

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Vivian da Silva Rosa Velda Meireles

ESTABILIDADE DO DNA MITOCONDRIAL NA SUPERFÍCIE DE FEZES DE
VEADO-CATINGUEIRO (*Subulo gouazoubira*) NO BIOMA DA CAATINGA

SOUSA, PB

2026

Vivian da Silva Rosa Veleda Meireles

ESTABILIDADE DO DNA MITOCONDRIAL NA SUPERFÍCIE DE FEZES DE
VEADO-CATINGUEIRO (*Subulo gouazoubira*) NO BIOMA DA CAATINGA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das exigências
para a conclusão do Curso de
Graduação de Bacharelado em
Medicina Veterinária do Instituto
Federal da Paraíba, Campus Sousa.

Orientador: Professor Dr. Francisco Leo Nascimento de Aguiar

SOUSA - PB

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Milena Beatriz Lira Dias da Silva – Bibliotecária CRB 15/964

M514e	Meireles, Vivian da Silva Rosa Veleda. Estabilidade do DNA mitocondrial na superfície de fezes de Veado-catingueiro (Subulo gouazoubira) no Bioma da Caatinga / Vivian da Silva Rosa Veleda Meireles, 2026.
	39 p.:il.
	Orientador: Prof. Dr. Francisco Leo Nascimento de Aguiar. TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - IFPB, 2026.
	1. Cervídeos. 2. mtDNA. 3. Coleta não-invasiva. 4. Cíbalos. 5. Degradação de DNA. I. Título. II. Aguiar, Francisco Leo Nascimento de Aguiar.
IFPB Sousa / BC	CDU 619



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **ESTABILIDADE DO DNA MITOCONDRIAL NA SUPERFÍCIE DE CÍBALOS
FECAIS DE VEADO-CATINGUEIRO (Subulo gouazoubira) NO BIOMA CAATINGA**

Autora: Vivian da Silva Rosa Veleda Meireles

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: 13/03/2026.

Documento assinado digitalmente
gov.br FRANCISCO LEO NASCIMENTO DE AGUIAR
Data: 16/03/2026 20:36:20-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Professor Doutor Francisco Léo Nascimento de Aguiar
IFPB – Campus Sousa
Professor Orientador

Documento assinado digitalmente
gov.br THAIS FERREIRA FEITOSA
Data: 16/03/2026 20:50:53-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Professora Doutora Thaís Ferreira Feitosa
IFPB – Campus Sousa
Examinadora 1

Documento assinado digitalmente
gov.br LUCIANA MAGALHAES MELO
Data: 16/03/2026 23:54:26-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Professora Doutora Luciana Magalhães Melo
UECE
Examinador 2

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Vovô Veleda.
Sua trajetória na ciência e na medicina
veterinária sempre foi fonte de
inspiração para minha própria jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, aos espíritos da natureza e dos animais, manifestação do divino na forma como compreendo Deus. Foi na força da terra, no silêncio das matas e na sabedoria dos seres que habitam o mundo natural que encontrei inspiração para seguir no caminho da ciência e da medicina veterinária. Que este trabalho seja também uma forma de honrar a vida em todas as suas expressões.

À minha família, por todo o apoio, incentivo e amor ao longo dessa jornada. Nada disso teria sido possível sem a base que vocês sempre me ofereceram, acreditando em mim mesmo nos momentos em que eu mesma duvidei.

Ao meu orientador, Francisco Leo Nascimento de Aguiar (Chico Leo), pelos momentos de descontração, pela paciência, orientação e por ter acompanhado este processo com compreensão e dedicação.

Aos meus amigos de Natal, Renata e Bruno, meus amigos de infância, que seguem presentes mesmo com a distância. Manter amizades ao longo dos anos e dos quilômetros não é simples, mas vocês continuam sendo parte essencial da minha história.

Aos amigos que iniciaram essa jornada acadêmica comigo — Thamires, Carla Lícia, Joyce e Anny — e que, mesmo tendo seguido caminhos diferentes ao longo do curso, fizeram parte de momentos importantes dessa trajetória.

Aos amigos que conheci em outros períodos da graduação — Nathalia, Anna Hygea, Jordana, Gil, Banga, Crislânio e Samila — pelos momentos compartilhados, pelas conversas, pelo apoio e pelas memórias que levarei comigo.

Aos amigos que a reta final do curso me presenteou — Matias, Vitória, Jeizom, Alyson e Anderson — pelas refeições, pelas conversas profundas (e outras nem tanto) e por tornarem essa etapa mais leve e companheira.

A Manoel, Sousense que esteve ao meu lado em várias ocasiões, sempre ajudando a aliviar as tensões e trazendo leveza aos momentos mais difíceis.

A Alceu, que em pouco tempo conquistou meu carinho, virou meu grudinho e teve um papel importante me ajudando a manter o foco durante a fase final do TCC.

Aos meus tios Manelito e Filadélfia, que me acolheram em sua casa como uma filha, sempre demonstrando cuidado, preocupação e carinho ao longo dessa caminhada.

Ao LACCERNE e ao LFCR, por abrirem as portas para a realização do estágio e do desenvolvimento deste trabalho.

À minha coorientadora, professora Luciana Melo, por disponibilizar seu tempo, sua paciência e seu laboratório para a realização desta pesquisa, contribuindo de forma fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À banca examinadora e a todos os professores e técnicos do curso de Medicina Veterinária do IFPB, pelos ensinamentos transmitidos com responsabilidade, compromisso e cuidado com a formação acadêmica.

Aos mestrandos — Sâmi, Francis, Larissa, Sara e Fernandes — doutorandos — Irving, Natan, Eli e Rochele — e alunos de iniciação científica da UECE — Pedro, Gabi e Viviane — por todo o aprendizado compartilhado, pela ajuda no laboratório e pelos momentos de descontração que tornaram minha estadia em Fortaleza ainda mais especial.

De forma muito especial, agradeço a Giovanna e Kaline, que estiveram diretamente comigo durante os experimentos no laboratório, sempre dispostas a ensinar, orientar e esclarecer minhas dúvidas com muita paciência e generosidade.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho fosse possível, minha sincera gratidão.

RESUMO: A caracterização da qualidade da obtenção de DNA a partir de amostras fecais consiste em um desafio para otimização de estudos voltados para os cervídeos na região da Caatinga. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a estabilidade do DNA mitocondrial em fezes de *Subulo gouazoubira* expostas à incidência solar por até 30 dias. Amostras de fezes foram coletadas por meio de técnica não invasiva, obtidas de quatro fêmeas de veado-catingueiro mantidas sob cuidados humanos, alojadas nas instalações do LACCERNE da UECE. Foram separados três grupos experimentais distintos baseados na quantidade de cíbalos (1, 3 e 5 unidades), onde as amostras de DNA foram obtidas nos dias 0, 10, 20 e 30, coletadas com auxílio de Swab. As amostras de DNA recuperadas foram analisadas por meio da técnica de PCR em tempo real (qPCR). Foram amplificados os genes mitocondriais ATP6 (subunidade 6 da enzima ATP sintase) e ND5 (subunidade 5 da enzima NADH desidrogenase). As temperaturas médias apresentaram tendência de redução ao longo do período experimental (janeiro/fevereiro de 2026), variando de 36,2 °C no início do experimento para 29,5 °C ao final dos 30 dias. Observou-se correlação inversa entre o aumento da temperatura acumulada e a concentração de DNA recuperada ao longo do tempo. A quantificação realizada por espectrofotometria mostrou que as concentrações iniciais de DNA foram maiores quando utilizou-se três e cinco cíbalos (47,0 e 50,6 ng/μL, respectivamente) em comparação a um cíbalos (17,3 ng/μL). Entretanto, observou-se redução nas concentrações ao longo do tempo de exposição ambiental, indicando possível degradação do DNA devido à ação de fatores ambientais como temperatura e umidade. Para o gene mitocondrial ND5, as concentrações no dia 0 foram de 45,0 ng/μL (1 cíbalos), 165,0 ng/μL (3 cíbalos) e 1375,1 ng/μL (5 cíbalos). Ao longo dos dias, o grupo de três cíbalos teve as seguintes concentrações: 2,76 ng/μL no dia 10, 6,99 ng/μL no dia 20 e 5,17 ng/μL no dia 30. No grupo de cinco cíbalos foram registradas as seguintes concentrações: 2,94 ng/μL, 4,19 ng/μL e 3,33 ng/μL nos mesmos períodos, respectivamente. Para o gene ATP6, foram registrados valores iniciais mais elevados, com 20.035,1 ng/μL (1 cíbalos) e 32.564,1 ng/μL (3 cíbalos). Ao longo do tempo de exposição ambiental, observou-se redução acentuada destas concentrações. Para o ATP6, no grupo de cinco cíbalos, a concentração inicial superior a 36 milhões de ng/μL reduziu para 7,8 ng/μL no dia 10, 8,8 ng/μL no dia 20 e 4,2 ng/μL no dia 30, evidenciando intensa degradação inicial do DNA com posterior estabilização dos mesmos em baixos níveis detectáveis por qPCR. Pode-se concluir que a avaliação de DNA mitocondrial por meio de swab de amostras fecais é uma metodologia eficaz para o estudo genético de populações de cervídeos na região da Caatinga.

