



Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia

– Edição Especial –

Técnicas para o Estudo de Primatas



SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOZOOLOGIA
WWW.SBMZ.ORG
2017-2019

Presidente: Paulo Sérgio D'Andrea
Vice-Presidente: Gisele Mendes Lessa del Giúdice
1º Secretária: Ana Lazar Gomes e Souza
2º Secretária: Fabiano Rodrigues de Melo
3º Secretário: Jorge Luiz do Nascimento
1º Tesoureiro: Diogo Loretto Medeiros
2º Tesoureiro: José Luis Passos Cordeiro

PRESIDENTES DA
SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOZOOLOGIA

1985-1991 Rui Cerqueira Silva
1991-1994 Maria Dalva Mello
1994-1998 Ives José Sbalqueiro
1998-2005 Thales Renato Ochotorena de Freitas
2005-2008 João Alves de Oliveira
2008-2012 Paulo Sergio D'Andrea
2012-2017 Cibele Rodrigues Bonvicino

Os artigos assinados não refletem necessariamente a opinião da SBMz.

**As Normas de Publicação encontram-se disponíveis em
versão atualizada no site da SBMz: www.sbmz.org.**

Ficha Catalográfica de acordo com o Código de Catalogação Anglo-Americano (AACR2).
Elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Documentação do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo.

Sociedade Brasileira de Mastozoologia.
Boletim.
Rio de Janeiro, RJ.
Quadrimestral.

Continuação de: Boletim Informativo. SBMz, n.28-39; 1994-2004;
Boletim Informativo. Sociedade Brasileira de Mastozoologia,
n.1-27; 1985-94.

Continua como:
Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia, n.40,
2005- .

ISSN 1808-0413

1. Mastozoologia. 2. Vertebrados. I. Título

“Depósito legal na Biblioteca Nacional, conforme Lei n° 10.994, de 14 de dezembro de 2004”.

Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia

PUBLICAÇÃO QUADRIMESTRAL

Rio de Janeiro, número 80, março de 2019

EDITORAS

Erika Hingst-Zaher – Instituto Butantan

Lena Geise – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

EDITORA CONVIDADA

Mariana Dutra Fogaça – Institut für Populationsgenetik, Vetmeduni Vienna

EDITORA EXECUTIVA

Marianne da Silva Bello – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

EDITOR EMÉRITO

Rui Cerqueira Silva – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

EDITORES ASSOCIADOS

Alexandra M. R. Bezerra	Museu Paraense Emilio Goeldi (MPEG), Belém, PA, Brasil.
Amelia Chemisquy	Centro Regional de Investigaciones Científicas y de Transferencia Tecnológica de La Rioja (CRILAR), Anillaco, Argentina
Mauricio E. Graipel	Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, Brasil
Renato Gregorin	Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil
Hugo Mantilla-Meluk	Facultad de Ciencias Básicas y Tecnológicas, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia
Fabiano Rodrigues de Melo	Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil

REVISORES

Os editores agradecem a colaboração dos revisores anônimos, cuja participação garantiu a qualidade da publicação.

O **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia** (ISSN 1808-0413) é uma publicação quadrimestral da **Sociedade Brasileira de Mastozoologia (SBMz)**, distribuído gratuitamente aos associados. Indivíduos e instituições que desejem informações sobre a inscrição na **SBMz** e recebimento do Boletim devem entrar em contato com sbmz.diretoria@gmail.com.

O desenho gráfico foi realizado por Airton de Almeida Cruz e a capa por Ana Lazar.

Mais informações disponíveis em: www.sbmz.org.

Capa: Mico-de-cheiro *Saimiri sciureus*. Antigo Hotel Ariaú Towers, Iranduba, AM (23/08/2017). Foto: Hudson Martins Soares.

Sobre a SBMz

A **Sociedade Brasileira de Mastozoologia (SBMz)** é uma sociedade científica, sem fins lucrativos, criada em 1985, com a missão de congregar, organizar e amparar profissionais, cientistas e cidadãos que atuam ou estão preocupados com as temáticas ligadas à pesquisa e conservação de mamíferos.

A **SBMz** tem como objetivo incentivar o estudo e pesquisa dos mamíferos, além de difundir e incentivar a divulgação do conhecimento científico desenvolvido no Brasil sobre os mamíferos. A **SBMz** também atua frente a órgãos governamentais, Conselhos Regionais e Federal de Biologia, e instituições privadas, representando e defendendo os interesses dos sócios, e atendendo a consultas em questões ligadas a mamíferos. Nossa Sociedade oferece e incentiva cursos de Mastozoologia em níveis de graduação e pós-graduação, além de conceder bolsas de auxílio financeiro para simpósios e congressos nacionais e internacionais. Além disso, ajudamos a estabelecer e zelar por padrões éticos e científicos próprios da Mastozoologia brasileira.

A **SBMz** foi fundada durante o “XII Congresso Brasileiro de Zoologia”, realizado em Campinas, em fevereiro de 1985. Desde então, a **SBMz** cresceu em número de sócios, e agora conta com congressos próprios bienais realizados nas diversas regiões do país, além do apoio e promoção de eventos regionais. Nossa sociedade conta com uma publicação própria intitulada **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, com 3 números anuais, classificada como B3 pela CAPES na área de Biodiversidade. Além disso, nossa sociedade atualmente mantém conta com parceria com a SAREM (Sociedade Argentina para o Estudio de los Mamíferos), fornecendo aos sócios a revista Mastozoologia Neotropical. A **SBMz** financia a publicação de livros acerca de mamíferos brasileiros para ser distribuído gratuitamente aos sócios.

Fazemos parte da Rede Latino-Americana de Mastozoologia (RELAM), o que abre portas para cooperação com pesquisadores de 12 países latino-americanos que fazem parte da rede. Integramos o Fórum da International Federation of Mammalogists (IFM), e também temos cooperação com a Sociedade Brasileira de Zoologia e Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros, facilitando a participação em congressos destas sociedades e promovendo o intercâmbio de informação entre seus associados.

Fruto da criação e organização proporcionadas pela **SBMz** ao longo desses anos, atualmente o Brasil apresenta uma comunidade científica mastozoológica madura e conectada, que congrega profissionais trabalhando em organizações e instituições públicas e privadas por todo país.

Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia Uma publicação da SBMz

INSTRUÇÕES GERAIS PARA AUTORES

O **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia** é um periódico publicado pela **SBMz** para os sócios quites, com propósito de funcionar como um meio de comunicação para a comunidade de mastozoólogos. O **Boletim da SBMz** publica artigos, notas e ensaios originais, revisados por pares, sobre temas relacionados à biologia de mamíferos.

Os manuscritos devem ser enviados por e-mail para bolsbmz@gmail.com, aos cuidados de Erika Hingst-Zaher e Lena Geise. A mensagem de e-mail enviada deverá conter uma declaração de que se trata de trabalho inédito, não submetido a outro periódico. Deverá especificar ainda se a contribuição se trata de uma nota, ensaio, artigo ou resumo. Os autores deverão indicar até cinco sugestões de revisores, com seus nomes e endereço eletrônico.

Os manuscritos enviados serão considerados para publicação, sob a forma de notas, artigos ou ensaios, seguindo o pressuposto de que os autores estão de acordo com os princípios éticos do **Boletim da SBMz** (ver os princípios no site da **SBMz**). O primeiro autor (ou o autor para correspondência) deverá, ao submeter o manuscrito, enviar o e-mail com cópia para todos os demais autores. Desta forma, será oficializada a concordância de todos os autores quanto à submissão/publicação do manuscrito no **Boletim da SBMz**. Neste mesmo e-mail deverá vir explicitado que o manuscrito é original, não tendo sido publicado e/ou submetido a outro periódico. No caso de resumos, é suficiente o envio do arquivo anexado à mensagem, já que este tipo de contribuição não passa pelo processo de revisão.

Os critérios para publicação dos artigos, notas e ensaios são a qualidade e relevância do trabalho, clareza do texto, qualidade das figuras e formato de acordo com as regras de publicação. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as regras aqui definidas, ou ainda se nenhum dos autores estiver com o pagamento da **SBMz** em dia, serão devolvidos sem passar pelo processo de revisão.

As submissões são direcionadas pelas Editoras aos Editores de Área, que os enviarão para pelo menos dois pares para revisão. Os Editores de Área retornam as revisões e recomendações para os Editores para a decisão final. Toda a comunicação será registrada por meio eletrônico entre os Editores e o autor correspondente.

Os trabalhos devem seguir o **Código Internacional de Nomenclatura Zoológica**, e espécimes relevantes mencionados devem ser propriamente depositados em uma coleção científica reconhecida. Amostras relacionadas aos exemplares-testemunho (tecidos, ecto e endoparasitas, células em suspensão, etc.) devem ser relacionadas a seus respectivos exemplares. Os números de acesso às sequências depositadas no **Genbank** ou **EMBL** são obrigatórios para publicação. Localidades citadas e exemplares estudados devem vir listadas de forma completa, no texto ou em anexo, dependendo do número de registros. É fundamental a inclusão, no texto, do número da Licença de Coleta e a concordância do Comitê de Ética da Instituição onde foram desenvolvidos os trabalhos, quando aplicável. Todos os textos, antes do envio aos editores de área ou revisores serão analisados quanto a sua originalidade, com o uso de programas para verificação de plágio.

Números Especiais: Também poderão ser publicadas monografias e estudos de revisão de até 350 (trezentas e cinquenta) páginas, individualmente. Como apenas um número limitado poderá ser publicado, autores devem entrar em contato com os Editores previamente à submissão. Números Especiais seguem as mesmas regras de submissão e revisão dos artigos, notas e ensaios. Considerando as despesas de impressão e envio, autores serão solicitados a contribuir com R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada.



Measuring fecal glucocorticoid metabolites of an endangered Neotropical primate: technical details of a physiological validation

Paula Bertoli^{1,2,*}, Laurence Culot¹, Rupert Palme³ & Olívia Mendonça-Furtado⁴

¹ Laboratório de Primatologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Rio Claro, Rio Claro, SP, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Rio Claro, Rio Claro, SP, Brasil.

³ Department of Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria.

⁴ Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência: paula.bertoli@gmail.com

Abstract: Measuring fecal glucocorticoid metabolites (FGM) has become a potent non-invasive tool in ethological studies and conservation biology of threatened species, including primates. However, species differences (among other factors) in excreted metabolites require an experimental validation of the applied method to prove that the enzyme immunoassay (EIA) protocol actually quantifies relevant hormone metabolites. Here, we performed such a physiological validation of an EIA to measure FGM of black lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*) through an ACTH challenge. We used six black lion tamarins (4 males and 2 females) kept in the Primatology Center of Rio de Janeiro (Brazil). We tested two different EIAs, and our results validate the cortisol EIA (measuring FGM with a 21-ol-20-one structure) for black lion tamarins. The time lag between ACTH challenge and detection of FGM peak was between 20 and 25 hours, and response duration lasted between 6 and 9 hours. This is the first physiological validation of an EIA protocol for the black lion tamarin. Our research shows how a physiological validation can be adapted to an endangered primate species, dealing with a low availability of individuals and ethical considerations linked to specific conservation status.

Key-Words: ACTH challenge; Black lion tamarins; *Leontopithecus*; stress.

Resumo: Medindo metabólitos fecais de glicocorticóides de um primata Neotropical ameaçado de extinção: detalhes técnicos da validação fisiológica. A quantificação de metabólitos fecais de glicocorticóides (MFG) tem se tornado uma ferramenta não invasiva importante em estudos etológicos e biologia da conservação de espécies ameaçadas de extinção, incluindo primatas. Dadas possíveis diferenças interespecíficas nos metabólitos excretados, uma validação experimental é necessária para provar que o protocolo de Ensaios Imunoenzimáticos (EIA) está realmente quantificando metabólitos de glicocorticóides. Aqui, foi realizada uma validação fisiológica do protocolo EIA para medir MFG de micos-leões-pretos (*Leontopithecus chrysopygus*) através de um desafio de ACTH. Foram utilizados seis micos-leões-pretos (4 machos e 2 fêmeas) mantidos no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (Brasil). Foram testados dois EIAs diferentes, e os resultados validaram o EIA-cortisol (medindo MFG com a estrutura 21-ol-20-one) para micos-leões-pretos. O tempo entre o desafio de ACTH e a detecção de um pico de MFG nas fezes foi entre 20 e 25 horas, e a resposta durou entre 6 e 9 horas. Esta foi a primeira validação fisiológica feita com um protocolo EIA para o mico-leão-preto. Esse trabalho mostra como uma validação fisiológica pode ser adaptada para uma espécie ameaçada de extinção, que apresenta baixa disponibilidade de indivíduos e considerações éticas relacionadas ao status de conservação.

Palavras-Chave: Desafio de ACTH; Mico-leão-preto; *Leontopithecus*; Validação fisiológica; Estresse.

INTRODUCTION

Animals have a suite of behavioral and physiological responses to cope with environmental, physiological, or psychological challenges (Romero, 2002; Romero, 2004; Sapolsky, 1990; Sheriff *et al.*, 2011; Touma & Palme, 2005). Meaningful stress events lead to the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA)

in vertebrates and this activation results in the release of glucocorticoid hormones from the adrenal cortex (Sapolsky *et al.*, 2000). Therefore, measurement of glucocorticoids has been used to investigate questions that involve stress, animal welfare, reproductive physiology, behavioral ecology, conservation biology issues and biomedical research in a high number of species, both in captivity and in the wild (Palme, 2012; Sheriff *et al.*, 2001).



Blood samples were initially used to quantify glucocorticoids, but the stress generated by the capture and contention of the subjects can bias the results. Therefore, researchers are now using non-invasive techniques through the measure of glucocorticoids (or their metabolites) from different matrices, such as urine, feces, and hair (Sheriff *et al.*, 2011). After release into the bloodstream, glucocorticoids are metabolized by the liver and kidneys and then excreted via feces and urine (Heistermann *et al.*, 2006; Wheeler *et al.*, 2013). Consequently, hormone metabolites are found in the feces, rather than the native hormone itself (Heistermann *et al.*, 2006). Furthermore, the metabolism and excretion of glucocorticoids can differ between species and even between sexes of the same species (Heistermann *et al.*, 2006; Touma *et al.*, 2003; Wheeler *et al.*, 2013). Differences in ingestion, metabolism, and defecation rate (among others) lead to species differences in the kind of metabolites presented and in the time lag between cortisol release by the adrenal cortex and the appearance of the hormone metabolites in the feces (Anestis, 2010; Wheeler *et al.*, 2013).

