o Tráfico de Fauna Silvestre*. Brasil: RENCTAS, 2001. 108 p.

RITTER, L. M. O.; RIBEIRO, M. C.; MORO, R. S. Floristic composition and phytophysognomies of Cerrado disjunct remnants in Campos Gerais, PR, Brazil - Southern boundary of the biome. *Biota Neotropica*, v. 10, n. 3, p. 379–414, 2010.

RESENDE, J. P. A. *Comparação cariotípica entre Mazama cinzas do Brasil (Mazama gouazoubira e Mazama nemorivaga, Artiodactyla; Cervidae)*. 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

ROCHA, C.H., NETO, P. H. W. As aves dos Campos Gerais. In: MELO, S. M.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Orgs.). *Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 171-180.

RODRIGUES, T. F.; CERVEIRA, J. F.; DUARTE, J. M. B. Uso de áreas agrícolas por *Mazama gouazoubira* (Mammalia, Cervidae) no Estado de São Paulo. *Iheringia, Série Zoologia*, v. 104, n. 4, p. 439-445, 2014.

ROSA, J. Z.; ROCHA, C. H.; RIBEIRO, S. R. A. Sensoriamento Remoto aplicado à análise das alterações da paisagem na APA da Escarpa Devoniana – Paraná – Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATRIMÔNIO GEOLÓGICO, 4. ENCONTRO LUSO-BRASILEIRO DE PATRIMÔNIO GEOMORFOLÓGICO E GEOCONSERVAÇÃO, 2, 2017, Ponta Grossa. *Anais...* Ponta Grossa: GUPE, 2017. p. 196-200.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *Cold Spring Harbor Protocols*, v. 1, pdb.prot 4455, 2006.

SANCHES, A. *et al.* Illegal hunting cases detected with molecular forensics in Brazil. *Investigative Genetics*, v. 3, n. 1, p. 1 – 5, 2012

SANTOS, J.C. A perícia ambiental criminal. In: TOCCHETTO, D. *Perícia ambiental criminal*. São Paulo: Millennium, 2010.

SANTOS-PEREIRA, M.; POMBAL JÚNIOR, J. P.; ROCHA, C. F. D. Anuran amphibians in state of Paraná, southern Brazil. *Biota Neotropica*, v. 18, n. 3, e20170322, 2018.

SCHERER-NETO, P. Aves: Entre Campos. In: BIANCONI, G.V.; SILVA, M. D.; ROQUE, A. F. (Eds.). *Entre Campos: Ciência e Educação nos Campos Gerais do Paraná*. Curitiba, INPCON: Instituto Neotropical, 2020. p. 69-73.

SINOVAS, P. *et al.* *Wildlife trade in the Amazon countries: an analysis of trade in CITES listed species*. Reino Unido: UN Environment-World Conservation Monitoring Centre, 2017.

SOUZA FILHO, G. A.; OLIVEIRA, F. S. Squamate reptiles from Mauá Hydroelectric Power Plant, state of Paraná, southern Brazil. *Check List*, v. 11, n. 6, p. 1800, 2015.

THOMSON, R. C.; WANG, I. J.; JOHNSON, J. R. Genome-enabled development of DNA markers for ecology, evolution and conservation. *Molecular Ecology*, v. 19, n. 11, p. 2184-2195, 2010.

UEJIMA, A. M. K., BORNSCHEIN, M. R. As aves dos Campos Gerais. In: M. S. MELO, R. S. MORO, G. B. GUIMARÃES (Orgs.). *Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. p. 109-121.

VALERI, M. P.; TOMAZZELA, I. M.; DUARTE, J. M. B. Intrapopulation Chromosomal Polymorphism in *Mazama gouazoubira* (Cetartiodactyla; Cervidae): The Emergence of a New Species?. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 154, p. 147-152, 2018.

VASCONCELOS, G. C.; ROCHA, M. L. R. *Coletânea de Pesquisas: Parques Estaduais de Vila Velha, Cerrado e Guartelá*. Curitiba: IAP, 2011. 374 p.

WAMBIER, L. R. *Curso avançado de Processo Civil*. 4 ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2002. 424 p.

YAN, D. *et al.* Forensic DNA Barcoding and Bio-Response Studies of Animal Horn Products Used in Traditional Medicine. *PLoS One*, v. 8, n. 2, e55854, 2013.

ZANON, C.; REIS, N. R. Bats (Mammalia, Chiroptera) in the Ponta Grossa region, Campos Gerais, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 24, p. 327-332, 2007.

ZANON, C.; REIS, N. R. Morcegos dos Campos Gerais. *In: M.S. M. S. MELO, R. S. MORO, G. B. GUIMARÃES (Orgs.). Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014.