Palavras-chave: Cervídeos; mtDNA; Coleta não-invasiva; Cíbalos; Degradação de DNA

ABSTRACT: Characterizing the quality of DNA obtained from fecal samples is a challenge for optimizing studies focused on cervids in the Caatinga region. Therefore, this study aims to evaluate the stability of mitochondrial DNA in feces of *Subulo gouazoubira* exposed to sunlight for up to 30 days. Fecal samples were collected using a non-invasive technique from four female brocket deer kept under human care at the LACCERNE facilities of UECE. Three distinct experimental groups were separated based on the number of fecal pellets (1, 3, and 5 units). DNA samples were obtained every 10 days using a swab. The DNA samples were analyzed using real-time PCR (qPCR), and the mitochondrial genes ATP6 (subunit 6 of the ATP synthase enzyme) and ND5 (subunit 5 of the NADH dehydrogenase enzyme) were amplified. Average temperatures showed a decreasing trend throughout the experimental period, varying from 36.2 °C at the beginning of the experiment to 29.5 °C at the end of the 30 days. It was observed that the increase in accumulated temperature correlated inversely with the concentration of DNA recovered over time. Quantification was performed by spectrophotometry, showing that initial DNA concentrations were higher when three and five pellets were used (47.03 and 50.6 ng/μL, respectively) compared to one pellet (17.36 ng/μL). However, a reduction in concentrations was observed over the environmental exposure time, indicating possible DNA degradation due to environmental factors such as temperature and humidity. For the mitochondrial gene ND5, concentrations on day 0 were 45.07 ng/μL (1 pellet), 165.02 ng/μL (3 pellets), and 1375.10 ng/μL (5 pellets). On day 10, the group with three pellets had values of 2.76 ng/μL, 6.99 ng/μL on day 20, and 5.17 ng/μL on day 30, while the group with five pellets recorded 2.94 ng/μL, 4.19 ng/μL, and 3.33 ng/μL during the same periods. For the ATP6 gene, higher initial values were recorded, with 20,035.17 ng/μL (1 pellet) and 32,564.14 ng/μL (3 pellets). Over the environmental exposure period, a marked reduction in concentrations was observed. For ATP6, in the group of five pellets, the initial concentration exceeding 36 million ng/μL reduced to 7.82 ng/μL on day 10, 8.82 ng/μL on day 20, and 4.22 ng/μL on day 30, evidencing intense initial DNA degradation followed by stabilization at low levels detectable by qPCR.

Keywords: Cervids. mtDNA. Non-invasive. Feces. qPCR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição Geográfica de *Mazama gouazoubira*.

Figura 2 – Mapa do Bioma da Caatinga.

Figura 3 – Indivíduo de *Subulo gouazoubira* utilizado no experimento.

Figura 4 – Protocolo utilizado para extração de DNA de fezes de veado-catingueiro com swab utilizando o Mini Kit Purelink.

Figura 5 – Dados de monitoramento ambiental da exposição à temperatura e umidade registrados durante o período experimental.

Figura 6 – Concentração média de DNA (ng/μl) obtida por espectrofotometria a partir de amostras fecais de cervídeos coletadas no dia 0, 10, 20 e 30 após deposição. As barras indicam a média das amostras analisadas e as barras de erro representam o desvio-padrão. **A:** Utilizando 1 cíbalo no protocolo de extração. **B:** Utilizando 3 cíbalos. **C:** Utilizando 5 cíbalos.

Figura 7 – Concentração do gene ND5 ao longo do tempo. **A:** Gene ND5 extraído de 1 cíbalo. **B:** Extraído de 3 cíbalos. **C:** Extraído de 5 cíbalos.

Figura 8 – Concentração do gene ATP6 ao longo do tempo. **A:** Gene ATP6 extraído de 1 Cíbalo. **B:** Extraído de 3 cíbalos. **C:** Extraído de 5 cíbalos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pares de primers específicos usados para quantificação da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.....	26
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
mtDNA	DNA mitocondrial
nDNA	DNA nuclear
UV	Radiação ultravioleta
Ct	Cycle Threshold
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
PBS	Solução de Tampão Fosfato Salino
LACCERNE	Laboratório de Conservação de Cervídeos Neotropicais
UECE	Universidade Estadual do Ceará
ml	Mililitros
μ l	Microlitros
ATP6	subunidade 6 da enzima ATP sintase
ND5	subunidade 5 da enzima NADH desidrogenase
°C	Símbolo de Graus Celcius
%	Símbolo de Porcentagem
ng	Nanograma
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
CX43	Conexina 43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1. A família Cervidae e estado de conservação dos cervídeos neotropicais... 17	
2.2. Amostragem não-invasiva.....	18
2.3. Radiação solar, temperatura e umidade como agentes de degradação.....	19
2.4. Estabilidade do DNA mitocondrial (mtDNA).....	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Animais e bioética.....	23
3.2. Obtenção da temperatura.....	24
3.3. Obtenção do DNA fecal.....	24
3.4. Amplificação do DNA.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1. Condições ambientais durante o experimento.....	27
4.2. Eficiência da extração de DNA fecal.....	29
4.3. qPCR de DNA fecal.....	32
4.4. Degradação temporal do DNA fecal.....	36
4.5. Estabilização da degradação ao longo do tempo.....	36
4.6. Persistência do DNA mitocondrial em amostras degradadas.....	37
5. CONCLUSÃO.....	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

Na ordem dos Artiodactyla, os animais ungulados apresentam cascos pares com quatro dedos, sendo dois de apoio. Nesta ordem, podemos mencionar as famílias Giraffidae (Girafas), Bovidae (ex. Antílope, Bisão), Hippopotamidae (Hipopótamos) e Cervidae (Veados e Cervos). Os cervídeos são mamíferos pertencentes à família Cervidae, e subordem Ruminantia, caracterizados por possuírem quatro compartimentos estomacais (Silva, 2025). Os cervídeos englobam uma diversidade de mais de 60 espécies no mundo, e na região neotropical podemos encontrar 17 espécies de cervídeos, sendo nove delas encontradas em território brasileiro: *Odocoileus virginianus*, *Ozotoceros bezoarticus*, *Passalites nemorivagus*, *Blastocerus dichotomus*, *Mazama americana*, *Mazama jucunda*, *Mazama rufa*, *Mazama nana* e *Subulo gouazoubira* (Silva, 2025; Duarte, 2012).

Entre os cervídeos com ocorrência no bioma Caatinga, destaca-se o veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*), uma espécie de médio porte, com peso variando entre 11 kg e 25 kg, amplamente distribuída em diferentes ambientes, incluindo florestas, savanas e áreas de cultivo, demonstrando elevada capacidade de adaptação a condições sazonais e de estresse hídrico características do semiárido brasileiro. Por ser herbívora, essa espécie desempenha papel ecológico relevante na dinâmica da vegetação onde pastam, contribuindo para processos como a dispersão de sementes, o que reforça sua importância funcional nos ecossistemas aos quais integram (Pannoni et al., 2022; Duarte, 2012).

Uma característica importante do processo digestivo desta espécie é que, particularmente por meio da deposição de fezes em locais estratégicos, o veado-catingueiro utiliza secreções odoríferas como forma de comunicação intra e interespecífica, sinalizando sua presença, ocupação territorial e condição biológica. Essas marcações químicas contêm informações que podem indicar identidade individual, sexo e estado reprodutivo, evidenciando o potencial das fezes como fonte de dados ecológicos e biológicos relevantes para estudos populacionais e comportamentais (Srbek, 2024).

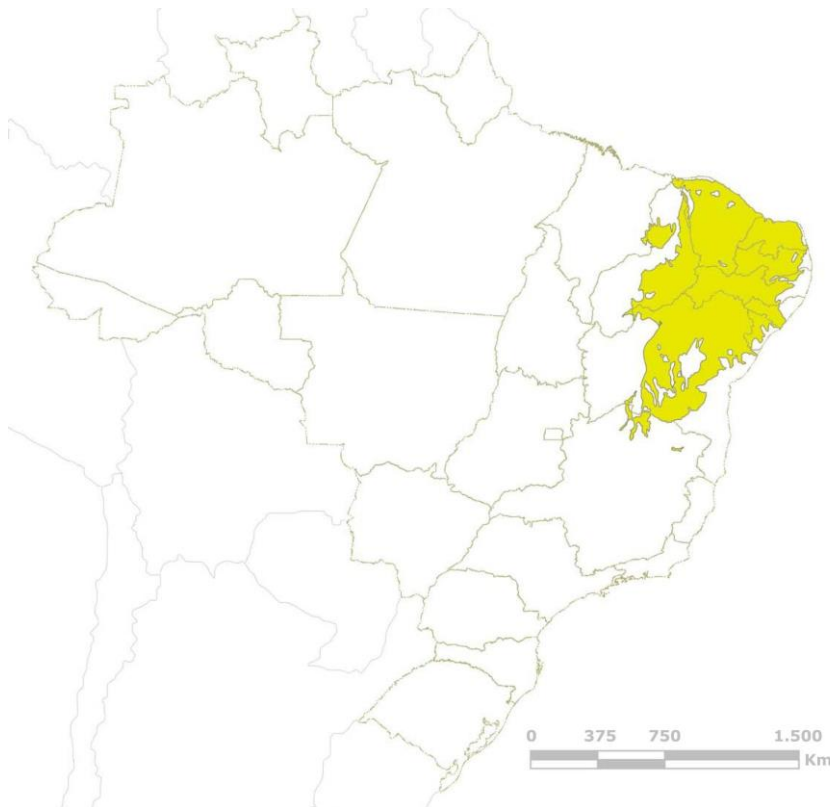
Figura 1: Distribuição Geográfica de *Subulo gouazoubira*.



Fonte: Duarte, 2012

Segundo o ICMBio (2024), a Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, caracterizado por clima semiárido, elevada variabilidade pluviométrica e vegetação adaptada à escassez hídrica. Apesar de historicamente subestimada, abriga elevada biodiversidade e significativo grau de endemismo (presença de espécies unicamente em uma dada região geográfica), decorrentes de sua heterogeneidade ambiental e singularidade ecológica (Mello, 2015). Além disso, o bioma Caatinga desempenha funções ecológicas essenciais, contribuindo para a manutenção dos serviços ecossistêmicos, diversidade de espécies e sustentação de populações humanas que dependem diretamente de seus recursos naturais (Lima, 2023).

Figura 2: Mapa do Bioma da Caatinga



Fonte: Adaptado de www.wwf.org.br

No entanto, as pressões antrópicas, como fragmentação de habitats e degradação ambiental, têm promovido o isolamento populacional e a redução do fluxo gênico entre espécies. Esse processo favorece o aumento da endogamia e a diminuição da variabilidade genética, tornando as populações mais suscetíveis ao declínio e à extinção local (Duarte, 2012; Srbek, 2024; Silva, 2025).

Neste cenário, estudos capazes de compreender a dinâmica adaptativa dos animais selvagens frente aos desafios ambientais é premente para a conservação destas espécies. Estudos genéticos prévios, especialmente espécies furtivas, raras ou de difícil observação, têm sido viabilizados pelo uso de técnicas de amostragem não invasivas, que eliminam a necessidade de captura ou visualização direta dos indivíduos (Santos, 2024). Entre as amostras não invasivas utilizadas, pelos e fezes constituem importantes fontes de DNA. O pelo está associado a maior integridade genética, enquanto o DNA fecal tende a apresentar maior grau de degradação. Contudo, considerando a dificuldade de captura de cervídeos e seus hábitos discretos, o uso de fezes tem se mostrado uma alternativa eficiente para obtenção de material genético e realização de estudos populacionais (Santos, 2024).