Since the method used to quantify FGM is an enzyme immunoassay based on cross-reactions between an antibody and the hormone metabolites (Möstl *et al.*, 2005), a validation experiment is necessary to ensure that the EIA used is indeed measuring relevant glucocorticoid metabolites. Due to the species differences mentioned above, this validation should be conducted for each species where FGM are measured. In addition, this kind of experiment aids unraveling the time needed by each species to metabolize and excrete cortisol (now as metabolites) into the feces (an important information for data analysis and for planning future experiments). Consequently, validating this method is a major step for an application in numerous fields of knowledge (Wheeler *et al.*, 2013).

There are two types of experiments to validate the EIA protocol: biological and physiological validations (Touma & Palme, 2005). The physiological validation is the most common and reliable method and consists of generating a significant alteration in circulating glucocorticoid levels pharmacologically then performing the EIA being tested and verifying if it can detect this alteration. Three drugs can be used in such an experiment: a) synthetic adrenocorticotrophic hormone (ACTH), which induces glucocorticoid release and, therefore, should provoke a peak of FGM levels; b) dexamethasone, a synthetic glucocorticoid that inhibits glucocorticoid release due to negative feedback, causing a decrease of FGM levels; and c) saline solution, used as a control for the experimental procedures (Touma & Palme, 2005). For a most reliable validation, it is suggested to use the three treatments, with several animals in each one (Touma & Palme, 2005). This process requires a large sample size and/or a permission procedure with the same animals, which sometimes is not possible, particularly when working with endangered primates. When the use of all three drugs is not possible, the best alternative is to perform only the ACTH challenge.

When some ethical problems arise and a physiological validation, even in its simplest form, is not possible, a biological validation may be used. This type of validation consists of measuring FGM before and after an unavoidable stressful event such as the contention, transportation or physical examination of the individuals (Touma & Palme, 2005). However, this process is sometimes inconclusive because the animals may be habituated to such procedures and this may not be stressful enough to detect clear peaks of FGM (Fanson *et al.*, 2017).

Both kinds of validations have been performed in numerous taxa of primates, such as chimpanzee (*Pan troglodytes*), gorilla (*Gorilla gorilla*), barbary macaque (*Macacas ylvanus*), long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*), common marmoset (*Callithrix jacchus*) (Heistermann *et al.*, 2006), spider monkeys (*Ateles hybridus*), red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) (Rimbach *et al.*, 2013), capuchin monkeys (*Sapajus* spp.) (Wheeler *et al.*, 2013), *Callithrix penicillata* (Pizzutto *et al.*, 2015), golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*), Goeldi's marmoset (*Callimico goeldii*), white-fronted marmoset (*Callithrix geoffroyi*) and pied tamarin (*Saguinus bicolor*) (Wark *et al.*, 2016). One threatened neotropical primate, the black lion tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*), has been the focus of both *in situ* and *ex situ* efforts for its conservation. In this light, a validation of the experimental protocol may be helpful to improve the welfare of the individuals kept in captivity and to determine the physiological condition of the *in situ* populations in different environments. In this way, the aim of this work was to validate an EIA experimental protocol (Palme & Möstl, 1997; Palme, 2005) for black lion tamarins.

MATERIAL AND METHODS

Subjects and housing conditions: The subjects of the experiment were six adult black lion-tamarins (four males and two females) (Table 1), previously habituated to the observer and kept in the Primatological Center of Rio de Janeiro (CPRJ), Guapimirim, RJ, Brazil. The CPRJ is located in the Três Picos State Park (Paraíso Center), an Ecological Reserve closed to visitation. The focal individuals were members of different social groups: a male-male pair, a male-female pair with an offspring in adult age (family) and a male-female pair with their twins, of which we only used the female. All the animals used in the experiment were considered healthy by the CPRJ staff.

Each group was housed in a 3.0 × 6.0 × 2.5 m enclosure containing tree branches and a sleeping box. The roof was covered with large tiles and the floor was covered by dried leaves. They received two meals in the morning; one at 8 a.m. composed by monkey chow or bread with vitamins dissolved in milk and, a second one at 11 a.m., composed of seasonal fruits (banana, apple, grapes, cucumber, orange, pineapple, and watermelon). Water was available *ad libitum* between 8 a.m. and 4 p.m.

**Table 1:** List of the individuals included in the validation experiment with their body mass, amount of injected ACTH and time of injection.

Individual	Housing condition	Studbook Number	Sex	Body Mass (g)	Amount of ACTH injection (ml)	Time of injection
F1	Family	#408	Female	600	0.18	11:09
F2	Male-female pair with their twins	#481	Female	650	0.18	11:47
M1	Family	#486	Male	650	0.18	11:15
M2	Family	#312	Male	700	0.21	11:00
M3	Male-male pair	#387	Male	680	0.18	11:24
M4	Male-male pair	#488	Male	710	0.21	11:35

Fecal marker assessment: As the individuals were housed together and could not be isolated because of CPRJ requirements, fecal markers had to be used to identify the feces of each individual. We tested five kinds of treats and seven colors of food coloring in search of the most suited combination. The treats tested were: balls of mashed banana with Neston (mix of cereals), oat flour and Farinha Lactea (in Portuguese – composed of wheat flour, dried milk and sugar), jellybeans, banana candy, dried grapes and larvae. Food colors were: green (gel arcolor/soft gel mix), black (soft gel mix), blue (soft gel mix), purple (gel arcolor), orange (gel arcolor), red (soft gel mix) and pink (Corallum mix/soft gel mix). For this experiment, we used the mashed banana treat and the green and pink food coloring due to their higher performance. Each individual received separately a colorful treat twice a day before their meals.

ACTH challenge and sample collection: As the animals were not removed from their enclosures for this experiment, there was no necessity to habituate them to new cages. The experiment lasted five days (from July 20 to July 24, 2016). Feces were collected during the two days preceding the ACTH injection, on the day of the ACTH injection and during the two days following the injection, to outline a FGM profile with previous and posterior basal levels, and ensure the sampling of FGM peaks. The individuals were observed every day from 6 a.m. (before leaving their sleep box) to 5 p.m. (after entering into their sleep box) and the fecal samples collected every hour from 7 a.m. to 5 p.m. During the time of the experiment, we did not find any sample from the nighttime. We collected 171 samples, an average of 34 samples per individual and placed them in polypropylene tubes, identified and stored in a freezer.

On the day of the ACTH injection (July 22), the individuals were captured and weighed with the help of the animal caretakers and the veterinarians. Based on the body mass of each individual, the veterinarians injected an intramuscular single dose of ~31 IU/kg of Synacthen (Tetracosactidehexaacetate) (Heinstermann *et al.*, 2006).

Steroid Extraction: The samples were transported to the Behavioral Endocrinology Laboratory of the Psychology Institute of the São Paulo University (USP). First, the samples were removed from the freezer and thawed at ambient temperature. All samples of each individual voided in the same 1-hour period were homogenized

with a spatula. An aliquot of 0.2 g was weighted by an analytical balance and transferred into a new propylene tube. Then, 2 ml of methanol 80% were added and the samples were vortex-mixed for 30 min. All the samples were centrifuged at 3,000 rpm for 10 min, and the supernatant was removed and stored in a new 2 ml polypropylene tube at -20°C. This extract was dried in a water bath coupled to an airflow and then transported to the Vetmeduni Vienna (Austria), where they were re-suspended in 2 ml of methanol (80%) before EIA analysis. More details about this method are available in Palme *et al.* (2013).

Enzyme immunoassays of fecal glucocorticoid metabolites: Before analyzing all samples, we tested two EIAs (cortisol EIA (Palme & Möstl, 1997) and 11-oxoetiocholanolone EIA (Möstl *et al.*, 2002)) in a subset of samples (all samples from F1 and M3): The cortisol EIA was the one chosen for subsequent analyses. Although cortisol itself is rarely present in the feces (Bahr *et al.*, 2002), this assay shows enough cross-reactivity with some of its metabolites (sharing a 21-ol-20-one structure; Heistermann *et al.*, 2006). We expressed the concentration of FGM in nanograms per gram of fresh fecal matter.

Data Analysis: We made a graph showing the FGM profile of each individual during the five days of experiment. To validate the method of FGM measurement, a pronounced peak of the FGM levels must appear (Rangel-Negrín *et al.*, 2014) after the ACTH injection. To detect these peaks, we calculated the following individual metrics: 1) “basal” – the FGM median of all samples two days before the injection; 2) “peak” – the highest FGM value after the ACTH injection (we considered peaks wild-outliers and outliers pointed by the boxplot graphics function in IBM SPSS 20 through an iterative removal process); 3) “increase rate” – rate between “peak” and “basal”; 4) “Latency” – period of time between the ACTH injection and the first (in case of more than one) “peak”; 5) “time to the first sample after the injection” – interval between the injection and the next fecal sample; 6) “Response duration” – time elapsed between the beginning of the first peak and the end of the last peak and; 7) “Peaks mean” – the mean of FGM value of all outliers and wild outliers.

This research complied with protocols approved by the Animal Research Ethics Committee (CEUA) of the Institute of Biosciences of the São Paulo State University (UNESP – Campus of Rio Claro) (protocol number 7733)



Table 2: Results from the ACTH challenges, with five black lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*) on the CPRJ/Guapimirim, RJ using a cortisol EIA (A1) described by Palme and Möstl (1997) and an 11-oxoetiocholanolone EIA (A2) described by Möstl *et al.* (2002).

	Antibody	Basal	Peak	Increase rate	Latency	Time to the first sample after the injection	Response duration	Peak's mean
F1	A1	390	8565	22	20 h	4 h	9 h	4926
F1	A2	999	3616	4	20 h	4 h	—	3452
F2	A1	305	4620	15	23 h	2 h	4 h	3428
M1	A1	53	1369	26	21 h	1 h	6 h	1417
M2	A1	90	2570	29	22 h	4 h	8 h	1455
M3	A1	349	2983	9	25 h	3 h	6 h	3685
M3*	A2	1428	3947	3	20 h	3 h	—	—
M4*	A1	255	8735	34	23 h	3 h	—	—

FGM values in (ng/g wet feces).

* did not show any outliers or wild outliers.

and the protocols of the System of Biodiversity Authorization and Information (SISBIO) (number 47658-4) from the Ministry of the Environment (MMA) and the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMbio) of Brazil.

RESULTS

The individuals voided the first fecal sample on average 3 hours after the injection (Table 2). Only the cortisol EIA was capable of detecting pronounced peaks after the ACTH injection in both individuals (F1 and M3; Fig. 1).

The increase ratio was on average 24-fold higher than the basal values. Latency between the ACTH injection and the peak was in between 20 and 25 hours and the median were 22.5 hours. The ACTH response duration lasted between 6 and 9 hours (Fig. 1A and B, Fig. 2).

According to the boxplot analysis, M4 was the only subject that did not present any peaks.

DISCUSSION

Results show that all animals assessed in this study had elevated FGM within 20 to 25 hours following the ACTH challenge. The comparison between the two EIAs used shows that the cortisol EIA is more sensitive than the 11-oxoetiocholanolone EIA, being the most suitable for black lion tamarins. This same antibody was the most suitable for another species of the Callitrichidae family, *C. jacchus* (Heistermann *et al.*, 2006).

Some aspects of the FGM response maintained the same pattern across the individuals (latency to the peak and time to the first sample after the injection) while others showed more inter-individual differences (basal and peak). For instance, one individual (Male 4)

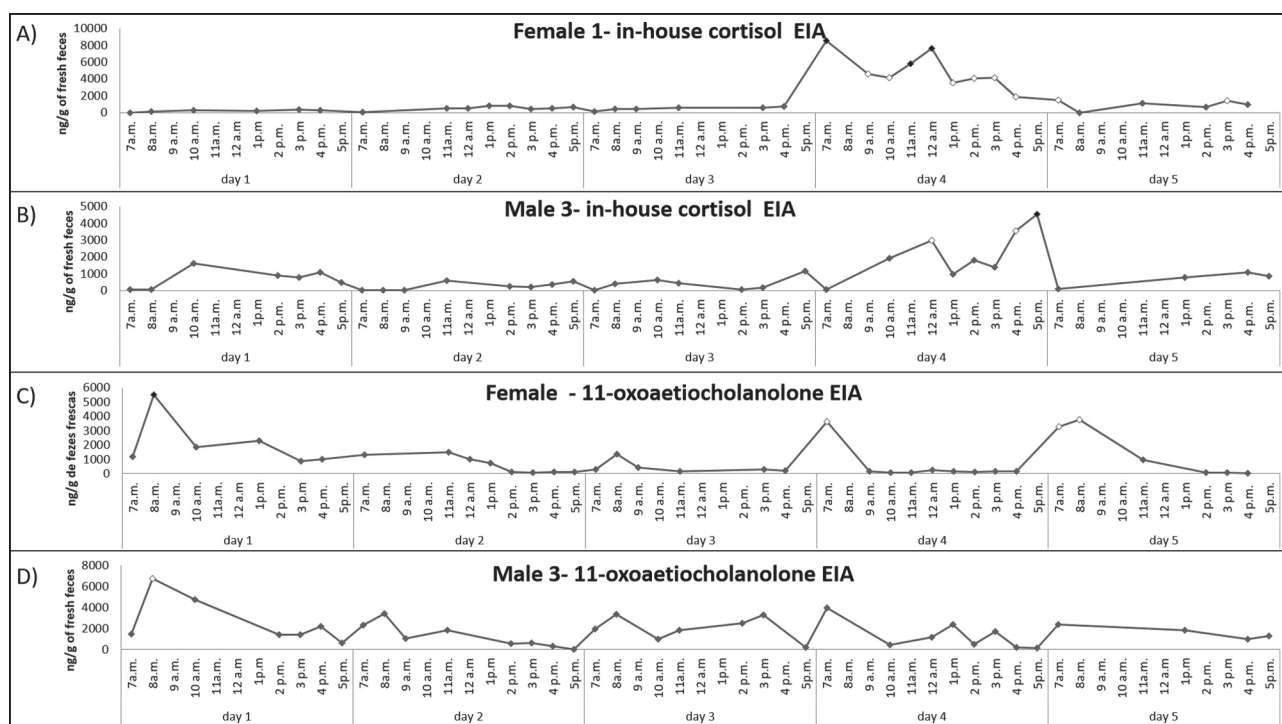


Figure 1: Temporal profile of concentrations of fecal glucocorticoid metabolites of female 1 and male 3 during the validation of the experimental protocol dosed with A) and B) cortisol EIA described by Palme and Möstl (1997) and, C and D) 11-oxoetiocholanolone EIA described by Möstl *et al.* (2002) respectively. The day and time of the injection are indicated by an arrow. Wild outliers are represented by black dots and outliers by white dots.



did not even show outliers or wild outliers in the days after the injection. However, in this specific case, it can be explained by its exacerbated response to the experimental procedure (or by the occurrence of other stressful events during the two days following the ACTH injection), resulting in elevated FGM levels throughout these two days. In addition, our experiment highlighted some differences between sex with regard to baseline levels and increase ratio: females seem to have higher basal levels, but smaller increase rate than males. However, our small sample size hinders any substantial conclusion.