O DNA do hospedeiro presente nas fezes provém, principalmente, de células epiteliais descamadas da parede intestinal, que se aderem à camada externa do cólon durante o processo de defecação. Essas células constituem a principal fonte de material genético para análises moleculares, permitindo a identificação individual, a estimativa de parâmetros populacionais e a avaliação da variabilidade genética sem a necessidade de captura ou manejo direto dos animais (Santiago-Plata et al., 2025).

Apesar das vantagens associadas ao uso de amostras fecais em estudos genéticos, sua aplicação em ambientes semiáridos apresenta limitações importantes. Em tais condições, a quantidade de DNA do hospedeiro disponível nas fezes já é naturalmente reduzida, em razão da degradação promovida por bactérias e da presença de material genético proveniente de itens alimentares não digeridos, o que pode comprometer a pureza e a concentração do DNA extraído (Freitas, 2023). Adicionalmente, fatores como altas temperaturas, intensa radiação solar e dessecação aceleram processos de hidrólise e oxidação do DNA, dificultando a obtenção de amostras de alta qualidade e comprometendo a amplificação por PCR (GIA, 2021). Não obstante, variações ocasionais de umidade, mesmo em regiões predominantemente secas, podem reidratar as amostras, reativando a atividade microbiana e enzimática e acelerando ainda mais a degradação.

Neste cenário, a caracterização da qualidade da obtenção de DNA a partir de amostras fecais consiste em um desafio para otimização de estudos voltados para os cervídeos na região da Caatinga. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a estabilidade do DNA mitocondrial em fezes de *Subulo gouazoubira* expostas à incidência solar por até 30 dias, simulando condições de coleta em campo no bioma Caatinga. A análise foi feita por meio da técnica de PCR em tempo real (qPCR), buscando verificar como a exposição ambiental influencia a integridade e a viabilidade das fezes como fonte confiável de DNA para estudos genéticos populacionais e de conservação em ambientes semiáridos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. A família Cervidae e estado de conservação dos cervídeos neotropicais

Segundo Lima (2023) e Duarte et al. (2012), as relações evolutivas dos cervídeos têm sido foco de pesquisas e debates devido às incertezas de níveis taxonômicos distintos. Um dos principais *hotspots* de biodiversidade de cervídeos é a região neotropical (abrangendo a América do Sul, América Central, sul do México, ilhas do Caribe e sul da Flórida). Apesar da maior parte das espécies de cervídeos se encontrarem em declínio populacional, uma possível exceção é a espécie *S. gouazoubira* a qual demonstra elevada plasticidade ecológica evidenciada por sua capacidade de adaptação a ambientes submetidos a intensa influência antrópica (Lima, 2023; Duarte, 1996; Pinder & Leeuwenberg, 1997).

Aspectos fundamentais como dieta, estratégias reprodutivas, comportamento, preferência de hábitat, áreas de vida, abundância, densidade e até distribuição geográfica carecem de dados consistentes, o que evidencia a necessidade de maior investimento em pesquisa e programas de monitoramento voltadas para esse grupo de mamíferos (Lima, 2023; Duarte, 2012; Feijó & Langguth, 2013).

Adicionalmente, os cervídeos possuem papel ecológico de elevada relevância, como a manutenção da estrutura e composição vegetal dos ecossistemas em que habitam (Cavalcanti et al., 2009; Feldhamer & MacShea, 2012). Paralelamente, estes animais integram a cadeia trófica de grandes predadores, reforçando sua importância funcional para várias espécies (Trentini, 2024). Tanto as populações silvestres como as mantidas em cativeiro apresentam imenso valor ambiental e econômico, seja por contribuírem com ações de conservação, seja pelo potencial aproveitamento na indústria alimentícia (Lima, 2023; Randi et al., 2001; Price et al., 2005).

O bioma da Caatinga, onde se localizam os cervídeos do presente estudo, é caracterizado por clima quente e semiárido, ocupando a maior parte da região nordeste do Brasil. As temperaturas médias são entre 25° e 30°C, e a precipitação é baixa, alcançando entre 400 e 1200mm por ano (Associação Caatinga, 2026). Estas condições desafiadoras do semiárido tornam um ambiente desfavorável para se manter a integridade de materiais biológicos, como pelos e fezes.

2.2. Amostragem não-invasiva

Os estudos genéticos populacionais de animais selvagens foram significativamente impulsionados pelo avanço da ecologia molecular, sobretudo com o uso de amostras biológicas obtidas por métodos não invasivos, como penas, pelos e fezes (Bach et al., 2022). Essas abordagens permitem a extração de DNA sem a necessidade de captura ou manipulação direta dos indivíduos, minimizando impactos sobre o bem-estar animal (Silva, 2022; Santos, 2024). A partir dessas análises, tornou-se possível estimar o tamanho populacional, identificar indivíduos e avaliar a variabilidade genética com maior eficiência, contribuindo de forma decisiva para o manejo e a conservação das espécies (Taberlet et al., 1999; Bach et al., 2022; Santos, 2024).

Além disso, tais amostras são extensamente estocadas em coleções e bancos biológicos por conterem informações genéticas valiosas, passíveis de reanálise conforme o desenvolvimento de novas técnicas moleculares (Ali et al., 2021). Dessa forma, os métodos não invasivos consolidaram-se como ferramentas centrais na pesquisa e na conservação da fauna silvestre (Taberlet et al., 1999; Rola et al., 2021; Duarte et al., 2023).

Nesse contexto, as fezes destacam-se devido à sua facilidade de detecção e coleta em campo, mesmo em ambientes extensos e de difícil acesso. Essas características favorecem sua aplicação nos estudos comportamentais, demográficos, de dieta, filogenia, doenças, uso de espaço e variabilidade genética, onde antes só se era possível com um número alto e inviável de animais, tornando-se uma ferramenta valiosa para pesquisas ecológicas e de conservação (Santiago-Plata et al., 2025; Santos, 2024). No entanto, a exposição ambiental intensifica a rápida degradação do material genético, reduzindo significativamente o sucesso das análises moleculares e diminuindo a janela temporal ideal para coleta e amostras biológicas, tornando o monitoramento genético mais desafiador em ambientes tropicais e semiáridos (Agetsuma-Yanagihara, 2017). Ademais, os cervídeos representam um desafio adicional devido à dificuldade de captura e diante disso, a utilização de DNA fecal tem se consolidado como uma metodologia não invasiva eficiente para estudos supracitados (Lima, 2023).

2.3. Radiação solar, temperatura e umidade como agentes de degradação

A degradação do DNA é resultado da ação combinada de múltiplos fatores ambientais, entre os quais a radiação ultravioleta, a temperatura e a umidade, que se destacam como os principais agentes (Agetsuma-Yanagihara et al., 2017; Bach et al., 2022). A radiação ultravioleta (UV) exerce efeito particularmente deletério, sendo capaz de provocar rápida perda da integridade molecular e redução significativa no rendimento de DNA em períodos relativamente curtos de exposição (Riasat Ali et al., 2025; Green et al., 2022; Agetsuma-Yanagihara et al., 2017). Esse tipo de radiação induz alterações estruturais diretas, como a formação de dímeros de pirimidina, que interferem nos processos normais de replicação e transcrição, além de favorecer quebras nas fitas e a perda de informação genética (Taylor et al., 2021; Johnson et al., 2019). Paralelamente, a umidade acelera a fragmentação através de processos hidrolíticos, especialmente em climas tropicais (Brinkman et al., 2010). Como consequência, amostras expostas à luz solar e à chuva apresentam risco substancialmente maior de degradação, comprometendo a integridade do material genético e limitando sua utilização em análises moleculares subsequentes (Riasat Ali et al., 2025; Bach et al., 2022; Oliveira & Duarte, 2013).

Diante dessas limitações impostas pela degradação ambiental do DNA, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) consolidou-se como uma das principais ferramentas da biologia molecular, por possibilitar a amplificação de regiões específicas do genoma a partir de quantidades mínimas ou parcialmente degradadas de material biológico (Taberlet et al., 1996; Oliveira & Duarte, 2013). Essa característica viabiliza o uso de amostras não invasivas no monitoramento de espécies alusivas, sem a necessidade de captura ou visualização direta dos indivíduos (Bach et al., 2022; Santos, 2024). A partir da PCR e de suas variações, como a PCR em tempo real (qPCR), é possível realizar a identificação taxonômica, sexagem pelo gene da amelogenina e a identificação individual por marcadores microsatélites, gerando informações essenciais para estudos populacionais e estratégias de conservação (Ennis & Gallagher, 1994; González et al., 2009; Brinkman et al., 2011; Lima, 2023; Silva, 2022).

Apesar dessas vantagens, o sucesso da amplificação por PCR depende diretamente da integridade do DNA presente nas amostras. Como citado anteriormente, fatores ambientais como altas temperaturas, intensa radiação solar e variações de umidade aceleram a degradação do DNA por hidrólise, oxidação e reativação microbiana, comprometendo a

qualidade das amostras e sua amplificação por PCR. A radiação ultravioleta, em especial, atua como um dos principais vetores de degradação, promovendo danos estruturais e a quebra de fitas simples. Quando associada ao calor, há um efeito sinérgico que intensifica as reações químicas deletérias ao DNA. (GIA, 2021)

Em um experimento controlado Riasat Ali et al. (2025) demonstraram que a degradação do DNA é mais acentuada no grupo exposto à radiação ultravioleta, apresentando redução significativa no rendimento do material genético. A análise estatística indicou que a radiação UV foi o fator ambiental que promoveu maior taxa de degradação, atingindo aproximadamente 65%, evidenciando seu elevado potencial de dano estrutural ao DNA quando comparado a outras condições ambientais.