The median value of time lag between the ACTH injection and the first peak was 22.5 hours (20 to 25 hours). Almost the same value was observed for *L. rosalia* after a biological validation (Wark *et al.*, 2016): 27.7 hours (22.3-49.2). In addition, when we compare our results to the ones presented by Wark *et al.* (2016), it seems that the capture added to the ACTH injection produced a prolonged effect in black lion tamarins with individuals presenting several samples with high FGM levels, while in the biological validation with *L. rosalia* most of the individuals had one single FGM elevation. Similarly, an ACTH challenge with *C. penicillata* showed a prolonged effect after the injection with most of the individuals showing several samples with high FGM levels (Pizzutto *et al.*, 2015). However, the latency to the peak was much shorter in this species (females: 8.75 hours, males: 9.25 hours, Pizzutto *et al.*, 2015) than in lion tamarins (Wark *et al.*, 2016; this study).

In relation to the fecal markers, we found that the most reliable colors were green and pink. The colors black, blue, and purple became green after a while (6 or 7 hours) and the orange and red could not be distinguished

in the feces. Furthermore, green and pink fecal markers were detected quickly and lasted at least 5 hours in the gut, losing effectiveness with time, which required that the treats were administered twice a day. We also tested several treats and discovered that jellybeans, banana candy, and dried grapes did not call their attention. Insect larvae were a more desired treat than mashed banana balls, being stolen from each other, which could compromise the experiment by the mixture of food coloring between individuals. Mashed banana balls turned out to be a good compromise between being tasteful and healthy (the other treats containing high levels of sugar).

Despite being an endangered species, with few captive individuals and a series of ethical limitations (impossibility to run tests on reproductive females, infants, and juveniles), it was still possible to perform an ACTH challenge (physiological validation). Therefore, even though our small sample size did not allow performing the full physiological test that requires two additional controls (dexamethasone and saline solution injections), we could achieve a reliable validation. Nevertheless, it would have been interesting to conduct a biological challenge to compare the difference between the responses and to evaluate sex differences. This was not possible because it would have implied the use of the same individuals, with an additional capture after a while, which was considered too invasive for an endangered primate species such as the black lion tamarin facing reproduction problems in captivity.

As a closing remark, it is important to highlight that this experiment validates the cortisol EIA presented by Möstl & Palme (1997). However, if one wishes to use another EIA to measure FGM in *Leontopithecus chrysopygus* another validation experiment must be conducted.

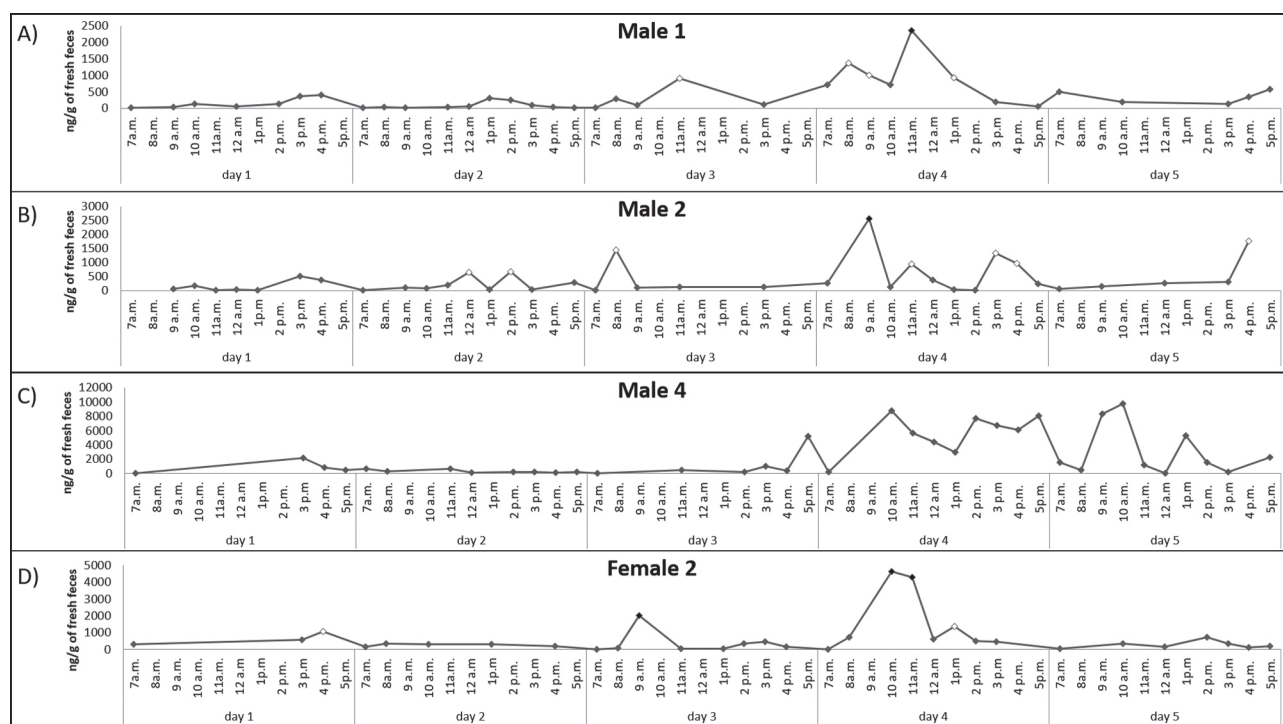


Figure 2: Temporal profile of concentrations of fecal glucocorticoid metabolites during the validation of the experimental protocol referring to A) "Male 1", B) "Male 2", C) "Female 2" and D) "Male 4". The day and time of the injection are indicated by an arrow. Wild outliers are represented by black dots and outliers by white dots.



ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Edith Klobetz-Rassam for help with steroid analyses. We are also very thankful to Renata Ferreira, Guilherme Gomes, and Patricia Izar, for their comments on previous versions of this work; to CPRJ employees, in particular, Dr. Alcides Pissinati and Dr. Silvia Bhandian, for helping us to carry out the research and Juninho and Té for their support throughout the experiment. This research was funded by FAPESP (LC: 2014/14739-0) and Capes (PB: DS and OMF: 13/1537).

REFERENCES

- Anestis SF. 2010. Hormones and social behavior in primates. *Evolutionary Anthropology* 19: 66-78. <http://doi.org/10.1002/evan.20253>.
- Bahr N, Palme R, Möhle U, Hodges K, Heistermann M. 2000. Comparative aspects of the metabolism and excretion of cortisol in three individual nonhuman primates. *General and Comparative Endocrinology* 117: 427-438. <http://doi.org/10.1006/gcen.1999.7431>.
- Fanson KV, Best EC, Bunce A, Fanson BG, Hogan LA, Keeley T, Narayan EJ, Palme R, Parrott ML, Sharp TM, Skogvold K, Tuthill L, Webster KN, Bashaw M. 2017. One size does not fit all: Monitoring faecal glucocorticoid metabolites in marsupials. *General and Comparative Endocrinology* 244: 146-156. <http://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.10.011>.
- Heistermann M, Palme R, Ganswindt A. 2006. Comparison of different enzyme immuno assays for assessment of adrenocortical activity in primates based on fecal analysis. *American Journal of Primatology* 68: 257-273. <http://doi.org/10.1002/ajp.20222>.
- Möstl E, Maggs J, Schrötter G, Besenfelder U, Palme R. 2002. Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. *Veterinary Research Communications* 26: 127-139. <http://doi.org/10.1023/A:1014095618125>.
- Möstl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 67-74. [http://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00146-7](http://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00146-7).
- Möstl E, Rettenbacher S, Palme R. 2005. Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: An analytical approach. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046: 17-34. <http://doi.org/10.1196/annals.1343.004>.
- Palme R. 2005. Measuring fecal steroids: Guidelines for practical application. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046: 75-80. <http://doi.org/10.1196/annals.1343.007>.
- Palme R. 2012. Monitoring stress hormone metabolites as a useful, non-invasive tool for welfare assessment in farm animals. *Animal Welfare* 21: 331-337. <http://doi.org/10.7120/09627286.21.3.331>.
- Palme R, Möstl E. 1997. Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. *International Journal of Mammalian Biology* 62: 192-197(Suppl. 2). <http://doi.org/10.1023/A:1014095618125>.
- Palme R, Touma C, Arias N, Dominchin MF, Lepschy M. 2013. Steroid extraction: get the best out of faecal samples. *Wien Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria* 100: 238-246.
- Pizzutto CS, Sgai MGFG, Francischini CP, Viau P, de Oliveira CA, de Barros Vaz Guimarães MA. 2015. Physiological validation of enzyme immunoassay of fecal glucocorticoid metabolite levels and diurnal variation measured in captive Black-tufted Marmoset *Callithrix penicillata* (Mammalia: Primates: Callitrichidae). *Journal of Threatened Taxa* 7(6): 7234-7242. <http://doi.org/10.11609/JoTT.o4099.7234-42>.
- Rangel-Negrín A, Flores-Escobar E, Chavira R, Canales-Espinosa D, Dias, PAD. 2014. Physiological and analytical validations of fecal steroid hormone measures in black howler monkeys. *Primates* 55: 459-465. <http://doi.org/10.1007/s10329-014-0432-4>.
- Romero LM. 2002. Seasonal Changes in Plasma Glucocorticoid Concentrations in Free-living Vertebrates. *General and Comparative Endocrinology* 128: 1-24. [http://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00064-3](http://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00064-3).
- Romero LM. 2004. Physiological Stress in Ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 249-255. <http://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>.
- Rimbach R, Heymann EW, Link A, Heistermann M. 2013. Validation of an enzyme immunoassay for assessing adrenocortical activity and evaluation of factors that affect levels of fecal glucocorticoid metabolites in two New World primates. *General and Comparative Endocrinology* 191: 13-23. <http://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.05.010>.
- Sheriff MJ, Dantzer B, Delehanty B, Palme R, Boonstra R. 2011. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* 166: 869-887. <http://doi.org/10.1007/s00442-011-1943-y>.
- Sapolsky RM. 1990. Stress in the Wild. *Scientific American* 262: 106-113.
- Sapolsky, RM, Romero ML, Munck AU. 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews* 21(1): 55-89. <http://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>.
- Touma C, Sachser N, Möstl E, Palme R. 2003. Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *General and Comparative Endocrinology* 130: 267-278. [http://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00620-2](http://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00620-2).
- Touma C, Palme R. 2005. Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046: 54-74. <http://doi.org/10.1196/annals.1343.006>.
- Wark JD, Amendolagine L, Lukas KE, Kuhar CW, Dennis PM, Snowdon CT, Schoffner T, Schook MW. 2016. Fecal glucocorticoid metabolite responses to management stressors and social change in four species of callitrichine monkeys. *Primates* 57(2): 267-277. <http://doi.org/10.1007/s10329-016-0514-6>.
- Wheeler BC, Tiddi B, Kalbitzer U, Visalberghi E, Heistermann M. 2012. Methodological Considerations in the Analysis of Fecal Glucocorticoid Metabolites in Tufted Capuchins (*Cebus apella*). *International Journal of Primatology* 34: 879-898. <http://doi.org/10.1007/s10764-013-9703-y>.

Submetido em: 15/julho/2017

Aceito em: 04/dezembro/2017



“Esse manauara merece respeito”: Percepção dos habitantes de Manaus sobre o sauim-de-coleira (*Saguinus bicolor*)

Victor Yunes Guimarães^{1,*}, Viviane Costa², Tiago da Silva Henicka³, Cristiane Hollanda Rangel⁴ & Romari Martinez⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP); Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Campus Botucatu, SP, Brasil.

² Instituto de Ciências Naturais, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil.

³ Secretaria Estadual de Educação de Mato Grosso (SEDUC-MT), Brasil.

⁴ Núcleo de Conservação da Fauna, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵ Departamento de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brasil.

* Autor para correspondência: medvetyunes@gmail.com

Resumo: O sauim-de-coleira (*Saguinus bicolor*) é um primata de pequeno porte, com distribuição geográfica reduzida. Essa espécie encontra-se na categoria “Em Perigo” de acordo com os critérios da IUCN e o crescimento exponencial da população humana de Manaus representa uma ameaça direta às populações desse primata. O objetivo deste trabalho foi avaliar a percepção de moradores de Manaus sobre o sauim-de-coleira. O levantamento de informações foi realizado através de entrevistas semiestruturadas e projetivas. Constatou-se que a população de Manaus conhece o sauim-de-coleira e que esse reconhecimento advém principalmente da mídia, mas também pelo contato visual, nos parques urbanos de Manaus; sendo associada, na maioria das vezes, a uma experiência positiva. Os resultados apontam que os entrevistados fizeram várias referências às ações concretas das campanhas de educação ambiental do “Ano do Sauim”, sugerindo um grau de sensibilização do público alvo. A população reconhece ser o desmatamento uma das principais ameaças à sobrevivência do calitriquídeo.

Palavras-Chave: Primatas; Percepção ambiental; Parques urbanos.

Abstract: “This manauara deserves respect”: perception of the residents of Manaus (AM) on the Brazilian Bare-faced Tamarin (*Saguinus bicolor*). The Brazilian Bare-faced Tamarin (*Saguinus bicolor*) is a small primate, with a limited geographical distribution. This species is classified as “Endangered” according to IUCN. The exponential growth of urban Manaus represents a direct threat to these primate populations. The goal of this study was to evaluate the perceptions of Manaus residents of *Saguinus bicolor*. We conducted a survey using semi-structured and projective interviews. We found that the people from Manaus can recognize *Saguinus bicolor*. Their knowledge comes mainly from the media, but also by visual contact in Manaus urban parks. It is usually associated to a positive experience. Results so far point to, the persons interviewed make several references to concrete actions of environmental education campaign of “Ano do Sauim”, it is therefore suggested a level of environmental sensitization. The population recognizes that deforestation is the major threat for the tamarin’s survival.

Key-Words: Primates, Environmental perception, Urban parks.

INTRODUÇÃO

A interferência antrópica e o crescimento demográfico no século XX têm causado a maior crise ambiental já enfrentada na história da humanidade (Sanderson *et al.*, 2002). Ao mesmo tempo, graças à globalização das comunicações, aparece nos seres humanos uma consciência ambientalista sem precedentes (Schulz & Zelezny, 1999). Assim, ter o apoio da opinião pública é fundamental para que esforços para o manejo e conservação de habitats e/ou espécies sejam efetivos, em longo prazo (Dietz & Nagata, 1997). Neste sentido, a educação ambiental tem

se tornado um excelente meio de conquistar o apoio e participação de diversos segmentos da sociedade para a conservação da biodiversidade (Pádua & Tabanez, 1997). Esse ramo interdisciplinar da ciência surge como resposta à necessidade de incorporar na sociedade um corpo de conhecimentos sobre a Terra e seus componentes bióticos e abióticos, com a finalidade de gerar uma transformação na forma de enxergar o significado do mundo natural para o homem, incorporando novos valores e atitudes no cotidiano das pessoas (Oliveira & Sato, 2006).