Além da radiação, a temperatura elevada contribui para acelerar reações químicas que promovem a fragmentação do DNA, especialmente por meio de processos de oxidação e hidrólise. Segundo Riasat Ali et al. (2025), no grupo mantido a 37 °C, foi observada diminuição significativa do rendimento do DNA ao longo do período de seis semanas. Embora o efeito tenha sido inferior ao observado na exposição à radiação UV, os dados confirmam que temperaturas elevadas contribuem para a degradação molecular, possivelmente por intensificarem reações químicas que comprometem a integridade estrutural do DNA (Riasat Ali et al., 2025)

A umidade também exerce papel importante nesse contexto, sendo observada no estudo de Riasat Ali et al. (2025), onde o DNA extraído de sangue humano exposto a alta umidade relativa (75%) apresentou degradação moderada, porém contínua, caracterizada por declínio progressivo no rendimento do DNA ao longo do tempo. Esse efeito está associado à presença de água, que favorece reações hidrolíticas, como a depurinação e a clivagem da cadeia, intensificando a instabilidade molecular e promovendo também a remoção física das células epiteliais superficiais, que constituem a principal fonte de DNA do hospedeiro nas fezes (Riasat Ali et al., 2025; Agetsuma-Yanagihara, 2017).

Esses resultados indicam que, embora o impacto da umidade tenha sido inferior ao da radiação UV e da temperatura, ela ainda contribui de forma significativa para a degradação do DNA em amostras expostas ao ambiente. Dessa forma, os achados reforçam a importância do controle das condições ambientais durante o armazenamento de amostras biológicas, especialmente em ambientes com elevada umidade, onde o risco de degradação

do material genético é ampliado. A interação entre esses fatores potencializa os danos, caracterizando um efeito sinérgico que reduz progressivamente a qualidade do DNA em amostras expostas ao ambiente, sobretudo em regiões tropicais e semiáridas, onde a incidência solar, o aquecimento e a variação de umidade são frequentes (Riasat Ali et al., 2025; Agetsuma-Yanagihara, 2017).

Em herbívoros, como o veado-catingueiro, a composição fecal inclui resíduos vegetais ricos em compostos fenólicos provenientes da dieta, os quais podem absorver parte da radiação ultravioleta e atuar como filtros naturais, reduzindo inicialmente os danos diretos ao DNA (Janabi et al., 2016). No entanto, à medida que ocorre a degradação desses compostos e da própria matriz fecal, há maior exposição do material genético a agentes ambientais e à formação de subprodutos oxidativos potencialmente prejudiciais (Brinkman et al., 2010; Riasat Ali et al., 2025). Esse processo contribui para o aumento gradual da degradação genética em amostras expostas por períodos prolongados, especialmente quando combinada à ação de outros fatores ambientais, como a radiação UV e a umidade (Agetsuma-Yanagihara, 2017).

2.4. Estabilidade do DNA mitocondrial (mtDNA)

Apesar dessa suscetibilidade às lesões UV, o DNA mitocondrial frequentemente pode ser recuperado mesmo em amostras degradadas. Essa resiliência não deriva de uma maior estabilidade química intrínseca, mas sim de seu elevado número de cópias por célula, que pode alcançar centenas ou milhares, aumentando a probabilidade estatística de que, mesmo fragmentado, fragmentos amplificáveis sobrevivam à exposição ambiental intensa (Martins et al., 2021).

A análise de genes mitocondriais constitui uma abordagem consolidada para compreender a organização das populações e a relação entre variação genética e distribuição geográfica. O DNA mitocondrial apresenta elevada taxa de variação em sua sequência nucleotídica, configurando-se como fonte relevante de informações para estudos filogenéticos. A coexistência de diferentes haplótipos mitocondriais em populações de uma mesma espécie possibilita a reconstrução da linhagem materna, já que sua transmissão é exclusivamente por herança materna (Awise, 2009).

O caráter não recombinante e a rápida taxa de evolução molecular reforçam a utilidade do DNA mitocondrial como marcador para investigações filogeográficas (Avisé, 2009). Apesar de sua relevância para a identificação da estrutura genética associada às dinâmicas ambientais do semiárido nordestino, os estudos de filogeografia molecular na Caatinga ainda são escassos, principalmente relacionados à mastofauna, sendo mais frequentes estudos em pequenos roedores e quirópteros (Lima, 2023).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais e bioética

Esta pesquisa recebeu autorização de execução pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO (Registro nº 94326-1; CEUA n.31032.000283/2025-11) para a coleta de material biológico. Amostras de fezes foram coletadas por meio de técnica não invasiva, obtidas de quatro fêmeas de veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*, n = 4) mantidas sob cuidados humanos, alojadas nas instalações do Laboratório de Conservação de Cervídeos Neotropicais (LACCERNE) da UECE (3°47'39.4"S, 38°33'29.2"W).

Figura 3: Indivíduo de *Subulo gouazoubira* utilizado no experimento.



Fonte: Arquivo pessoal.

3.2. Obtenção da temperatura

As variáveis abióticas de temperatura (média, mínima e máxima) e umidade relativa foram monitoradas continuamente com o auxílio de um único dispositivo de coleta (Termo-Higrômetro Digital B-Max HTC-2), garantindo a padronização das leituras térmicas.

Os valores de temperatura apresentados no estudo correspondem a médias ponderadas das condições térmicas ao longo do período de exposição. Dessa forma, o valor apresentado para o dia 0 corresponde à média das condições ambientais registradas do dia em que se iniciou o experimento, enquanto os valores apresentados para os dias 10, 20 e 30 representam a média acumulada das condições ambientais registradas ao longo dos respectivos períodos de exposição (intervalos de 10 dias intercalados).

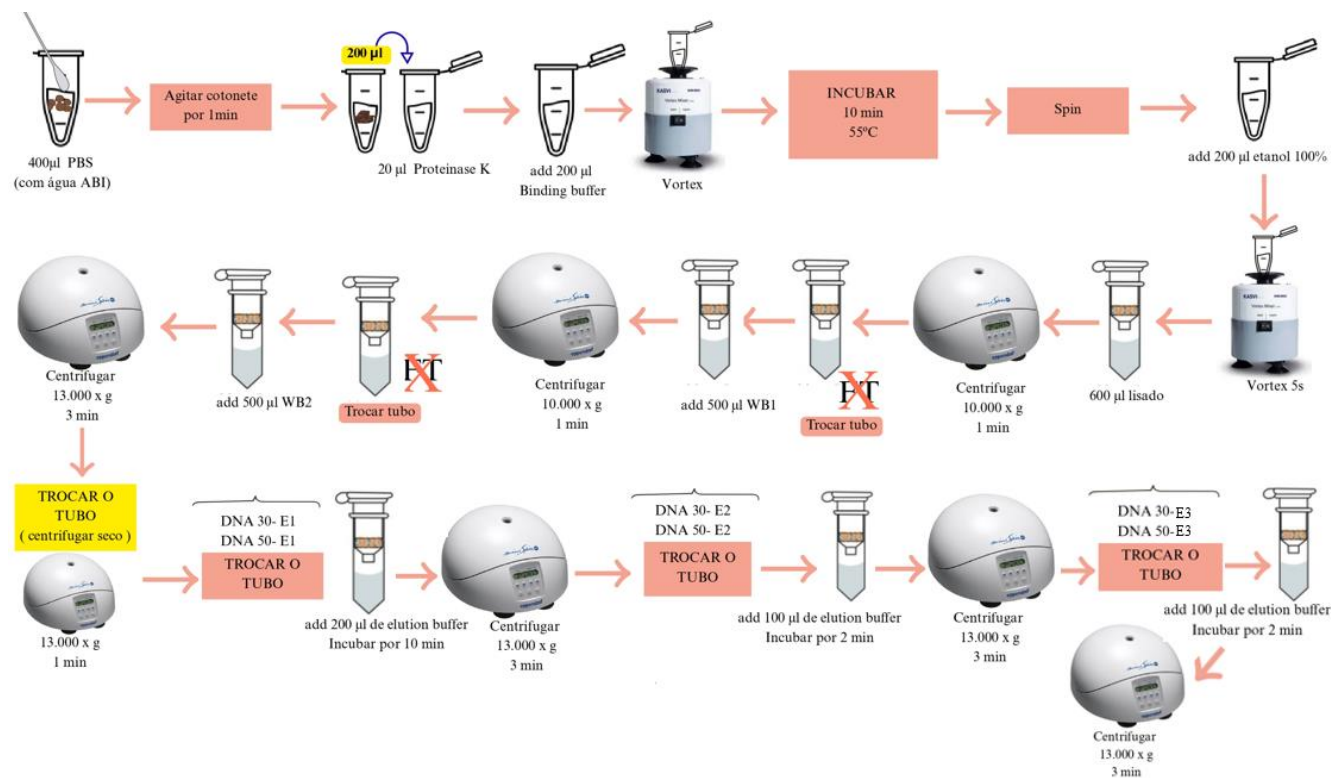
As temperaturas diurnas foram registradas a cada 2h durante o intervalo de 8h às 17h, sendo posteriormente associadas à medição noturna realizada diariamente às 7h40min do dia subsequente, horário estabelecido em razão da necessidade de aproximadamente 20 minutos para estabilização da temperatura no termo higrômetro para a aferição das 8h. Essa abordagem permitiu representar de forma mais fiel o ciclo térmico completo ao qual as amostras foram submetidas durante o período experimental.

3.3. Obtenção do DNA fecal

Foram utilizados três grupos experimentais distintos baseados na quantidade de cíbalos (1, 3 e 5 unidades). As amostras foram colocadas com luvas em placas de Petri descartáveis e submetidas à exposição solar direta diária das 8h até às 18h por um período de 30 dias, simulando condições de campo. O material biológico foi armazenado em ambiente coberto no período da noite e/ou quando houve precipitação de chuva.

As amostras de DNA foram obtidas a cada 10 dias (Dias 0, 10, 20 e 30) com auxílio de Swab com ponta de algodão embebido em solução salina tamponada (PBS - Phosphate-Buffered Saline) com água ultrapura (ABI). Após realizar o esfregão dos cíbalos com o swab, o mesmo foi rotacionado dentro de microtubos Eppendorf (2ml) contendo 400 μ l da solução salina tamponada e identificados com os respectivos números de cíbalos. Para a extração do DNA foi utilizado o PureLink Genomic DNA purification Mini Kit. O protocolo utilizado para extração de DNA foi adaptado do fabricante e pode ser visualizado esquematicamente abaixo (**Figura 4**).