Para Dias (1994), os objetivos básicos da educação ambiental envolvem a sensibilização, a compreensão e



o real comprometimento com a temática ambiental, direcionados à melhoria da qualidade de vida, sendo que deve promover o desenvolvimento do conhecimento, de atitudes e de habilidades necessárias à preservação e à melhoria da qualidade ambiental. Deve também ser dirigida a diversos grupos de pessoas e concebida como um processo contínuo. Iniciativas em educação ambiental encontram-se frequentemente ligadas ao currículo escolar nos diferentes níveis de instrução formal, bem como a instituições de lazer, pesquisa e educação, como zoológicos e parque urbanos (Costa, 2004). Muitas dessas iniciativas, no contexto da educação ambiental, têm como eixo temático a conservação de primatas (Collins & Dunbar, 2000).

Os primatas brasileiros constituem um grupo carismático e ligado ao imaginário popular como seres inteligentes e “espertos”. As pessoas gostam dos primatas e, de maneira geral, seriam capazes de realizar mudanças na sua vida para beneficiá-los (Coelho *et al.*, 2006). Alguns primatas são altamente oportunistas e adaptáveis a ambientes antropizados, ganhando mais proximidade das populações humanas, com as vantagens e desvantagens que isso pode oferecer (Goulart *et al.*, 2010). Os membros da família Callitrichidae são conhecidos pela sua plasticidade adaptativa, colonizando ambientes perturbados e marginais (Rodrigues & Martinez, 2014). Ainda que, muitas vezes, se comportem como espécies pioneiras, podem sofrer sérios problemas com a fragmentação e degradação dos ambientes e populações, muitas vezes submetidos a condições ambientais sub-ótimas (Cerqueira *et al.*, 2005). Gordo (2012) afirma que a fragmentação de ambientes pode gerar perda de diversidade, alterações na composição das comunidades, mudanças de densidade populacional, invasão de espécies oportunistas e interferência no fluxo gênico.

Segundo dados do IBGE (2010), a cidade de Manaus, na Amazônia central, possui cerca de dois milhões de habitantes, e encontra-se entre os dez municípios mais populosos do Brasil, crescendo de maneira desordenada e exponencial. De acordo com Nogueira *et al.* (2007), o avanço desordenado da cidade de Manaus provocou perdas ao meio ambiente e ameaça diversas espécies nativas. Toda essa população humana demanda moradia e alimento, produzindo o efeito conhecido como “colcha de retalhos”, onde fragmentos de floresta encontram-se embutidos na malha urbana e junto a fragmentos em diferentes estágios de antropização, e que tem como consequências a diminuição da biodiversidade, redução e isolamento das populações de algumas espécies (Gordo, 2012; Noronha & Campista, 2015). Adicionando-se um fator agravante, de acordo com Marques & Pinheiro (2011), nos últimos 30 anos, a cidade de Manaus perdeu boa parte da sua floresta e, atualmente, a cidade de Manaus passa por um grande crescimento urbanístico, abertura de novas avenidas, construção de condomínios, construção de casas populares, shopping centers, novas indústrias, entre outros.

Uma das espécies, pertencentes à família Callitrichidae, que sofre com essas ameaças é o sauí-de-coleira, *Saguinus bicolor* (Spix, 1823). Esse primata de

pequeno porte encontra-se na categoria “Em Perigo” de acordo com os critérios estabelecidos pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*). Ao contrário da maioria das espécies do gênero, esta possui uma distribuição geográfica extremamente restrita (Figura 1), limitada a leste pela margem direita do rio Urubu, a oeste, pelas margens esquerdas dos rios Negro e Cuieiras, ao sul, pelos rios Negro e Amazonas e, ao norte, assume-se como limite uma linha no sentido leste-oeste, passando pelas campinaranas na margem esquerda do rio Cuieiras, pelo km 35 da BR-174 e pelos ramais Novo Milênio e ZF7, no município de Rio Preto da Eva (Gordo, 2012; Röhe, 2006; Röhe *et al.*, 2008).

Com o intuito de reduzir os impactos causados por essas interferências, foi criado o Plano de Ação Nacional para a Conservação do sauí-de-coleira (PAN). Dentre as iniciativas contempladas, a Meta 5 estabelece “a implantação de um programa de educação ambiental, visando reduzir a mortalidade em 50% decorrente de conflitos com comunidades humanas”. Com o objetivo de informar e sensibilizar a sociedade local quanto à importância da conservação desse primata, ao longo do ano de 2015, diversas atividades de educação ambiental foram realizadas em Manaus, no marco do “Ano do Sauí”, tais como palestras, informativos na mídia, outdoors, campanhas nas escolas, bicicletada ambiental, exposições fotográficas, panfletadas e jornadas de conscientização.

Durante as campanhas de educação ambiental do “Ano do Sauí”, além de eventos públicos em parques e outros locais, foram realizadas intervenções em comunidades e escolas pelo município de Manaus, abordando aspectos biológicos, bem como as principais ameaças que envolvem a espécie. Assim, teoricamente, pessoas da cidade toda tiveram contato direto ou indireto com algum evento relacionado à campanha. Será que os manauaras reconhecem o sauí como uma espécie endêmica da sua cidade? Se sim, saberiam identificar a origem desse conhecimento? Haverá consciência do perigo que enfrentam as suas populações?

Nosso trabalho visou captar a percepção de moradores de Manaus sobre o sauí-de-coleira (*S. bicolor*). De forma adicional, desejamos avaliar se essa percepção tinha sido influenciada pelas atividades de divulgação sobre a espécie realizadas na cidade, especialmente as desenvolvidas durante o ano de 2015. Saber o que o

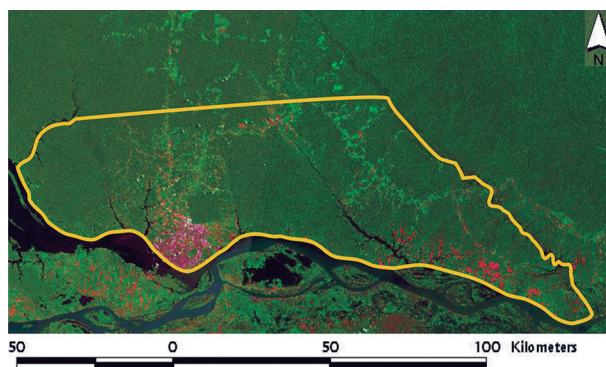


Figura 1: Distribuição geográfica do sauí-de-coleira *Saguinus bicolor* (Spix, 1823) (Fonte: Gordo, 2012).

cidadão de Manaus conhece e pensa sobre este símbolo da cidade é relevante para direcionar políticas públicas que favoreçam a convivência harmoniosa do homem com o meio natural. A percepção ambiental é a forma como as pessoas ou grupos enxergam, contam ou compreendem a natureza que lhes rodeia (Rosa, 2000). Isso dirige seu comportamento e dá forma à sua ética de vida, criando uma rede formada pelas ideologias contidas nos seus valores, como também pela bagagem cultural aprendida ao longo da vida. Nesse sentido, os parques urbanos, como o Mindu, oportunizam experiências positivas, harmônicas e contemplativas com a natureza (Machado *et al.*, 2013).

MATERIAL E MÉTODOS

Para a coleta de dados, optou-se pela abordagem utilizando entrevistas. Uma das principais vantagens deste tipo de abordagem é uma maior flexibilidade na coleta de informações, que permite ao pesquisador repetir ou esclarecer as perguntas com a garantia de estar sendo compreendido (Denker, 2000; Marconi & Lakatos, 1996). As entrevistas foram feitas em dupla, em que um integrante abordava o potencial entrevistado e, após solicitação de permissão iniciava-se a entrevista, enquanto o outro integrante da dupla registrava os relatos em planilha desenhada pela equipe (Figuras 2 e 3).

A aplicação de entrevistas foi realizada de forma anônima, num universo amostral de moradores maiores de idade, de ambos os sexos, residentes na cidade de Manaus por pelo menos um ano (segundo declaração do entrevistado), escolhidos por meio de amostragem não probabilística por conveniência. Somente foram entrevistadas pessoas que afirmavam ser residentes ou frequentadores assíduos nos locais amostrados. O roteiro de perguntas foi elaborado no intuito de indagar o conhecimento dos entrevistados sobre aspectos biológicos da espécie, a fonte dessa informação e as ameaças sofridas pelo sauíim-de-coleira. O referido roteiro foi acompanhado de três pranchas de fotografias, com resoluções e escalas semelhantes, para que o observador analisasse imparcialmente as imagens.

Com a primeira prancha esperava-se verificar a identidade do macaco com a cidade de Manaus. Para tanto foram utilizadas imagens de primatas não humanos exóticos à região, porém bastante conhecidos em nível nacional (*i.e.*, o mico-leão-dourado), além de imagens de personalidades públicas fortemente associadas à cidade de Manaus (Figura 4). A segunda prancha projetiva apresentava duas fotografias de igual tamanho do sauíim-de-coleira, lado a lado com *Saguinus midas*, espécie considerada potencial ameaça para as populações de *S. bicolor* (Figura 5). Essa última objetivou mensurar os sentimentos gerados pelo sauíim-de-coleira nos entrevistados, bem como comparações com seu congêneres *Saguinus midas*.

As pessoas foram questionadas sobre experiências diretas com o sauíim-de-coleira, o tipo de experiência e o local da mesma. De acordo com o tipo de experiência

(contato visual ou físico, alimentação, agressão, maltrato), ela era classificada como positiva (quando o desfecho foi percebido como positivo pelo entrevistado) neutra ou negativa (quando, por exemplo, houve agressão por parte do sauíim ao entrevistado ou vice-versa e, foi percebido como negativo no momento da entrevista). Por fim, as pessoas foram consultadas a respeito de situações percebidas por eles como ameaças à sobrevivência dos saúins.

A população foi entrevistada na rua, em dois locais pré-definidos: o Parque do Mindu e os arredores do Teatro Amazonas, no centro da cidade. O Parque do Mindu (03°04'51.29"S, 60°00'12.85"O, SAD69) é uma área verde, localizada na zona centro-sul da cidade, que abriga grupos estáveis de *S. bicolor* e é considerado um ponto de referência de lazer para os habitantes dessa região manauara. Esse local foi selecionado, pois nas suas dependências as equipes de educação ambiental, de diferentes setores da cidade, mantêm presença constante e foi especialmente marcante para várias atividades durante o "Ano do Sauíim" em 2015 (Figuras 6 e 7).

O centro da cidade, especificamente na região próxima ao Teatro Amazonas e Mercado Adolpho Lisboa (03°07'49,1"S, 60°01'24,3"O, SAD69), é uma área extremamente perturbada ambientalmente, com muito



Figura 2: Entrevista com morador manauara no centro da cidade de Manaus (Autor: Victor Yunes).



Figura 3: Entrevista com a população circulante no Parque do Mindu (Autor: Victor Yunes).

comércio e visitação turística. Embora não tenha ocorrido nenhuma ação específica em termos da campanha “Ano do Sauim”, esses locais são frequentemente visitados por grupos escolares e outros movimentos sociais e ambientalistas, que também fizeram eco da campanha. Porém, por não haver fragmentos de vegetação que pudessem abrigar grupos estáveis de sauins, esperava-se que as pessoas que frequentam aquela região tivessem um menor contato diário e, portanto, menos conhecimento ou interesse naquele pequeno primata.

O programa *Microsoft Office Excel*® foi utilizado para tabulação dos dados, elaboração dos gráficos e toda estatística realizada. Estatística descritiva foi utilizada para caracterizar as informações das entrevistas. Para avaliar a correlação entre experiências catalogadas como positivas e algumas variáveis categóricas dicotômicas (faixa etária, sexo) foi usado um coeficiente de correlação de Pearson (Phi) e para avaliar a relação entre percepções catalogadas como positivas e variáveis não dicotômicas foi realizado um teste de Qui-Quadrado.



Figura 4: Pannel ilustrativo utilizado durante a entrevista (Fonte: Google Imagens).



Figura 5: Pannel ilustrativo das espécies de primata da região (Autor: Diogo Lagroteria).

Este estudo foi realizado atendendo às considerações éticas da pesquisa, preconizadas pela CONEP e por órgãos internacionais de ética na pesquisa com seres humanos. Os entrevistados foram indagados sobre lembranças e experiências relativas a eventos acontecidos na cidade de Manaus no ano 2015, bem como a informações disponíveis nos meios de comunicação em massa, tanto audiovisuais, quanto na internet. Não houve acesso a informações que permitissem identificar os sujeitos da pesquisa e o conhecimento acessado não pode ser classificado como conhecimento ecológico local (CEL). Portanto, consideramos que não foram feridas as disposições legais da pesquisa no Brasil, ao não submeter ao SISBIO ou comitês de ética, em momentos prévios à coleta dos dados. Ainda ressaltamos, que o estudo não foi realizado em Unidades de Conservação, nem foi efetuado nenhum procedimento direto ou indireto envolvendo sauins-de-coleira, a não ser em desenhos, fotos ou imagens de livre acesso ou cedidas expressamente pelos autores.

RESULTADOS

Setenta e duas entrevistas com homens e mulheres, maiores de 18 anos, residentes em Manaus foram realizadas. Cinco entrevistas foram descartadas da análise por detectar, após a sua realização, que os entrevistados não preenchiam o perfil desejado (menores de 18 anos). Quanto à faixa etária, três categorias foram criadas: 18-30 anos, 31-40 anos e maiores de 40 anos, correspondendo respectivamente a 15 (22%), 26 (38%) e 27 (40%) entrevistas. Segundo o IBGE (2010), a maioria da população manauara maior de 18 anos encontra-se entre os 18 e 39 anos, o que somaria 60% dos entrevistados, em concordância com o perfil etário da cidade. Com relação ao gênero dos entrevistados, a proporção de entrevistas do sexo masculino foi de 49% ($n = 33$), enquanto do sexo feminino 51% ($n = 35$).

Quanto ao tempo em que os entrevistados residem em Manaus, 87% ($n = 59$) reside há mais de 10 anos, 9% ($n = 6$) de três a dez anos e 4% ($n = 3$) de dois a três anos. O menor tempo de moradia dos entrevistados foi de dois anos.

A maioria dos entrevistados ($n = 48$; 71%) reconheceu o sauim-de-coleira (*S. bicolor*) nas imagens mostradas. Não houve correlação entre idade ($\text{ChiSq} = 0,061$), tempo de residência ($\text{ChiSq} = 0,96$) ou sexo ($\text{Phi} = 0,17$) com o conhecimento do sauim. As associações mais comuns realizadas pelos entrevistados foram como sendo um primata (alguns usando a palavra macaco ou semelhante, em 38% dos casos) e 16% mencionaram a palavra “extinção” como uma característica do sauim. No intuito de traçar uma potencial origem desse conhecimento, os entrevistados foram indagados sobre a fonte das informações sobre os sauins. Observou-se que 47% dos entrevistados declararam ter visto matérias na “mídia” (TV e internet) como fonte de informação sobre a espécie. Um montante de 21% dos entrevistados declarou que outdoors, palestras, panfletos, exposições, presença no

zoológico e reuniões feitas com a comunidade foram às fontes do conhecimento adquirido. Estas fontes de informação, por serem de múltiplas origens e formatos, foram classificadas como “outros”.

Por outro lado, 32% dos entrevistados não soube dizer de forma precisa qual a fonte do conhecimento sobre os sauins. Durante as entrevistas, não foi possível avaliar especificamente se as fontes de conhecimento sobre o sauim foram acessadas durante o “Ano do Sauim” (2015) ou em anos anteriores, embora alguns eventos específicos, como a elaboração de mural de grafite ou a pedalada ecológica, realizados durante o “Ano do Sauim” tenham sido mencionados por alguns entrevistados. Podemos afirmar que, de maneira geral, os entrevistados no “Parque do Mindu” manifestaram estar em contato com fontes de informação sobre o sauim dentro do mesmo parque, visto que frequentam o local ao longo do ano.

Os entrevistados descreveram experiências diretas com o sauim-de-coleira em 43% dos casos, sendo 21% dos relatos como experiências pontuais, nos casos de encontros isolados ou que não se repetem com frequência. Dos entrevistados, 17 descrevem episódios de encontro com a espécie em parques na cidade de Manaus e 10 relatam encontros nas florestas próximas à cidade ou no zoológico local (Figura 8). Os parques urbanos são áreas verdes e espaços públicos importantes, em muitos casos fundamentais para promover o bem-estar de grandes áreas da cidade (Moraes *et al.*, 2014). São considerados



Figura 6: Bicicletada durante o Ano do Sauim (Autor: Diogo Lagroteria).



Figura 7: Atividade cultural realizada no Ano do Sauim (Autor: Diogo Lagroteria).



espaços não formais de educação, ou seja, locais onde possa ocorrer uma prática educativa não institucionalizada, já que não possuem infraestrutura logística para sustentar ações educativas de forma permanente, mas com planejamento e boa utilização podem vir a se tornar espaços para a construção científica (Ferreira & Fachin-Teran, 2014).

A partir dos relatos dos entrevistados, foi possível classificar as experiências de 27 dos entrevistados com *S. bicolor* como positivas/harmônicas (81,48%) e negativas/perturbadoras (18,51%). Não houve correlação estatística entre sexo ($\Phi = 0,15$), nem idade ($\chi^2 = 0,25$) e o teor da experiência. As experiências positivas incluem vê-los realizando comportamentos que inspiram sentimentos de afetividade (carregando os filhotes, se

alimentando nas árvores, pulando e brincando entre eles), comportamentos que podem ser relacionados com inteligência/esperteza ("roubando" biscoitos ou outros alimentos, interagindo com outros animais) e ter a possibilidade de contato muito próximo, seja alimentando diretamente com a mão ou observando indivíduos ditos "dóceis", há uma curta distância (dois entrevistados manifestaram inclusive ter "brincado" com um sauíim). As experiências negativas referem-se a ser mordido por um sauíim, sentir medo, repulsão ou estranheza devido a sua aparência ou ter visto o sauíim interagindo de forma agressiva com outro animal (especificamente brigando com um cachorro).

Com relação aos sentimentos inspirados pelo sauíim-de-coleira, 78% dos entrevistados manifestaram algum tipo de afetividade, demonstrada pela utilização dos adjetivos "bonito", "fofo", "amor", "simpático", "legal", "liberdade", "riqueza". No entanto, algumas expressões negativas foram registradas, tais como "bravo", "arisco", "feio", "fedido", "esquisito", "orelhudo", "cara-de-mau". Não houve correlação entre os sentimentos agrupados como "positivos" ou "negativos" e as categorias de idade ou sexo dos entrevistados.

As ameaças diretamente relacionadas ao sauíim-de-coleira também foram abordadas nesse trabalho. Em forma de respostas abertas, os entrevistados foram encorajados a relatar os motivos que possivelmente ameaçam a espécie (Figura 9). As três principais ameaças relatadas foram respectivamente o desmatamento ($n = 29$), a caça ($n = 12$) e os atropelamentos ($n = 11$). Outras ameaças foram relatadas como a criação do animal como "pet", a invasão de terras e queimadas também apontadas como causadoras de impacto sobre as populações da espécie.

Os manauaras, especialmente os de maior idade, têm lembrança e contato direto com as ações de desmatamento e destruição das áreas verdes da cidade para dar espaço ao desenvolvimento urbano. Aqueles que conviveram ou ainda convivem com grupos de sauíins e outros animais nativos percebem como a redução dos fragmentos florestais urbanos e periurbanos afeta a biodiversidade. Neste caso, mais uma vez, houve referências à mídia como geradora de informação, apontando a importância da difusão de conhecimento através dos meios de comunicação em massa, das parcerias de sucesso que podem ser estabelecidas com emissoras locais de rádio e TV, bem como "blogueiros" preocupados com a causa ambientalista da cidade.

DISCUSSÃO

Embora o nosso trabalho tenha caráter preliminar, consideramos que os dados coletados podem ser considerados um primeiro reflexo do conhecimento da sociedade manauara a respeito do sauíim-de-coleira e a sua localização no imaginário do cidadão comum de Manaus. O perfil dos nossos entrevistados segue a proporção registrada pelo IBGE (2010) para a cidade de Manaus, quanto à faixa etária e composição sexual, permitindo

Local da Experiência

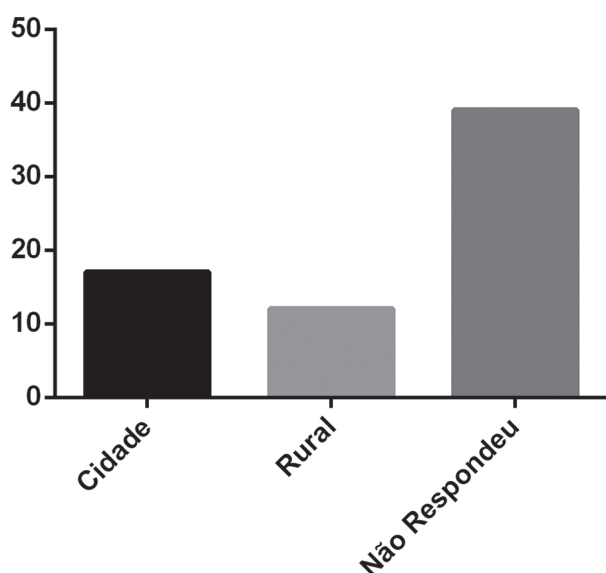


Figura 8: Local da experiência com sauíim-de-coleira.

Principais Ameaças

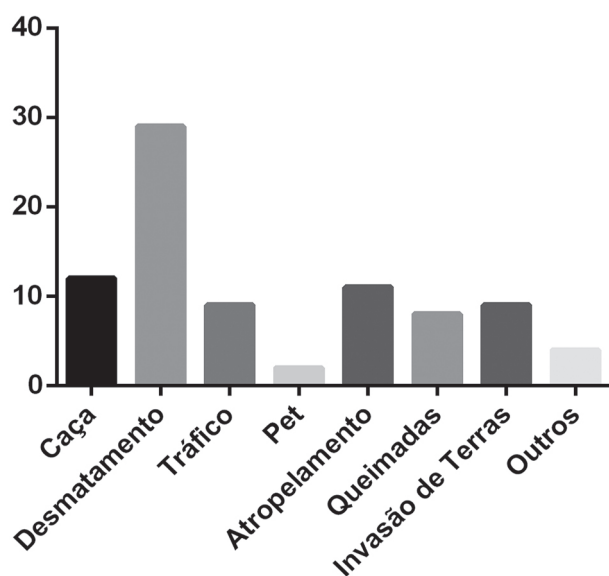


Figura 9: Principais ameaças ao sauíim-de-coleira na percepção dos entrevistados.



uma aproximação preliminar aos objetivos do presente estudo. O IBGE (2010) mostra também um predomínio da população feminina sobre a masculina na cidade, coerente com a proporção nas nossas entrevistas.

O tempo que os entrevistados já residem no município de Manaus influencia diretamente o perfil de respostas sobre a espécie alvo, uma vez que, quanto maior o tempo de moradia, maior a probabilidade de o entrevistado conhecer a espécie ou ter sido contemplado pelas ações de educação ambiental. No caso do presente estudo, não houve correlação entre o tempo de moradia na cidade e o fato de conhecer a espécie alvo. Todavia, visto que 87% dos entrevistados reside na cidade por mais de dez anos, é esperado que tivessem diversas oportunidades para interagir de forma direta ou indireta com os sauíns. Visto que o menor tempo de moradia entre os nossos entrevistados foi de dois anos contínuos na cidade, incluindo o ano 2015 inteiro (ano em que se realizaram as ações do “ano do sauí”), consideramos que há fidedignidade e validação nos resultados aqui apresentados.

A decisão de estratificar os entrevistados em faixas etárias arbitrárias obedece à necessidade de extrair informações pretéritas de contato com a espécie ou do conhecimento das ameaças relacionadas ao primata. Embora pessoas de maior idade tivessem mais oportunidades de entrar em contato direto ou indireto com os sauíns na cidade, pessoas mais jovens tem maior presença nas redes sociais ou na mídia, tendo, portanto, acesso também a conhecimento e informações veiculadas por estes meios. Assim, não enxergamos “vantagens”, por assim dizer, de nenhum dos grupos etários, na aquisição de conhecimento ou experiência com os sauíns. Isso se vê respaldado pela ausência de correlação entre essas variáveis.

Uma importante maioria dos entrevistados (69%), dentre os que reconheceram ao sauí, manifestou ter adquirido esse conhecimento de primeira mão, não através de relatos de outros. A origem desse conhecimento foi apontada em 47% dos casos como sendo através da mídia, caracterizada neste trabalho como mídia audiovisual (TV, rádio) e mídia eletrônica (internet) e dentre estas categorias, uma grande parcela (21 entrevistados) manifestou lembrar de ter visto na televisão informações sobre a espécie. Este registro é importante, já que a mídia local noticiou diversas ações realizadas durante o ano 2015, e foi liberado nesse mesmo ano, um documentário sobre os sauíns num canal de TV privado, com extensa entrevista a um pesquisador renomado do INPA, que foi citado por alguns entrevistados. A grande categoria “Outros” agrupa mídia impressa ou gráfica de diversas fontes, como grafites e outdoors, também usados durante a campanha como ações de educação ambiental.

Nesse sentido, segundo Ramos (1995), utilizando uma linguagem adequada ao nível de compreensão das massas, as mídias fornecem subsídios para que a sociedade se coloque diante de si mesma, numa perspectiva de avaliação de seu passado, da trajetória de seu desenvolvimento e da projeção de seu futuro. Portanto, pode

ser responsável pela ampla difusão de informações sobre a problemática ambiental, além de mostrar-se importante para a construção de caminhos que levem à solução dos conflitos de interesses políticos, econômicos e ambientais (Fernandes, 2001). As ações da campanha “Ano do Sauí” se esforçaram para dar ampla visibilidade e cobertura midiática a todas as ações públicas. Jornalistas foram chamados a participar dos eventos e notas de imprensa foram amplamente veiculadas durante cada ação realizada. Assim, a mídia converteu-se em multiplicadora do saber e da conscientização ambiental iniciada pela campanha. As provocações causadas pela mídia são necessárias à população de Manaus, uma vez que tem dado visibilidade ao sauí como um “legítimo manauara”, o que era um dos objetivos do “Ano do Sauí”.

O Parque Municipal do Mindu, em Manaus (AM), é utilizado pela Secretaria Municipal de Meio Ambiente (SEMMA) para iniciativas pontuais de educação ambiental envolvendo crianças e adolescentes da rede escolar, bem como comunidades periféricas ao Parque (Machado *et al.*, 2013). Os frequentadores do Parque são, em boa medida, moradores da vizinhança, que aprendem a apreciar e cuidar da natureza com a qual convivem diariamente. As ações relativas à campanha realizadas no Parque Mindu receberam difusão na mídia local e isso contribuiu para aumentar a empatia da população pela espécie alvo, ao compreender que era um habitante daquele espaço que já gerava um sentimento de pertencimento. Isso foi refletido em diversas falas, como “*o ambiente é deles, a alimentação vai ficando rara e afeta a sobrevivência*” (entrevistado Masculino, > de 40 anos, Parque do Mindu) ou “*a gente só gosta do que conhece*” (entrevistado Masculino, entre 31 e 40 anos, Centro). Embora alguns autores afirmem que a educação ambiental ainda não chegou às Unidades de Conservação da cidade de Manaus (Machado *et al.*, 2013), há iniciativas incipientes em torno da questão ambiental, sendo a Campanha “O Ano do Sauí” foi uma destas iniciativas; investindo tempo e esforço de diversos setores preocupados com a conservação dos sauíns e da biodiversidade manauara.

Novamente, é impossível atribuir o reconhecimento do sauí por parte da população a essa campanha específica. Porém, podemos sim dar importância à cobertura dada pela mídia para a difusão das ações ambientais relacionadas com o sauí, tanto as de caráter contínuo quanto pontual, como aconteceu durante o ano de 2015. Nossos resultados mostram que 47% dos entrevistados que conhecem o sauí identificam informação sobre a espécie na mídia. O papel da mídia em aumentar o valor dos sauíns como “legítimos manauaras” e aumentar a estima e carinho da população de Manaus pela espécie é inegável e merece ser louvado. Consideramos importante incentivar que outras campanhas de educação ambiental aproveitem o apoio da mídia local (emissoras de rádio e TV e blogs locais) para divulgar as ações e servir de multiplicadores de conhecimento e conscientização. Durante as entrevistas, notamos que a população local reconhece o sauí como legítimo manauara, da mesma forma que outros personagens ilustres do esporte e TV.



Criar sentimentos positivos na população humana a respeito de uma espécie ameaçada que compartilha os mesmos espaços urbanos é uma ferramenta multiplicadora das ações de conservação e proteção dessa espécie. Quanto mais sentimentos positivos a respeito dos saúns, mais protegidos eles estarão de ações em detrimento da sua conservação. Neste trabalho, a maioria dos entrevistados manifestou sentimentos positivos para os saúns. Palavras como “fofo”, “lindo”, “legal”, “simpático” ou “riqueza” denotam impressões positivas e associadas a características desejáveis em indivíduos com os quais se compartilham espaços de convivência.