Figura 4 - Protocolo utilizado para extração de DNA de fezes de veado-catingueiro com swab utilizando o Mini Kit Purelink.



Fonte: Elaborado pelo autor

O material analisado no dia zero (Dia 0) serviu como grupo controle de referência do estado inicial de integridade do mtDNA antes da exposição aos estresses ambientais. Posteriormente as amostras foram analisadas através de um espectrofotômetro (BioPhotometer – Eppendorf) para determinação da concentração de DNA, expressa em ng/µL. Além disso, as amostras de DNA foram analisadas por meio da técnica de PCR em tempo real (qPCR), que permite a detecção e quantificação de fragmentos específicos mesmo em DNA degradado. Foram amplificados os genes mitocondriais ATP6 (subunidade 6 da enzima ATP sintase) e ND5 (subunidade 5 da enzima NADH desidrogenase), selecionados devido ao alto número de cópias do DNA mitocondrial por célula.

3.4. Amplificação do DNA

A utilização da qPCR torna-se fundamental, pois permite a análise da amplificação dos genes mitocondriais ND5 e ATP6, complementando a interpretação dos dados de

espectrofotometria, bem como avalia indiretamente a qualidade do DNA por meio do valor de Ct. O Ct corresponde ao ciclo no qual o sinal de fluorescência torna-se detectável durante a amplificação.

Foram analisados os níveis de expressão de genes mitocondriais de uma subunidade 5 da enzima NADH desidrogenase (ND5) e uma subunidade da enzima ATP sintase (ATP6). Pares de primers específicos para amplificar cada gene (**Tabela 1**) foram projetados usando Primer-BLAST (Ye et al., 2012) para alinhamento de múltiplas sequências. As sequências de referência foram de cervídeos (taxonomy ID 9850, que inclui espécies como: *Cervus elaphus*, *Odocoileus virginianus*, *Cervus canadensis*, dentre outros) ou, alternativamente, de bovino doméstico (*Bos taurus*, taxonomy ID 9913). O número de identificação do GenBank do gene ND5 não consta na tabela por se tratar de um marcador de referência já validado internamente pelo laboratório LACCERNE.

Tabela 1: Pares de primers específicos usados para quantificação da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real.

<i>Gene</i>	<i>Sequência do Primer</i>	<i>Tamanho do produto (bp)</i>	<i>GenBank</i>
<i>ATP6</i>	F: 5'-TAGGCATAGCCATCCCCCT-3'	105	KJ772514.1
	R: 5'-GTGGAGTGGGTGTTTCCTTGTG-3'		KP195269.1
<i>ND5</i>	F: 5'-TTACAGCAATATGCGCCCT-3'	106	
	R: 5'-GGTTGGTTAATGCCAATTGTTA-3'		

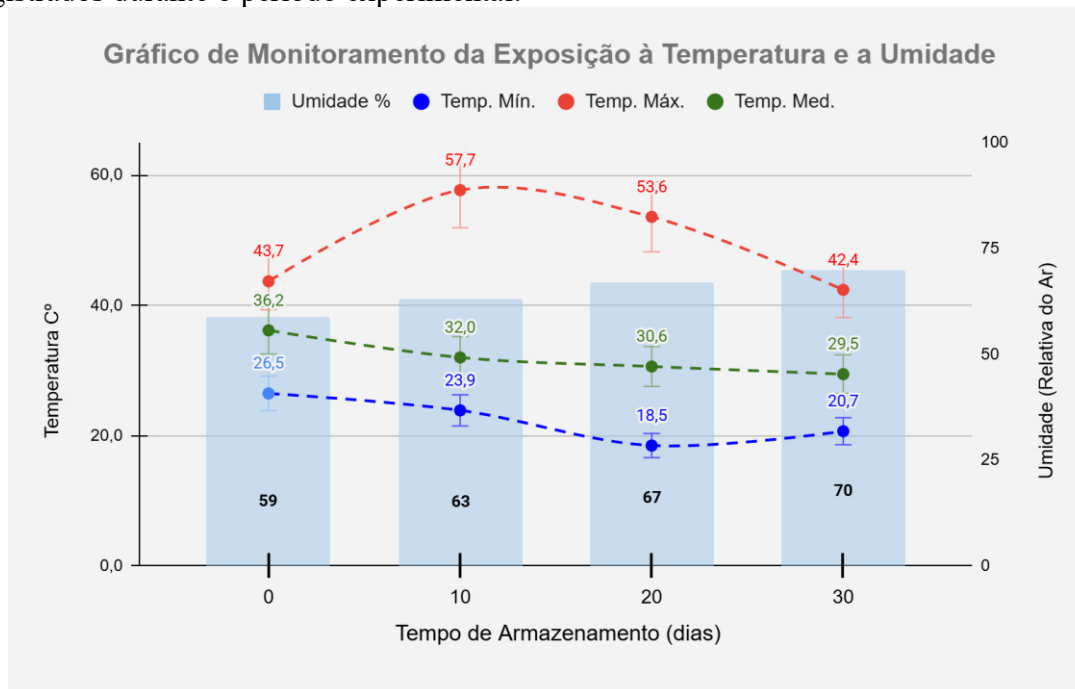
Fonte: Adaptado de Magalhães, 2020

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Condições ambientais durante o experimento

A temperatura máxima registrada foi de 57,7 °C nos 10 primeiros dias, enquanto a temperatura mínima registrada foi de 18,5°C entre os dias 10 e 20 (**Figura 5**). A umidade relativa apresentou aumento gradual ao longo do período de exposição, passando de 59% no dia 0 para 70% ao final do experimento (**Figura 5**). A redução da temperatura e aumento da umidade ao longo do experimento se deram devido ao início do período chuvoso do Ceará, mais especificamente na cidade de Fortaleza onde ocorreu o presente estudo. As chuvas em geral na região da Caatinga ocorrem no primeiro semestre do ano, se concentrando na quadra mensal de fevereiro a maio (Moura et al., 2015).

Figura 5. Dados de monitoramento ambiental da exposição à temperatura e umidade registrados durante o período experimental.



Fonte: Elaborado pelo autor

Durante o período experimental ocorreram episódios pontuais de precipitação nos dias 15, 16, 21 e entre os dias 26 e 28, sendo as amostras temporariamente armazenadas em ambiente coberto nesses momentos, conforme previsto no delineamento experimental.

Entretanto, tais eventos não resultaram em alterações visíveis na integridade estrutural dos cíbalos, mantendo-se a consistência das amostras ao longo do período de monitoramento.

Como demonstrado por Silva (2025), amostras de células esfoliadas de fezes de caprinos e cervídeos mantidas em temperatura ambiente (27°C) apresentaram uma curva de queda na sobrevivência celular muito mais acentuada do que as amostras mantidas sob refrigeração (4°C) ao longo de 24 horas. Estudos prévios com pêlos da espécie *Ursus arctos*, demonstraram que para primers mitocondriais de 1000 pb de base, houve um decréscimo no sucesso de amplificação em 2 semanas, resultado do tempo em que a amostra ficou exposta ao ambiente (Roon et al., 2003). Em outro estudo, os resultados com DNA sanguíneo mostraram que, amostras resfriadas a 4°C são capazes de reter 95% do rendimento inicial de DNA, enquanto que amostras a 37°C sofrem uma queda significativa em seu rendimento, terminando com apenas 63% (Riasat Ali et al., 2026). No estudo de Peixoto Silva (2025) sobre a inviabilidade de oocistos de *Toxoplasma gondii* foi observado que logo nas primeiras 12 horas de experimento, as temperaturas nos grupos expostos ao sol e à sombra chegaram a 54,4 °C e 51,9 °C, respectivamente, e a umidade variou de um mínimo de 25% (às 36h) a um máximo de 35% (às 24h). Essas condições climáticas extremas promovem a destruição completa ou a inativação rápida do material biológico em menos de 36 horas.

Portanto, os estudos experimentais supracitados evidenciam que temperaturas elevadas aceleram as reações de hidrólise e oxidação das bases nitrogenadas, promovendo quebras nas cadeias de DNA e fragmentação molecular progressiva.

4.2 Eficiência da extração de DNA fecal

O protocolo de extração de DNA utilizando swab descrito por Bach et al. foi selecionado para o presente estudo, uma vez que os resultados reportados pelos autores indicam que amostras fecais com diferentes condições físicas (viscosa, úmida, brilhante ou opaca) apresentam elevada probabilidade de gerar genótipos utilizáveis quando coletadas por meio dessa metodologia (Bach et al., 2022).

Nas extrações realizadas a partir de um único cíbalo, as concentrações médias de DNA foram de 17,3 ng/μl no dia 0, 18,1 ng/μl aos 10 dias, 9,6 ng/μl aos 20 dias e 15,9 ng/μl

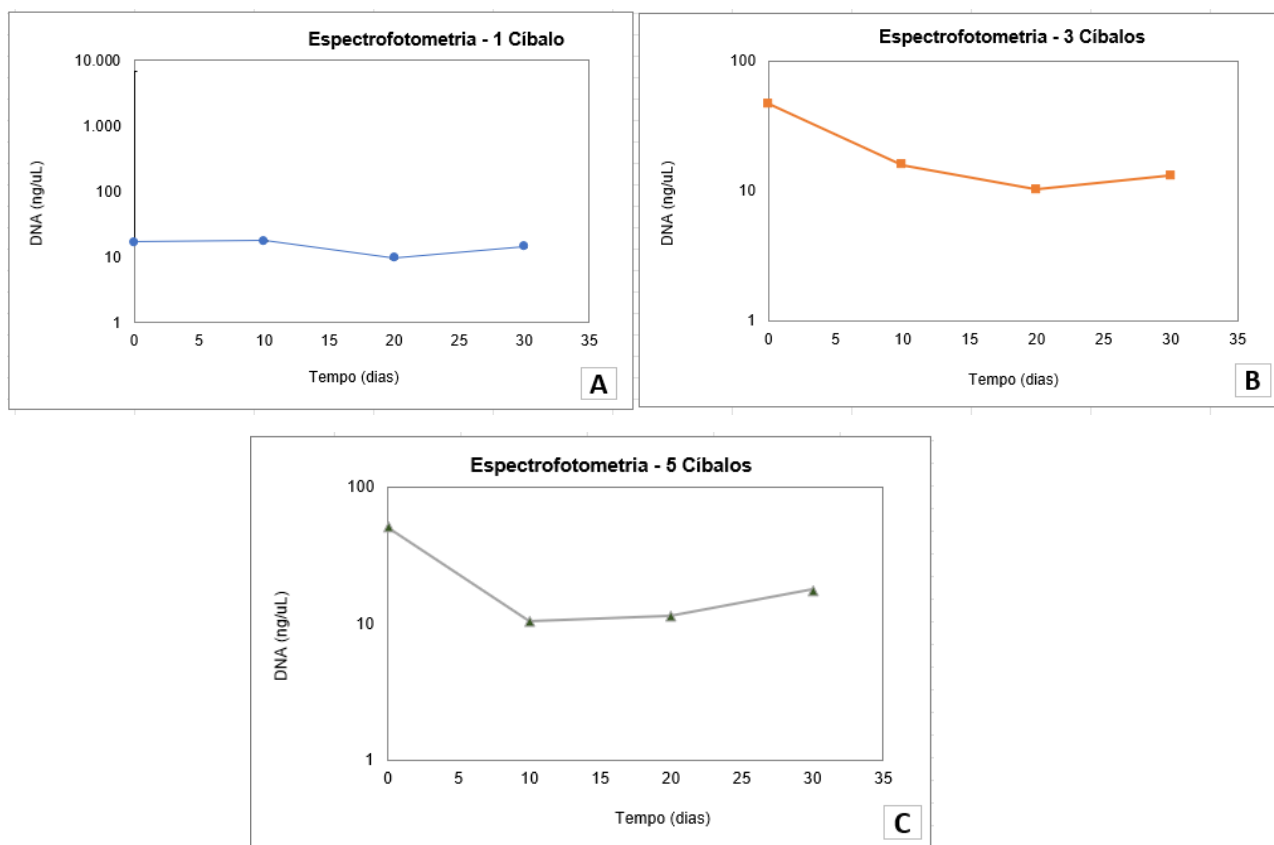
aos 30 dias (**Figura 6A**). Observou-se relativa estabilidade nas concentrações entre os dias 0 e 10, seguida por redução aos 20 dias, com posterior aumento aos 30 dias. No entanto, os resultados apresentaram considerável variabilidade entre as amostras, evidenciada pelos desvios-padrão observados.

Quando a extração foi realizada utilizando três cíbalos, verificou-se maior concentração inicial de DNA no dia 0, com média de 47,0 ng/μl. Entretanto, houve redução nas concentrações ao longo do tempo de exposição ambiental, com médias de 15,9 ng/μl aos 10 dias, 10,4 ng/μl aos 20 dias e 13,3 ng/μl aos 30 dias (**Figura 6B**).

Nas extrações realizadas com cinco cíbalos, observou-se o maior rendimento inicial de DNA, com concentração média inicial de 50,6 ng/μl no dia 0. Similarmente, houve redução acentuada após o período inicial de exposição ambiental, com médias de 9,5 ng/μl aos 10 dias e 10,0 ng/μl aos 20 dias; contudo, houve aumento na média para 16,7 ng/μl aos 30 dias (**Figura 6C**).

Esses resultados indicam que, embora o uso de maior quantidade de material fecal possa favorecer a obtenção de maiores concentrações iniciais de DNA (possivelmente em decorrência da maior disponibilidade de células epiteliais descamadas presentes na superfície das fezes, as quais representam uma das principais fontes de DNA do hospedeiro em amostras fecais), ainda ocorre variação nas concentrações ao longo do tempo de exposição ambiental das amostras, com tendência geral de redução após os primeiros dias de deposição. Essa redução potencialmente pode estar associada à degradação progressiva do material genético em decorrência da ação de fatores ambientais. A associação entre os fatores ambientais, como umidade e temperatura, é reconhecida por promover a fragmentação e degradação do DNA em amostras biológicas expostas ao ambiente (Bach et al., 2022; Riasat Ali et al., 2025).

Figura 6. Concentração média de DNA (ng/μl) obtida por espectrofotometria a partir de amostras fecais de cervídeos coletadas no dia 0, 10, 20 e 30 após deposição. As barras indicam a média das amostras analisadas e as barras de erro representam o desvio-padrão.



A: Utilizando 1 cíbalo no protocolo de extração. **B:** Utilizando 3 cíbalos. **C:** Utilizando 5 cíbalos.

Mesmo após períodos prolongados de exposição ambiental, foi possível recuperar DNA em concentrações mensuráveis por espectrofotometria e passíveis de amplificação por PCR em tempo real. Entretanto, é importante ressaltar que a quantificação espectrofotométrica informa apenas a concentração total de ácidos nucleicos presentes na amostra, não fornecendo necessariamente indicação direta sobre a integridade molecular do DNA e podendo incluir não apenas o DNA do hospedeiro, mas também DNA proveniente de microrganismos presentes na microbiota fecal e de contaminantes ambientais (Peres, 2015). Assim, a presença de DNA total detectável não implica obrigatoriamente em material genético estruturalmente intacto, nem maior quantidade de DNA do hospedeiro.

Nesse contexto, a utilização da qPCR torna-se fundamental, pois permite a análise da amplificação dos genes mitocondriais ND5 e ATP6, complementando a interpretação dos

dados de espectrofotometria, e avalia indiretamente a qualidade do DNA por meio do valor de Ct. Assim, mesmo diante da variabilidade observada nas concentrações de DNA obtidas por espectrofotometria, a amplificação de marcadores mitocondriais representa um indicador mais confiável da presença de DNA, além de verificar a estabilidade e a degradação do material genético do hospedeiro em amostras fecais (Oliveira & Duarte, 2013).

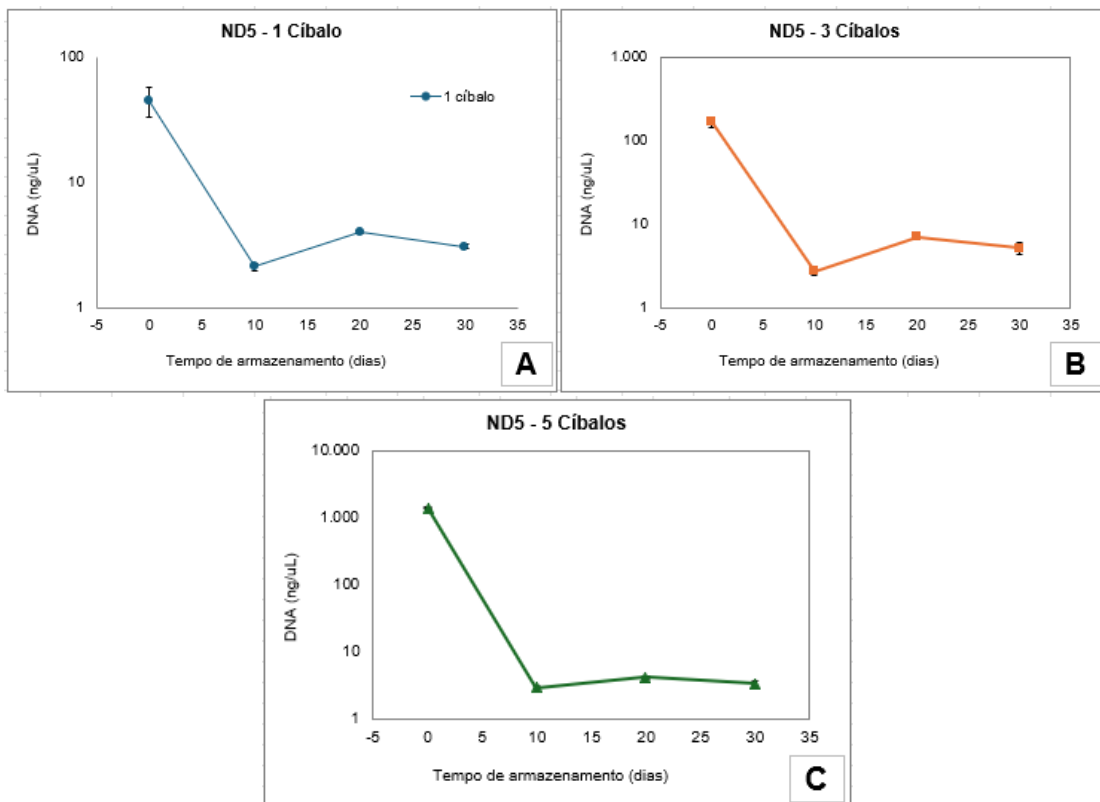
4.3 qPCR de DNA fecal

O DNA mitocondrial apresenta maior número de cópias por célula quando comparado ao DNA nuclear, o que aumenta sua probabilidade de detecção em amostras degradadas, como aquelas provenientes de fezes expostas ao ambiente. Inicialmente, o experimento incluiu a tentativa de amplificação de marcadores nucleares, especificamente os genes GAPDH e CX43. Porém, esses marcadores apresentaram amplificação positiva apenas nas amostras correspondentes ao dia zero, não sendo detectados nos períodos subsequentes de exposição ambiental. Esse resultado sugere que o DNA nuclear presente nas amostras fecais sofreu degradação mais rápida, inviabilizando sua amplificação ao longo do tempo (Oliveira & Duarte, 2013; Brinkman et al., 2010). Para que esses resultados pudessem ser incluídos de forma consistente nas análises do presente estudo, seria necessária a realização de etapas adicionais de validação, como a análise das curvas de melting para verificação da especificidade dos produtos amplificados, bem como a aplicação de análises estatísticas apropriadas. Assim, a complementação dos dados obtidos referentes aos marcadores nucleares, poderá ser realizada em estudos subsequentes.

Na avaliação da viabilidade do DNA extraído das amostras fecais, foram realizadas análises de qPCR direcionadas a marcadores mitocondriais. Foram avaliados os genes ND5 e ATP6, amplamente utilizados em estudos de genética molecular e conservação (Magalhães et al., 2020; Freitas, 2023; Lima, 2023; Santos, 2024; Siqueira et al., 2025), com o objetivo de verificar a presença e a amplificabilidade do DNA do hospedeiro nas diferentes condições de exposição das amostras. A análise dos valores de Ct obtidos nas reações de qPCR permitiu inferir indiretamente a quantidade relativa de DNA amplificável presente em cada amostra, possibilitando a comparação entre os diferentes períodos de exposição ambiental e

contribuindo para a avaliação da qualidade do material genético recuperado. Valores de Ct mais elevados indicam menor quantidade inicial de DNA amplificados ou maior grau de fragmentação do material genético presente na amostra (Riasat Ali et al., 2025). No presente estudo, a concentração inicial de DNA apresentou variação significativa entre os grupos experimentais compostos por 1, 3 e 5 cíbalos, evidenciando que a quantidade de material fecal disponível influencia diretamente a quantidade de DNA recuperado no momento da coleta inicial.