Uma relação entre uma percepção de beleza e atitudes de proteção e cuidado também foram identificadas para outro calitríquideo, o sagui-de-Wied (*Callithrix kuhlii*) na cidade de Ilhéus (BA) (Rodrigues & Martinez, 2014). Sentimentos de beleza, compaixão, afeto e cumplicidade com os animais levaram 38% dos entrevistados a alimentar direta ou indiretamente os saguis de maneira regular. Hettinger (2007) explica que a beleza animal (considerada no sentido amplo, como qualquer sentimento esteticamente agradável) é um paradigma mundial, com extrema relevância para a preservação das espécies.

Especificamente com relação ao sauí-de-coleira, o contato tido no contexto salutar de um Parque, como o Mindu, pode contribuir para melhorar as chances de sobrevivência à espécie, pois as pessoas passariam a valorizar a presença e continuidade do sauí-de-coleira no seu entorno. Nossos resultados apontam para grande parte dos entrevistados ter vivido experiências diretas com o sauí, de teor positivo no contexto urbano. Notamos também, como associam o sauí a palavras que denotam apreço estético e empatia. Mesmo sem uma sustentação estatística, provavelmente, devido reduzido “n” amostral, consideramos que esses resultados reforçam a importância da manutenção dos fragmentos florestais urbanos com boa qualidade, para tornar viáveis as populações de *S. bicolor*.

Segundo Marinho Filho & Gastal (2001), os fragmentos urbanos são relevantes para a manutenção da mastofauna e servem de corredores para outros animais, permitindo a manutenção de altos níveis de diversidade biológica, fornecendo abrigo, alimento e água. Assim, os parques urbanos garantem ambientes ecologicamente benéficos para o sauí, e possibilidades de experiências positivas de interação não interferente com a natureza, para as pessoas. A maioria dos entrevistados conhece, reconhece e possui um sentimento positivo em relação ao sauí-de-coleira. Esse reconhecimento advém principalmente do aparecimento de notícias a respeito deste primata na mídia, mas também pelo contato (contemplação) ao visitarem os parques urbanos de Manaus.

Os entrevistados reconheceram o desmatamento como sendo a principal ameaça às populações do sauí. Os manauaras têm contato direto com as chamadas “invasões” ou “ocupações” recentes de áreas verdes, e percebem como a redução dos fragmentos florestais urbanos e periurbanos afetam aos saúns (Gordo *et al.*, 2013). Todas as associações (positivas ou negativas) que

possam ser feitas pelo cidadão comum, produto do conhecimento adquirido e as experiências com a fauna que lhe rodeia, são extremamente valiosas na hora de delinear estratégias de educação ambiental, pois orientam o direcionamento estratégico das ações a serem tomadas.

É interessante apontar que, mesmo os entrevistados que relataram nunca ter vivido interações diretas com um sauí, foram capazes de manifestar um sentimento inspirado pela espécie. As manifestações de simpatia pelos animais podem ser classificadas em uma escala de valor – geralmente inconsciente – cujo ápice é ocupado pelas espécies percebidas como as mais próximas do homem em função de diversos atributos, dentre os quais destaca a capacidade que lhes é atribuída de sentir emoções. Naturalmente, os mamíferos (e dentre os mamíferos, os primatas) ocupam uma posição elevada nessa hierarquia (Descola, 1998). Foi evidente nas entrevistas que os saúns são reconhecidos como primatas, portanto, detentores de um certo “parentesco” com a nossa espécie, o que garante um lugar privilegiado nos sentimentos humanos e que outorga às pessoas a responsabilidade do seu bem-estar. Isso foi evidenciado em algumas falas de entrevistados, por exemplo: “o homem tem que ter consciência que os bichos (referindo-se aos saúns) não devem pagar pelos erros de ninguém. Eles não têm culpa!” (Entrevistado #5, sexo masculino, 44 anos natural de Manaus, no Parque Mindu).

Uma avaliação sobre qualquer campanha de educação ambiental é um processo contínuo e duradouro. A presente pesquisa procurou apenas elementos para observar a presença de ações realizadas na campanha “Salve o Sauí” em Manaus, nas lembranças ou emoções dos manauaras. Percebemos que vários entrevistados fizeram referência às ações concretas dessa campanha, sugerindo um grau de sensibilização no público alvo, principalmente quando a mídia televisiva veiculava os eventos realizados. Esse cenário nos mostra que, de alguma forma, a parceria entre a campanha “Salve o Sauí” e a mídia tem sido uma fonte de disseminação de reconhecimento e conhecimento sobre o sauí-de-coleira à população de Manaus.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao INPA, em especial a Estação Biológica Ducke, pelo espaço para a realização do V Curso Brasileiro de Primatologia, no marco do qual este trabalho foi desenvolvido. A Sociedade Brasileira de Primatologia, o Margot Marsh Fund e o Centro de Primatas Brasileiros do ICMBio colaboraram com a realização do curso e do trabalho.

REFERÊNCIAS

- Butler J, Shanahan J, Decker D. 2003. Public attitudes towards wildlife are changing: an analysis of New York city residents. *Wildlife Society Bulletin* 31(4): 1027-1036.
- Cerqueira R, Brant A, Nascimento M, Pardini R. 2005. Fragmentação: alguns conceitos. In: Rambaldi DM, Suárez de Oliveira DA (Org.),



2005. Fragmentação de Ecossistemas: Causas, Efeitos sobre a Biodiversidade e Recomendações de Políticas públicas. Brasília: 2ª ed., MMA/SBF. 510p.
- Coelho JAPM, Gouveia VV, Milfont TL. 2006. Valores humanos como explicadores de atitudes ambientais e intenção de comportamento pró-ambiental. *Psicologia em Estudo* 11(1): 199-207.
- Costa G. 2004. Educação ambiental – Experiências dos zoológicos brasileiros. *Revista eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental* 13(2): 22-29.
- Colinshaw C, Dunbar R. 2000. *Primate conservation biology*. The University of Chicago Press, Chicago. 498p.
- Denker AF. 2000. Métodos e técnicas de pesquisa em turismo. São Paulo: Futura.
- Descola P. 1998. Estrutura ou Sentimento: a relação com o animal na Amazônia. *MANA* 4(1): 23-45.
- Dias GF. 2004. Educação ambiental, princípios e práticas. 9ª Edição, Editorial Gaia Ltda., São Paulo.
- Dietz LA, Nagagata E. 1997. Programa de conservação do mico-leão-dourado: Atividades de educação comunitária para a conservação da Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro. In: SM, Pádua MS, Tabanez MF (Ed.), *Educação Ambiental: Caminhos Trilhados no Brasil*. Ed. Gráfica e Fotolito Ltda, Brasília. 283p.
- Ditt EH, Mantovani W, Valladares-Padua C, Bassi C. 2009. Entrevistas e aplicação de questionários em trabalhos de conservação. In: Cullen JR L, Rudran R, Valladares-Padua C (Eds.), *Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre*. Editora UFPR, Curitiba. Cap. 23: 617-632.
- Fernandes FAM. 2001. O Papel da mídia na defesa do Meio Ambiente. *Revista Ciências Humanas*. Disponível em: <http://site.unitau.br/scripts/prppg/humanas/download/opapelmídia-N2-2001.pdf>. Acesso em: 02 de março de 2016.
- Gordo M. 2012. Ecologia e conservação do sauí-de-coleira (*Saguinus bicolor*). Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA. 142p.
- Goulart VDLR, Teixeira CP, Young RJ. 2010. Analysis of callouts made in relation to wild urban marmosets (*Callithrix penicillata*) and their implications for urban species management. *European Journal of Wildlife Research* 56: 641-649.
- Hettinger N. 2007. Animal beauty, ethics and preservation. *Environmental Ethics* 32: 115-134.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 2010. Censo demográfico da cidade de Manaus. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/painel/populacao.php.search=|manaus>. Acesso em: 02 de agosto de 2016.
- Machado JS, Souza CHM, Almeida FM. 2013. Educação ambiental nas UC em Manaus (AM): Um estudo de caso nos parques Municipal do Mindu e Estadual Samaúma. *InterSciencePlace* 26(1): 70-100.
- Mangini PR, Silva, JCR. 2007. Medicina da Conservação: Aspectos gerais. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL (Orgs.), *Tratado de animais selvagens – Medicina Veterinária*. 1 ed. Roca Ed. São Paulo v. 1: 1258-1268.
- Marconi MA, Lakatos EM. 1996. Técnicas de pesquisa: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração, análise e interpretação de dados. São Paulo: Atlas.
- Marques J, Pinheiro E. Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto – SBSR, Curitiba, PR, Brasil, 30 de abril a 05 de maio de 2011, INPE p. 2882.
- Marinho Filho J, Gastal ML. 2001. Mamíferos das matas ciliares dos cerrados do Brasil central. In: Rodrigues RR, Leitão Filho HF. *Matas ciliares: conservação e recuperação*. 2ª ed. São Paulo: EDUSP. p. 209-221.
- Nogueira A, Sanson F, Pessoa K. 2007. A expansão urbana e demográfica da cidade de Manaus e seus impactos ambientais. *Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Florianópolis, Brasil, 21-26 de abril, INPE*, p. 5427-5434.
- Noronha, IO. 2010. Percepção e Comportamento Sócio-ambiental: a problemática dos resíduos sólidos urbanos. Disponível em: <http://www3.mg.senac.br/NR/rdonlyres//ines.pdf>. Acesso em: 16 de novembro de 2010.
- Noronha M, Campista D. 2015. Sauí de coleira: a história de uma espécie ameaçada de extinção. Camirim Editorial, Manaus.
- Oliveira Jr. S, Sato M. 2006. Educação ambiental e etnoconhecimento: parceiros para a conservação da diversidade de aves pantaneiras. *Ambiente e Educação* 11: 125-137.
- Pádua S, Tabanez M. 1997. Educação ambiental: Caminhos trilhados no Brasil. Ed. Gráfica e Fotolito Ltda, Brasília.
- Ramos FA. 1995. Meio ambiente e meios de comunicação. Annablume/FAPESP, São Paulo.
- Richard A, Goldstein S, Dewar R. 1989. Weed macaques: the evolutionary implications of macaque feeding ecology. *International Journal of Primatology* 10: 569-594.
- Rodrigues N, Martinez RA. 2014. Wildlife in our backyard: interactions between Wied's marmoset *Callithrix kuhlii* (Primates: Callithrichidae) and residents of Ilhéus, Bahia, Brazil. *Wildlife Biology* 20(2): 91-96.
- Röhe F. 2006. Área de contato entre as distribuições geográficas de *Saguinus midas* e *Saguinus bicolor*: a importância de interações e fatores ecológicos. Dissertação (Mestrado em Ecologia). INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). 82p.
- Röhe F, Gordo M, Venticini EM. 2008. Geographical and ecological modeling on *Saguinus bicolor* and relationship with the parapatric *Saguinus midas* in Central Amazonia, Brazil. In: Conferência Científica Internacional Amazônia em Perspectiva Ciência Integrada para um Futuro Sustentável. LBA/PPBio/Geoma.
- Rosa LG, Leite VD, Silva MMP. 2007. Concepção de ambiente e Educação Ambiental de educadores e educadoras de uma escola de formação inicial em Pedagogia, nível médio. *Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental*. V. 18: Disponível em: <http://www.seer.furg.br/remea/article/view/3333>. Acesso em: 01 de março de 2016.
- Rosa LG. 2000. Educação Ambiental um caminho viável. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- Sanderson EW, Jaiteh M, Levy MA, Redford KH, Wannebo A, Woolmer G. 2002. The Human Footprint and the Last of the Wild. *BioScience* 52(10): 891-904.
- Schulz W, Zelezny L. 1999. Values as predictors of environmental attitudes: evidence for consistency across 14 countries. *Journal of Environmental Psychology* 19: 255-265.

Submetido em: 14/julho/2017

Aceito em: 11/dezembro/2017



Método de captura e sedação utilizado em um grupo de híbridos de *Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) em uma floresta urbana no Instituto Butantan, São Paulo

Beatriz Alves Braz^{1,2,*}, Mariana Dutra Fogaça^{2,3}, Gabriela Garcia Victorio², Luíza Gonzalez Ferreira², Viviane Nogueira da Silva^{2,4}, Alessandro Ferraz Abdo Bijjani⁵, Kamal Achoa Filho⁵ & Erika Hingst-Zaher²

¹ Instituto de Biociências (IB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

² Museu Biológico, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil.

³ Department of Genetics Population, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria.

⁴ Instituto de Psicologia (IP), Departamento de Psicologia Experimental, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência: beatriz.alves.braz@usp.br

* Beatriz Alves Braz, Mariana Dutra Fogaça, Gabriela Garcia Victorio, Luíza Gonzalez Ferreira e Viviane Nogueira da Silva contribuíram de forma semelhante durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Resumo: Para estudos etológicos é necessária a identificação individual de cada indivíduo do grupo. Algumas espécies de primatas possuem pouca variação interespecífica de coloração, impossibilitando seu reconhecimento individualizado. Apesar da marcação ser amplamente utilizada nestes casos, há poucos protocolos disponíveis em revistas especializadas. Saguís de vida livre no Instituto Butantan, São Paulo, foram capturados, sedados e marcados. Os saguís foram, primeiramente, habituados às armadilhas, apresentadas a eles em um local visitado diariamente pelos animais. Dentro e em volta destas armadilhas foram dispostos frutos. Após a fase de adaptação, os frutos foram colocados apenas dentro das armadilhas e, quando um ou mais saguís entravam, as portas das armadilhas eram fechadas manualmente, capturando-os. Os animais foram sedados por médicos veterinários, utilizando indução e manutenção em isoflurano, para biometria e implantação de microchips subcutâneos. Marcações formando diferentes padrões foram feitas com descolorante sem amônia e água oxigenada volume 40 nas caudas dos animais e colares de identificação com miçangas coloridas em diferentes combinações foram colocados em cada um.

Palavras-Chave: Saguís; Marcação; Isoflurano; Descolorante.

Abstract: Capture and sedation of a group of hybrids between *Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) in an urban forest at Instituto Butantan, São Paulo. Ethological studies demand the individual identification of each individual in the group. Some species of primates have little inter-specific color variation, hindering the recognition of each individual. Although individual identification is widely used there are few protocols available in specialized journals. Free-living marmosets at the Instituto Butantan, São Paulo, were captured, sedated and marked. The marmosets were first familiarized with the traps, which were presented to them in a place visited daily by the animals. We left fruit available inside and around the traps. After an initial adaptation phase the fruit were placed only inside the traps, and when one or more marmosets entered the traps the doors were closed manually capturing them. The animals were sedated by veterinary surgeons, using induction and maintenance in isoflurane, for the biometry and implanting of subcutaneous microchips. Each marmoset was marked with different patterns made with ammonia-free bleach combined with hydrogen peroxide 40 volumes on their tails, and identification collars with colored beads in distinct combinations.