Para o gene mitocondrial ND5, as concentrações registradas estão ilustradas abaixo (**Figura 7ABC**). A concentração de DNA no dia 0 foi de 45,0 ng/μL para 1 cíbalo, 165,0 ng/μL para 3 cíbalos, e 1375,1 ng/μL para 5 cíbalos. De maneira geral, os resultados obtidos para esse gene ilustram uma redução na concentração de DNA ao longo do tempo (10, 20 e 30 dias) para todos os grupos experimentais avaliados conforme observado nos grupos 1 (**Figura 7A**), 3 (**Figura 7B**) e 5 cíbalos (**Figura 7C**).

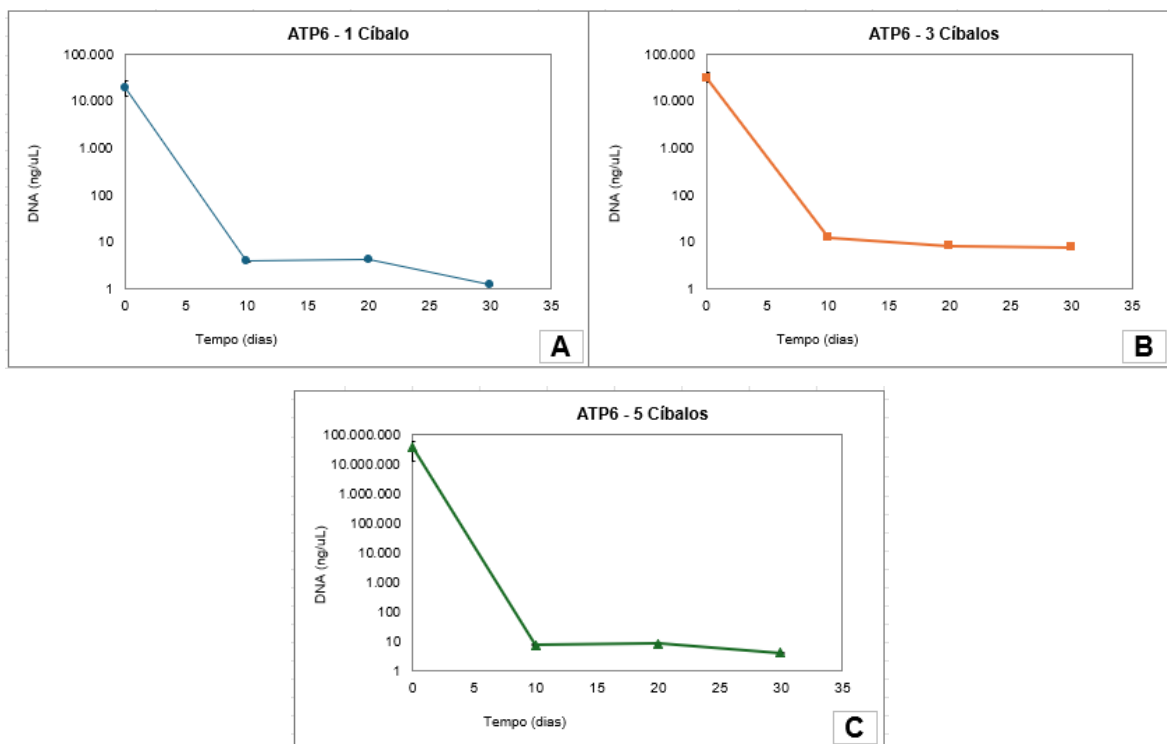


Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 7 - Concentração do gene ND5 ao longo do tempo. **A:** Gene ND5 extraído de 1 cíbalo. **B:** Extraído de 3 cíbalos. **C:** Extraído de 5 cíbalos.

Resultados semelhantes foram observados para o gene ATP6, conforme observado abaixo (**Figura 8ABC**). Valores de concentração de DNA mais elevados foram observados inicialmente, com 20.035,1 ng/ μ L para 1 cíbalo, e 32.564,1 ng/ μ L para 3 cíbalos no momento inicial da exposição ambiental (Dia 0). Similarmente, os resultados obtidos para o gene ATP6 ilustram uma redução na concentração de DNA ao longo do tempo (10, 20 e 30 dias) para todos os grupos experimentais avaliados conforme observado nos grupos 1 (**Figura 8A**), 3 (**Figura 8B**) e 5 cíbalos (**Figura 8C**).

Figura 8 - Concentração do gene ATP6 ao longo do tempo. **A:** Gene ATP6 extraído de 1 Cíbalo. **B:** Extraído de 3 cíbalos. **C:** Extraído de 5 cíbalos.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.4 Degradação temporal do DNA fecal

Um dos padrões mais evidentes observados no experimento foi a redução abrupta na concentração de DNA detectável entre o dia 0 e o dia 10 de exposição solar, independentemente da quantidade inicial de cı́balos analisada. Esse comportamento de queda acentuada nos primeiros dias de exposição e consistente com o observado por Siqueira et al. (2025), ao avaliarem a integridade de DNA nuclear e mitocondrial em pelos de *Subulo gouazoubira* por qPCR. Nesse referido estudo, os genes mitocondriais ATP6 e ND5 apresentaram amplificação consistente ate aproximadamente 96 horas, seguida de declı́nio progressivo apos a primeira semana de exposição ambiental. Adicionalmente, os autores observaram ainda que o gene ND5 apresentou relativa estabilização entre a quarta e a sexta semana, indicando manutenção de fragmentos amplificaveis mesmo apos perı́odos prolongados de exposição (Siqueira et al., 2025).

Esse padrão observado por Siqueira et al. (2025) corrobora a tendência registrada no presente estudo, no qual a maior perda de DNA detectável ocorreu no intervalo entre 0 e 10 dias, perı́odo no qual os efeitos combinados de radiação ultravioleta, temperatura elevada e processos oxidativos promovem intensa fragmentação do material genético presente na matriz fecal. No entanto, no presente trabalho a diminuição na concentração de DNA foi observada de forma relativamente abrupta entre esses dois pontos amostrais, o que limita uma interpretação mais precisa sobre o momento inicial da degradação. Para se determinar com maior precisão o ponto inicial do processo de degradação, estudos futuros que investiguem intervalos de coleta mais curtos, especialmente nos primeiros dias apos a deposição das fezes, são prementes.

4.5 Estabilização da degradação ao longo do tempo

Apos o décimo dia de exposição, as concentrações de DNA permaneceram baixas, com apenas pequenas variações entre os dias 20 e 30. No caso do gene ND5, por exemplo, o grupo de três cı́balos apresentou valores de concentrações de 2,7 ng/ μ L no dia 10, 6,9

ng/ μ L no dia 20 e 5,1 ng/ μ L no dia 30. Já no grupo de cinco cı́balos os valores registrados foram 2,9 ng/ μ L no dia 10, 4,2 ng/ μ L no dia 20 e 3,3 ng/ μ L no dia 30. Esse padrı́o sugere que, apı́s a degradaçı́o inicial intensa, o DNA remanescente passa a estar presente principalmente na forma de fragmentos menores, que tendem a ser mais resistentes à degradaçı́o adicional podendo ainda serem amplificados pela tı́cnica de qPCR (Santos, 2024).

No caso do gene ATP6, o grupo experimental composto por cinco cı́balos apresentou concentraçı́o inicial de mais de 36 milhı́es de ng/ μ L, reduzindo-se para 7,82 ng/ μ L no dı́cimo dia, e nos perı́odos seguintes 8,82 ng/ μ L no dia 20 e 4,22 ng/ μ L no dia 30 (**Figura 8C**). Esse comportamento pode ser explicado de forma similar ao observado para o gene ND5, com uma reduçı́o ainda mais dramática entre o inı́cio e o dia 10 do experimento.

4.6 Persistı́ncia do DNA mitocondrial em amostras degradadas

A detecçı́o dos genes mitocondriais ATP6 e ND5 persistiu atı́ o dia 30, corroborando a literatura sobre a robustez do genoma mitocondrial em amostras nı́o invasivas, devido ao elevado nı́mero de cı́pias por cı́lula (Siqueira et al., 2025; Lima, 2023). Quando comparado ao nDNA, que geralmente estı́ presente em apenas duas cı́pias por cı́lula, o mtDNA tende a apresentar maior sucesso de amplificaçı́o em amostras degradadas, especialmente em condiçı́es ambientais adversas como exposiçı́o prolongada à radiaçı́o solar e altas temperaturas (Lima, 2023).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a incidı́ncia solar direta promove degradaçı́o significativa do DNA presente em fezes de veado-catingueiro, sendo a maior perda de material genético detectável observada nos primeiros dez dias apı́s a deposiçı́o. Dessa forma, estudos futuros poderiam empregar intervalos de coleta mais curtos (inferiores a uma semana), a fim de determinar com maior precisı́o quando se inicia o processo de degradaçı́o. Ainda assim, fragmentos de DNA mitocondrial permaneceram amplificáveis por PCR em tempo real mesmo apı́s 30 dias de exposiçı́o ambiental.

Do ponto de vista ecológico e aplicado à genética da conservação, foi possível constatar nesse estudo que amostras fecais frequentemente constituem uma das principais fontes de material genético em estudos não invasivos de fauna silvestre. A compreensão da dinâmica temporal de degradação do DNA sob condições ambientais naturais permite estabelecer janelas de coleta mais adequadas, aumentando a probabilidade de sucesso em análises genéticas populacionais. A persistência de fragmentos mitocondriais detectáveis por longos períodos reforça a utilidade do mtDNA como marcador molecular, especialmente em regiões tropicais de altas temperaturas e intensa radiação solar.