Key-Words: Marmosets; Marking; Isoflurane; Bleach.

INTRODUÇÃO

O estudo do orçamento de atividades, dieta e escolha de substratos, ao longo de ciclos anuais e sazonais, permite compreender muitos aspectos do ciclo de vida

e da organização social de primatas não humanos, bem como as estratégias comportamentais que lhes permitem lidar com flutuações na oferta de recursos limitantes.

Os saguís pertencentes ao gênero *Callithrix* destacam-se dentre os primatas Neotropicais por



apresentarem flexibilidade comportamental relacionada à ecologia dos diversos ambientes que ocupam (Hilário & Ferrari, 2010; Martins & Setz, 2000), se adequando e sobrevivendo em áreas fragmentadas de florestas urbanas (Cunha *et al.*, 2006), onde a capacidade de explorar novos recursos ao longo do ano é particularmente importante.

O gênero *Callithrix* é formado por seis espécies de primatas endêmicos do Brasil, dentre elas *C. jacchus* e *C. penicillata*, popularmente conhecidos como sagui-de-tufo-branco e mico-estrela, respectivamente. A distribuição original de *C. jacchus* restringe-se a áreas de caatinga e mata atlântica no nordeste do Brasil, e *C. penicillata* é encontrado nos estados de Goiás, Minas Gerais a oeste da Mantiqueira, oeste da Bahia, nordeste de São Paulo, onde predominam a vegetação de cerrado e de caatinga (de Vivo, 1991). As duas espécies foram introduzidas na região sudeste como resultado do tráfico de animais silvestres, gerando híbridos que atualmente são os saguis mais facilmente encontrados em fragmentos de mata e áreas urbanas (Traad & Weckerlin, 2012).

É comum encontrar espécies exóticas de *Callithrix* introduzidas em áreas verdes em meio às cidades (Cunha *et al.*, 2006). No sudeste do Brasil, as espécies *C. jacchus* e *C. penicillata* encontram-se em muitas áreas onde a espécie *C. aurita* é autóctone, tanto em parques urbanos como em áreas de floresta secundária ao redor das cidades (Brandão & Develey, 1998; Olmos & Martuscelli, 1995). Na cidade de São Paulo, os híbridos das duas espécies são comuns e pouco se sabe sobre os impactos que causam na comunidade local. Por outro lado, raramente discutem-se as características comportamentais e fisiológicas que permitem sua grande adaptabilidade ao ambiente urbano ou antropizado. O conhecimento sobre ecologia e comportamento é fundamental para escolha de ações de manejo e conservação da biodiversidade, já que apenas com base nessas informações se pode estabelecer prioridades no manejo de parques, fragmentos de mata e matas urbanas.

Apesar dos avanços na compreensão da ecologia e do comportamento de *Callithrix* em vida livre, observa-se, ainda, uma grande lacuna em relação à ecologia entre as áreas e espécies estudadas, e uma das causas desta lacuna se dá em decorrência da falta de métodos testados para individualizar e acompanhar os grupos nos diversos ambientes que ocupam. A realização de procedimentos para identificar os saguis para realização de estudos ecológicos e comportamentais é bastante comum (*e.g.*, Alonso & Langguth, 1989; Campenni *et al.*, 2015; Cutrim, 2007; Silva, 2015); contudo, o protocolo de captura, anestesia e marcação não é foco de divulgação das revistas especializadas. Informações deste tipo são importantes para que formas mais efetivas de sedação e marcação de baixo custo sejam desenvolvidas e possam ser aplicadas em maior número de estudos.

Para a realização de estudos sobre a ecologia de um grupo de *Callithrix* em ambiente urbano, na floresta do Instituto Butantan, área situada na zona oeste da cidade de São Paulo, percebeu-se a necessidade de reconhecimento individual dos animais, pois as diferenças

na organização da coloração não são suficientes para identificar com precisão cada um dos membros do grupo. Além disso, os saguis passam parte do dia próximos às copas das árvores, o que dificulta a visualização de características morfológicas que poderiam ser usadas para que os pesquisadores possam diferenciar os indivíduos. Adicionalmente, como apontado por Altmann (1974), a tendência de evidenciar comportamentos que se destacam em estudos de observação de grupos pode levar a um viés amostral. A captura, sedação e marcação dos indivíduos do grupo a ser estudado mostrou-se, portanto, fundamental para os estudos subsequentes.

O objetivo do presente trabalho é descrever as técnicas utilizadas com sucesso para capturar, sedar, realizar biometria e marcar uma família de saguis livres, identificando-os individualmente para a realização de estudos de comportamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram capturados, sedados e marcados indivíduos de um grupo de saguis híbridos entre as espécies *C. jacchus* e *C. penicillata*, composto por nove indivíduos sendo um casal reprodutor, cinco machos adultos e dois infantes.

A presente pesquisa foi realizada no parque do Instituto Butantan, em um fragmento de floresta secundária de cerca de cinco hectares com presença marcada de espécies vegetais exóticas invasoras (Hingst-Zaher & Teixeira-Costa, 2017).

Este trabalho compre com a lei brasileira e padrões éticos (SISBIO 57607). Para a captura dos animais adaptamos os procedimentos descritos por Suscke (2014) em capturas de macacos-prego de peito amarelo na Reserva Biológica de Una (Rebio-Una), no sul da Bahia. Também foram adaptados métodos usados por pesquisadores no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Cristiane Rangel, comunicação pessoal), com saguis em diversas localidades no estado de São Paulo (Laurence Clout, comunicação pessoal) e com primatas do gênero *Saguinus* no Centro de Investigación y Capacitación Rio Los Amigos (CICRA) (Luíza Gonzalez Ferreira, comunicação pessoal).

Primeiramente ocorreu a fase de habituação, em que as armadilhas foram colocadas, abertas, em uma área frequentemente visitada pelo grupo. Consideramos que os animais estavam habituados com as armadilhas quando eram capazes de se aproximar delas, explorando ao redor e interior. Nesta fase, foram instaladas três armadilhas, que permitiam que os saguis entrassem e se movimentassem. As armadilhas eram grandes o suficiente para que, ao se colocar um pedaço de comida dentro, o acesso ao alimento só fosse possível com a entrada do animal. As armadilhas foram instaladas com as portas abertas e travadas, e com bananas e mangas distribuídas dentro e fora. Após uma semana de habituação, tempo em que os saguis já entravam frequentemente nas armadilhas, iniciou-se a fase de captura.

Nesta segunda fase foram utilizadas oito armadilhas, cada uma com duas bananas como isca no fundo,



de forma a atrair, mas também restringir a quantidade de comida à qual os indivíduos capturados teriam acesso. Foram utilizados tipos diferentes de armadilhas, algumas com aparatos que diminuíam a visibilidade tanto de dentro quanto de fora, e outras sem nenhum impedimento visual. O fechamento das portas das armadilhas se deu através de barbantes que eram puxados manualmente, assim que um ou mais indivíduos do grupo entravam em uma delas.

Após a captura seguiu-se a fase de anestesia, biometria e marcação dos animais. Assim que um sagui era capturado, a armadilha era coberta com um pano escuro e colocada em uma sala vazia, de forma a minimizar o estresse a que os animais eram submetidos. Os animais foram anestesiados pelos veterinários, e contidos individualmente com auxílio de luvas e panos até que a anestesia fizesse efeito. Para otimizar o tempo de retorno da sedação, optou-se por utilizar um vaporizador de isoflurano calibrado, com a indução do fármaco feita a 100% de oxigênio com isoflurano a 4%. Durante a manutenção anestésica, os animais tiveram seus sinais vitais monitorados enquanto era realizada a coleta de dados biométricos (peso, comprimento da cauda e do corpo, circunferência torácica, circunferência da cabeça, medidas de comprimento do pé e da mão, comprimento dos caninos).

O peso em quilogramas foi obtido em balança digital de duas casas decimais (*Digital Scale, SF-400*), as medidas de circunferência, comprimento de cauda e corpo com cauda foram feitas através de fita métrica, e medidas de comprimento de pé, mão e caninos através de paquímetro. O sexo foi determinado através de análise visual e exposição do órgão genital. Após a determinação do sexo foram realizados os procedimentos de identificação através de colares e descoloração da cauda e inserção de microchips subcutâneos. O tempo levado para as medições e marcações foi de aproximadamente 5 minutos para cada indivíduo.

Na quarta fase, os animais foram reintroduzidos no ambiente silvestre. Após os procedimentos, os animais foram mantidos em oxigênio a 100% até seu retorno da anestesia, que ocorreu em cerca de 2 minutos. Foram então recolocados nas armadilhas até que acordassem completamente e tivessem seu equilíbrio restaurado, o que ocorreu em aproximadamente 10 minutos depois que foram retirados da anestesia. Cada animal foi transportado, dentro das armadilhas, até o lugar em que foi capturado, e as armadilhas foram então abertas permitindo a saída rápida dos saguis. Após 24 horas da soltura dos animais o grupo foi localizado e acompanhado, para avaliar possíveis efeitos da captura.

A marcação individual foi feita de duas formas: utilizando um colar padronizado com três contas coloridas identificando sexo, grupo e indivíduo (Watsa *et al.*, 2015). Utilizou-se colares de nylon e de fio encerado, para que se pudesse testar o material mais efetivo. O segundo método foi a descoloração da cauda com padrões individuais (ex.: descolorindo apenas a ponta da cauda de um indivíduo, ponta e uma faixa de outro indivíduo, a ponta e duas faixas em um terceiro indivíduo e

assim por diante), através de descolorante sem amônia e água oxigenada volume 40, previamente preparado. Tais identificações foram escolhidas para melhor identificação dos indivíduos, tanto de frente quanto de costas, e, particularmente, quando os indivíduos são vistos do solo quando estão nas copas das árvores, sendo o colar um complemento à marcação da cauda. Os trabalhos foram realizados com licença SISBIO 57607.

RESULTADOS

Cinco indivíduos do bando foram capturados, sendo todos machos adultos. Os filhotes não foram capturados (por serem muito jovens, não seriam marcados e sedados) e o casal reprodutor não entrou nas armadilhas, não sendo possível capturá-los. As armadilhas foram consideradas adequadas, principalmente as que não impediam a visão dos saguis.

O plano anestésico desejado foi alcançado em cerca de 40 segundos e a manutenção ocorreu com isoflurano a 2%. A sedação deste tipo é considerada pouco invasiva, por não utilizar fármacos injetáveis, não havendo resíduos no organismo dos animais. Além disso, o retorno anestésico de fármacos voláteis não possui rebote, de forma que sua influência cessa assim que o sedativo é retirado. Quanto à marcação, consideramos que a descoloração da pelagem é adequada para este tipo de estudo. Nenhum dos colares colocados permaneceu mais de dois dias nos indivíduos; já a marcação das caudas permaneceu mesmo após cinco meses da captura, continuando bem visível mesmo a mais de 10 metros de distância ou nas copas de árvores.

DISCUSSÃO

A metodologia, aplicada de forma experimental, mostrou-se adequada para *Callithrix* tanto no que diz respeito à captura e sedação quanto à marcação, e pode ser empregada para outros primatas com mesmo porte. Destacam-se a seguir alguns detalhes relativos aos métodos empregados: observou-se que armadilhas que oferecem uma maior amplitude de visão deixam os saguis mais confortáveis, ficando mais confiantes para entrar nas armadilhas e menos propensos a correr, caso ouçam algum barulho ou percebam alguma movimentação à sua volta. O fato de membros do grupo serem capturados não inibiu os demais de entrarem nas outras armadilhas.

A comparação entre os diferentes métodos de marcação, a descoloração e o uso de colar com contas, mostrou que o primeiro é mais eficiente. As marcações feitas com o descolorante são de baixo custo e mais visíveis, inclusive quando os saguis se encontravam na copa das árvores. São também duradouras, tendo ficado visíveis por mais de cinco meses após o procedimento. A marcação com os colares não foi muito eficiente: 24 horas depois, apenas um dos cinco indivíduos marcados ainda portava o colar.



Dias depois, os indivíduos capturados ainda exibiam um comportamento particular, estando mais ariscos do que o normal com as pesquisadoras que participaram das atividades de captura e sedação. A partir dessa observação, que indica que os saguis associam as pessoas com a captura, sugere-se que apenas os pesquisadores que não estejam envolvidos nos estudos de comportamento devem realizar a captura e marcação, e que maiores cuidados devem ser tomados quanto à camuflagem dos pesquisadores que irão manipular os saguis, para que os dados coletados não sejam influenciados por comportamento agonístico relacionado à possível identificação do captor.

Considerando a falta de informação sobre métodos de captura, este artigo é de extrema importância para disponibilizar protocolos testados de captura e marcação de primatas, otimizando o trabalho de captura e anestesia, disseminando o conhecimento sobre métodos menos invasivos, aumentando, assim, o bem-estar animal e a qualidade de pesquisas que precisam do reconhecimento individual de primatas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto Butantan por permitir que nossa pesquisa fosse realizada no Horto Oswaldo Cruz, agradecemos também a todos que emprestaram as armadilhas e as pesquisadoras Laurence Culot, Bruna Lopes e Cristiane Rangel pela troca de ideias sobre métodos de captura e marcação.