Sendo assim, os dados obtidos contribuem para o aprimoramento metodológico de estratégias de coleta e análise de DNA fecal em estudos de genética e conservação de mamíferos silvestres.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGETSUMA-YANAGIHARA, Yoshimi; INOUE, Eiji; AGETSUMA, Naoki. Effects of time and environmental conditions on the quality of DNA extracted from fecal samples for genotyping of wild deer in a warm temperate broad-leaved forest. *Mammal Research*, v. 62, p. 1–10, 2017. DOI: 10.1007/s13364-016-0305-x.

ASSOCIAÇÃO CAATINGA. *Sobre a Caatinga*. Disponível em: <https://www.acaatinga.org.br/sobre-a-caatinga/>. Acesso em: 14 mar. 2026.

AVISE, J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, v. 36, n. 1, p. 3–15, 2009.

BACH, Bryan H.; QUIGLEY, Ashling B.; GAYNOR, Kaitlyn M.; MCINTURFF, Alex; CHARLES, Kristin L.; DORCY, Janelle; BRASHARES, Justin S. Identifying individual ungulates from fecal DNA: a comparison of field collection methods to maximize efficiency, ease, and success. *Mammalian Biology*, v. 102, p. 863–874, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42991-021-00176-5>.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. L. *Regeneração natural e dispersão de sementes do imbuzeiro (Spondias tuberosa Arruda) no sertão de Pernambuco*. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009.

DUARTE, J. M. B. *Guia de identificação de cervídeos brasileiros*. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1996.

DUARTE, José Maurício Barbanti; REIS, Marcelo Lima. *Plano de ação nacional para a conservação dos cervídeos ameaçados de extinção*. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2012.

ENNIS, S.; GALLAGHER, T. F. A PCR-based sex-determination assay in cattle based on the bovine amelogenin locus. *Animal Genetics*, v. 25, p. 425–427, 1994.

FEIJÓ, A.; LANGGUTH, A. Mamíferos de médio e grande porte do Nordeste do Brasil: distribuição e taxonomia, com descrição de novas espécies. *Revista Nordestina de Biologia*, v. 22, n. 1/2, p. 3–225, 2013.

FELDHAMER, G. A.; MCSHEA, W. J. *Deer: the animal answer guide*. Baltimore: JHU Press, 2012.

FREITAS, Gezianne Lopes de. *Análise sistemática dos métodos de extração de DNA e dos agentes de preservação de amostras fecais em estudos genéticos com primatas não humanos*. 2022. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47132/tde-29032022-110813/>. Acesso em: 25 fev. 2026.

GIA – GRUPO INTEGRADO DE AQUICULTURA E ESTUDOS AMBIENTAIS. *Revista do GIA*, n. 5. Curitiba: GIA, 2021. Disponível em: https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2021/08/Revista_do_GIA_05.pdf. Acesso em: 25 fev. 2026.

GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J. E.; ORTEGA, J.; TALARICO, A. C.; BIDEGARAY-BATISTA, L.; GARCIA, J. E.; DUARTE, J. M. B. Identification of the endangered small red brocket deer (*Mazama bororo*) using noninvasive genetic techniques. *Molecular Ecology Resources*, v. 9, n. 3, p. 754–758, 2009.

GREEN, A. et al. DNA preservation: The impact of light exposure on long-term sample integrity. *Forensic Science Review*, v. 34, n. 3, p. 121–128, 2022.

ICMBIO – INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/cecav/>. Acesso em: mar. 2024.

JANABI, Ali H. D.; KERKHOF, Lee J.; MCGUINNESS, Lora R.; BIDDLE, Amy S.; MCKEEVER, Kenneth H. Comparison of a modified phenol/chloroform and commercial-kit methods for extracting DNA from horse fecal material. *Journal of Microbiological Methods*, v. 129, p. 14–19, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2016.07.019>.

JOHNSON, E. et al. UV light and DNA damage: mechanisms and consequences. *Mutation Research*, v. 843, n. 1, p. 35–41, 2019.

LIMA, Isabel Luiza de Melo Nunes Freire. *Filogeografia da espécie *Subulo gouazoubira* (Mammalia: Cervidae) na Caatinga*. 2023. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2023.

MAGALHÃES, Livia C. et al. In vitro development and mitochondrial gene expression in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) embryos obtained by interspecific somatic cell nuclear transfer. *Cellular Reprogramming*, v. 22, n. 4, p. 208–216, 2020.

MARTINS, L.; AMORIM, M. R. C.; CALDEIRA, A. J. R. Origem e importância filogenética do DNA mitocondrial. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, v. 2, n. 3, p. 2, 2021. DOI: 10.51161/rem/1942.

MELO, Luciana M. et al. The use of somatic cell nuclear transfer to obtain interspecific cloned embryos from brown brocket deer karyoplast and bovine cytoplasm: embryo development and nuclear gene expression. *Theriogenology Wild*, v. 1, p. 100001, 2022.

MELLO, Daniel Bezerra de. *Áreas importantes para conservação do último grande herbívoro da caatinga potiguar: o veado-catingueiro (Mazama gouazoubira)*. 2015. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

MOURA, et al. Caracterização dos períodos seco e chuvoso da cidade de Fortaleza (CE). *Ciência e Natura*, Santa Maria, v. 37, ed. especial SIC, p. 3–7, 2015.

OLIVEIRA, M. L.; DUARTE, J. M. B. Amplifiability of mitochondrial, microsatellite and amelogenin DNA loci from fecal samples of red brocket deer *Mazama americana*. *Genetics and Molecular Research*, v. 12, n. 1, p. 44–52, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/2013.January.16.8>.

PANNONI, S. B.; PROFFITT, K. M.; HOLBEN, W. E. Non-invasive monitoring of multiple wildlife health factors by fecal microbiome analysis. *Ecology and Evolution*, v. 12, n. 2, e8564, 2022. DOI: 10.1002/ece3.8564.


PEIXOTO SILVA AL, LIMA BA, FORMIGA VHAS, LIMA EF, SILVA FILHO GM, SILVA WI, SILVA JO, ALVARES FBV, VILELA VLR, FEITOSA TF. Survival and viability of *Toxoplasma gondii* oocysts under natural dry season conditions in the Brazilian semi-arid region. *Vet Res Commun*. 2025 May 7;49(4):191. doi: 10.1007/s11259-025-10757-1. PMID: 40332642.

PERES, P. H. de F. *Uso do espaço pelo veado-catingueiro (Mazama gouazoubira): uma comparação entre colares GPS e DNA fecal*. 2015. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

PINDER, L.; LEEUWENBERG, F. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). In: DUARTE, J. M. B. (Ed.). *Biologia e conservação de cervídeos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*. Jaboticabal: FUNEP, 1997. p. 60–68.

PRICE, S. A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; GITTLEMAN, J. L. A complete phylogeny of the whales, dolphins and even-toed hoofed mammals (Cetartiodactyla). *Biological Reviews*, v. 80, n. 3, p. 445–473, 2005.

- RANDI, E.; MUCCI, N.; CLARO-HERGUETA, F.; BONNET, A.; DOUZERY, E. J. A. Mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: speciation in *Cervus* and implications for conservation. *Animal Conservation*, v. 4, n. 1, p. 1–11, 2001.
- RIASAT ALI, F. et al. Comparing DNA degradation rates under different environmental conditions: a controlled study. *International Journal of Pharmacy Research & Technology*, v. 15, n. 1, p. 897–905, 2025. DOI: 10.55529/ijprt.500.
- ROON, D. A.; WAITS, L. P.; KENDALL, K. C. A quantitative evaluation of two methods for preserving hair samples. *Molecular Ecology Notes*, v. 3, n. 1, p. 163–166, 2003.
- SANTIAGO-PLATA, M. et al. Optimizing fecal DNA collection and storage techniques for noninvasive genetic sampling of river otters. *Wildlife Society Bulletin*, v. 49, 2025. DOI: 10.1002/wsb.1612.
- SANTOS, Vinícius Strabelli dos. *Avaliação da viabilidade do DNA de pelos coletados por armadilha para estudos genéticos populacionais de Mazama americana*. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2024.
- SILVA, Mirta Oliveira Gomes da. *Efeitos da temperatura e tempo de estocagem de fezes de Mazama juncunda no isolamento, viabilidade e cultivo celular*. 2025. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2025.
- SIQUEIRA, G. V. et al. Avaliação da integridade do DNA nuclear e do mitocondrial em pelos de veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) por PCR em tempo real. In: *XXX Semana Universitária da UECE*, 2025, Fortaleza.
- SRBEK-ARAUJO, A. C.; ALZUGUIR, L. de C. Use of latrines and territorial marking behaviors by *Subulo gouazoubira* in a remnant of the Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, v. 19, n. 3, p. 367–378, 2024.
- TABERLET, P.; WAITS, L. P.; LUIKART, G. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 14, n. 8, p. 323–327, 1999.
- TAYLOR, L. et al. UV radiation-induced DNA damage and its role in mutation formation. *DNA Repair*, v. 102, p. 105–113, 2021.
- TRENTINI, I. P. *Potencial impacto de um cervo invasor: distribuição potencial e sobreposição de habitat com cervídeos nativos*. 2024. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2024.
- WEBB, S. D. Evolutionary history of New World Cervidae. In: VRBA, E. S.; SCHALLER, G. B. *Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics, and conservation*. New Haven: Yale University Press, 2000.

	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
	Campus Sousa - Código INEP: 25018027
	Av. Pres. Tancredo Neves, S/N, Jardim Sorrilândia III, CEP 58805-345, Sousa (PB)
	CNPJ: 10.783.898/0004-18 - Telefone: None

Documento Digitalizado Ostensivo (Público)

TCC completo (ficha cartográfica e de aprovação)

Assunto:	TCC completo (ficha cartográfica e de aprovação)
Assinado por:	Vivian Meireles
Tipo do Documento:	Anexo
Situação:	Finalizado
Nível de Acesso:	Ostensivo (Público)
Tipo do Conferência:	Cópia Simples

Documento assinado eletronicamente por:

- **Vivian da Silva Rosa Velela Meireles, ALUNO (201918730012) DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA - SOUSA**, em 01/06/2026 11:18:50.

Este documento foi armazenado no SUAP em 01/06/2026. Para comprovar sua integridade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifpb.edu.br/verificar-documento-externo/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 1877521

Código de Autenticação: 31a2407a5f