REFERÊNCIAS

- Alonso C, Langguth A. 1989. Ecologia e comportamento de *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) numa ilha de Floresta Atlântica. *Revista Nordestina de Biologia* 6(2): 105-137.
- Altmann J. 1974. Observational study of behavior sampling methods. *Behaviour* 49: 227-267.
- Brandão LD, Develey PF. 1998. Distribution and conservation of the buffy tufted-ear marmoset, *Callithrix aurita*, in lowland coastal Atlantic forest, southeast Brazil. *Neotropical Primates* 6(3): 86-88.
- Campenni M, Manciooco A, Vitale A, Schino G. 2015. Exchanging grooming, but not tolerance and aggression in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *American Journal of Primatology* 77(2): 222-228.
- Cunha AA, Vieira MV, Grelle CEV. 2006. Preliminary observation on habitat, support use and diet in two non-native primates in an urban Atlantic forest fragment: the capuchin monkey (*Cebus* sp.) and the common marmoset (*Callithrix jacchus*) in the Tijuca forest, Rio de Janeiro. *Urban Ecosyst* 9: 351-359.
- Cutrim FHR. 2007. Aspectos do cuidado cooperativo em dois grupos de *Callithrix jacchus* selvagens. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.
- Hilário RR, Ferrari SF. 2010. Feeding ecology of group of buffy-headed marmoset (*Callithrix flaviceps*): fungi as a preferred resource. *American Journal of Primatology* 75: 515-521.
- Hingst-Zaher E, Teixeira-Costa L. 2017. Raízes do paisagismo no Butantan: o Horto Oswaldo Cruz e a contribuição de F.C. Hoehne. *ANAP. Patrimônio, Paisagem e Cidade* 1: 101-127.
- Martin MM, Setz EZF. 2000. Diet of buffy tufted-eared marmosets (*Callithrix aurita*) in a forest fragment in Southeastern Brazil. *International Journal of Primatology* 21(3): 467-477.
- Martins WP. 2010. Densidade populacional e ecologia de um grupo macaco-prego-de-crista (*Cebus robustus*; Kuhl, 1820) na Reserva Natural Vale. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- Olmos F, Martuscell P. 1995. Habitat and distribution of buffy tufted-ear marmoset *Callithrix aurita* in São Paulo State, Brazil, with notes on its natural history. *Neotropical Primates* 3(3): 75-79.
- Silva LZ. 2015. Ecologia e comportamento de *Callithrix penicillata* (E. Geoffroy, 1812) introduzidos em fragmento urbano na ilha de Santa Catarina. Trabalho de Conclusão de Bacharelado em Ciências Biológicas, Programa de Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.
- Suscke P. 2014. Socioecologia de *Sapajus xanthosternus* na Reserva Biológica de Una, sul da Bahia. Tese de doutorado em Psicologia (Psicologia Experimental), Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Traad RM., Weckerlin P. 2012. Introdução das espécies exóticas *Callithrix penicillata* (Geoffroy, 1812) e *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) em ambientes urbanos (Primates: Callitrichidae). *Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade* 2(1): 9-23.
- de Vivo M. 1991. Taxonomia de *Callithrix* Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates). Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte.
- Watsa M, Erkenwick GA, Halloran D, Kane EE, Poirier A, Klonoski K, Cassalet S, Maciag E, Mangalea MR, Dinsmore MP, McCready H, Boughan BK, Parker C, Hickmott A, Nole IE, Zuñiga A. 2015. A field protocol for the capture and release of callitrichids. *Neotropical Primates* 22: 59-68.

Submetido em: 15/julho/2017

Aceito em: 14/abril/2018



Avaliação clínico-morfométrica em guaribas-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) na região da Volta Grande do rio Xingu, Amazônia Oriental, Brasil

Victor Yunes Guimarães^{1,*}, Fabiano Rodrigues de Melo^{2,3,4,5} & Regina Kiomi Takahira⁶

¹ Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", FMVZ-UNESP, Campus Botucatu, São Paulo, Brasil.

² Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Goiás, Brasil.

³ Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

⁴ Instituto Muriqui de Biodiversidade, Caratinga, Minas Gerais, Brasil.

⁵ Brazilian Coordinator of the Primate Specialist Group, Species Survival Commission, International Union for Conservation of Nature (PSG/SSG/IUCN).

⁶ Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – FMVZ-UNESP, Campus Botucatu, São Paulo, Brasil.

* Autor para correspondência: medvetyunes@gmail.com

Resumo: Os guaribas-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul*), endêmicos do Brasil e classificados em nível global e nacional como "Vulnerável", podem ser encontrados principalmente na Amazônia Oriental. Este estudo analisou primatas do complexo *Alouatta belzebul* no bioma amazônico, para realizar uma avaliação clínica e morfológica de espécimes *in vivo* de uma população residente às margens do Baixo rio Xingu. Vinte e sete primatas foram capturados nas áreas de influência da Usina Hidrelétrica de Belo Monte, estado do Pará, Brasil. As variáveis biométricas avaliadas reforçaram a presença de dimorfismo sexual no tamanho corpóreo, além da constatação de polimorfismos no padrão de coloração da pelagem. As variações no padrão da pelagem mostram que espécimes capturados na margem esquerda compartilham mais semelhanças com *Alouatta discolor*, como o esperado, dada a distribuição geográfica conhecida para a espécie. Por outro lado, apesar da maior proximidade geográfica das ilhas com a margem direita, onde atualmente ocorre *Alouatta belzebul*, os dados, como padrão de coloração, sugerem que foi a população da margem esquerda que colonizou as ilhas. Os dados clínicos, apesar dos desafios imunológicos a que estes animais estão submetidos constantemente, sugeriram um *status* "ótimo" de sobrevivência.

Palavras-Chave: Primatas; Distribuição geográfica; Status clínico; Pelagem.

Abstract: Clinical and morphometric evaluation in Red-handed Howler Monkeys (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) in the Volta Grande of the lower Xingu River region, Eastern Amazon, Brazil. The Red-handed Howler Monkey (*Alouatta belzebul*) is endemic to Brazil, currently ranked in global and local scale as "Vulnerable" and occurs mainly in the Eastern Amazon. This study aimed to carry out the clinical and morphometric evaluation of Red-handed Howler "complex" of primates in the Amazon biome, in order to characterize healthiness parameters for a population living on the banks of the lower Xingu River. Twenty-seven primates were captured under the areas of influence of UHE Belo Monte, Pará State, Brazil. The biometric parameters evaluated reinforced inferences for sexual dimorphism on body size, in addition to finding polymorphisms in the coat color pattern. As we expected, there was a marked variability in coat color pattern, with specimens captured on the left margin sharing more similarities with *Alouatta discolor*, suggesting that once this region comprised the geographic distribution for this species. On the other hand, despite the geographic proximity of the islands to the right bank, where *Alouatta belzebul* currently inhabits, the different color patterns found suggest that *Alouatta discolor* population from the left bank have colonized the islands. In spite of the immunological challenges to which these animals are constantly subjected, the clinical profile determined suggests an optimal status of survival.

Key-Words: Primates; Geographic distribution; Clinical status; Coat.

INTRODUÇÃO

Atualmente, mais de um terço das espécies de primatas são classificadas como "ameaçada" pela União

Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), e uma em cada sete, estão em perigo iminente de desaparecer (Gouveia *et al.*, 2014). A maior ameaça para os primatas hoje é a perda do habitat devido à fragmentação



das florestas, que tem exterminado ou isolado populações numerosas, como, por exemplo, a maioria das espécies que vive ao sul da Amazônia que está ameaçada por redução do habitat e também pela caça (Crockett, 1998).

Os guaribas-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) são endêmicos do Brasil e podem ser encontrados principalmente na Amazônia Oriental, mas também no nordeste da Floresta Atlântica e em algumas zonas de transição de formações vegetais como Cerrado e Caatinga (Emmons & Feer, 1990; Gregorin *et al.*, 2008). Atualmente, a espécie está classificada, em escala nacional e mundial, como “Vulnerável”, conforme os critérios estabelecidos pela IUCN e pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/Ministério do Meio Ambiente. O seu *status* atual de ameaça se justifica principalmente pela pressão de caça, fragmentação e perda do habitat nas florestas tropicais, que tem contribuído para o declínio das populações nativas (MMA, 2014). Adicionalmente, fatores ambientais como as oscilações no clima, resultando em períodos úmidos e secos durante os últimos 100 mil anos, certamente contribuíram para o isolamento de certas populações de primatas (Redford, 1992). A colonização de novos ambientes fez com que os primatas neotropicais apresentassem grande variação geográfica em seus padrões de cor (Bradley & Mundy, 2008) e no *status* de sobrevivência.

Já foram desenvolvidos estudos voltados para a sistemática morfológica e molecular (Lima & Seuanez, 1989), biogeografia e caracterização genética das populações de *Alouatta belzebul* (Nascimento *et al.*, 2008), padrões fenotípicos de pelagem (Bonvicino *et al.*, 1989), além de morfologia do crânio; bastante explorados, a fim de discutir imprecisões taxonômicas envolvendo o gênero e a espécie (Gregorin, 2006; Rylands *et al.*, 2000; 2012). Mas muitas lacunas de conhecimento continuam a existir sobre a sistemática, anatomia e fisiologia do gênero *Alouatta*, apesar de ser um dos *taxa* mais estudados no neotrópico (Gregorin *et al.*, 2008). O número de espécies e subespécies de bugios, sua distribuição e *status* sanitário ainda são pouco documentados (Kowalewski *et al.*, 2015).

As populações amostradas neste estudo são das margens do Baixo rio Xingu, dentro da área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Belo Monte (UHE), estado do Pará, Brasil. A região coincide com os limites de ocorrência natural de *Alouatta belzebul* em parapatria com o congênera *Alouatta discolor* (Gregorin, 2006). As análises clínico-morfométricas propostas neste estudo, complementarão os estudos biogeográficos das populações (*in situ*) exploradas até o momento deste complexo grupo taxonômico. A caracterização das populações amazônicas desta região permitirá também, ações de manejo *ex situ* que visem à conservação do grupo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na região do Baixo rio Xingu, Amazônia Oriental, entre os municípios de Vitória Guimarães VY *et al.*: Avaliação clínico-morfométrica em *Alouatta belzebul*

do Xingu e Altamira, sudoeste do estado do Pará, Brasil (03°24'43"S, 51°57'56"O, Datum SIRGAS 2000, Fuso 22M). Os primatas manipulados neste estudo foram provenientes das ações de resgate do Projeto de Salvamento e Aproveitamento Científico da Fauna (PSACF) da Usina Hidrelétrica de Belo Monte, durante as etapas de supressão vegetal das áreas destinadas aos Reservatórios. Este projeto é parte integrante do Programa de Conservação da Fauna Terrestre, componente do Plano Básico Ambiental (PBA) do empreendimento, autorizado pela Diretoria de Licenciamento Ambiental do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (DILIC/IBAMA-DF), por meio da Autorização de Captura, Coleta e Transporte de Material Biológico (ACCTMB Nº 473/2014_1ª Retificação).

Duas expedições a campo foram realizadas em 2015 para coleta de material biológico: uma na estação chuvosa (janeiro a abril) e outra contemplando a estação seca (julho) do calendário amazônico. A primeira expedição a campo ocorreu do mês de janeiro até meados do mês de abril e, a segunda campanha totalmente concluída no mês de julho de 2015. Os materiais e equipamentos utilizados na contenção física dos primatas correspondem aos petrechos previstos na autorização de captura, além de obedecer aos princípios básicos de segurança do espécime manejado e de seu manipulador (Verona & Pissinatti, 2014). Para caracterizar morfológicamente a população amostrada foram realizadas mensurações das estruturas anatômicas listadas no Protocolo para Coleta de Dados sobre Primatas em Unidades de Conservação da Amazônia (ICMBio, 2012). Informações como biometria (peso e medidas corporais), exame da pelagem, estado reprodutivo (em fêmeas: gestação, lactação, exames de mamilos e genitália; em machos: mensuração dos testículos), dentição (exame odontológico e mensuração) foram obtidas dos animais *in vivo*.

A disponibilidade dos espécimes para o estudo esteve diretamente relacionada com a dinâmica de atividades do resgate de fauna e das atividades de supressão vegetal. Os animais amostrados foram os indivíduos que precisavam ser resgatados impreterivelmente, não sendo possível o afugentamento para remanescentes florestais adjacentes. A captura dos espécimes foi realizada manualmente, com o auxílio de redes e/ou puçá. Os animais foram acondicionados em caixas de madeira individuais (limpas, escuras e secas), conforme recomendam Kindlovits & Kindlovits (2009). Os animais capturados foram encaminhados à Base de Resgate de Fauna para reabilitação ou reintegração em ambiente natural, e permaneceram em cativeiro o menor tempo possível, apenas o tempo suficiente para recuperação do seu *status* clínico ou para a aproximação de outros indivíduos, visando à soltura de uma unidade social. Os animais chegavam ao centro de apoio ao entardecer e eram submetidos à anestesia no dia seguinte pela manhã, o que garantia um período de jejum de pelo menos 12 horas. Recém-chegados à unidade de tratamento os primatas foram, portanto, submetidos à contenção química com auxílio de uma prensa – onde foram aprisionados contra o fundo da caixa de madeira – permitindo assim, a aplicação



direta do fármaco pela via intramuscular. Em média, sete minutos após a aplicação do fármaco, os animais já apresentavam relaxamento muscular e assim permaneciam por um período médio de 48 minutos, quando foram realizados os exames.

Para a realização do exame clínico, todos os animais deste estudo foram contidos quimicamente, portanto, os resultados apresentados correspondem aos parâmetros de animais sob o efeito de sedativo. O protocolo de sedação corresponde à associação do cloridrato de tiletamina + zolazepam (Zoletil®, Virbac – São Paulo, Brasil), na dose de 3,6 mg/kg, conforme as recomendações do fabricante para uma espécie congênere (*Alouatta caraya*) e os relatos na literatura (Agoramoorthy & Rudran, 1994; Caulkett & Armeno, 2013; Flaiban *et al.*, 2008; Olberg, 2007; Spolti *et al.*, 2013; Vilani, 2014).

A avaliação clínica dos indivíduos baseou-se nos critérios e recomendações do Protocolo para Coleta de Dados sobre Primatas em Unidades de Conservação da Amazônia (ICMBIO, 2012) e do Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia aplicada à Vigilância da Febre Amarela (MS, 2014). Conforme as recomendações dos referidos manuais, o exame clínico consta da observação das cavidades naturais e mucosas aparentes, principalmente a conjuntiva, além da pesquisa de ectoparasitos. A frequência cardíaca, respiratória e a temperatura retal foram monitoradas, inclusive exame da cavidade bucal (com avaliação da dentição), auxiliando assim, na estimativa da idade dos espécimes. Os animais foram analisados de modo compartimentalizado (por sistemas), para composição de um exame clínico geral: sistema tegumentar, respiratório, cardiovascular e linfático, sistema alimentar, geniturinário, musculoesquelético, nervoso e visual, conforme as recomendações de Radostits *et al.* (2002).

A inspeção do trato respiratório foi realizada com o auxílio de um estetoscópio avaliando a frequência, o ritmo, o tipo, a profundidade e a simetria da inspiração e expiração, além de quaisquer ruídos associados à respiração. A avaliação do sistema cardiovascular dos espécimes consistiu na verificação das mucosas aparentes, tais como conjuntiva, cavidade nasal, oral, vulva e prepúcio, além do coração. O exame visual, seguido da compressão digital das mucosas, objetivou detectar anormalidades de coloração que pudessem indicar anemia, choque hipovolêmico (palidez) ou mesmo desidratação (ressecadas ou ligeiramente esbranquiçadas). A avaliação do estado de desidratação foi realizada por inspeção e palpação da pele, além do exame dos olhos. Animais “desidratados” foram aqueles que possuíam tempo de preenchimento capilar superior a dois segundos, afundamento do globo ocular e/ou quando a pele permanecia levantada por mais de três segundos, após ser beliscada. O trato geniturinário inferior foi avaliado com base na observação das mucosas genitais aparentes, quanto à sua coloração, morfologia e palpação das estruturas correspondentes. O sistema tegumentar dos indivíduos foi avaliado por meio de exame visual e palpação da epiderme e suas estruturas anexas. Os primatas também foram classificados quanto ao seu escore corporal,

extrapolando-se os critérios adotados para outras espécies de animais domésticos (Radostits *et al.*, 2002).

A classificação dos indivíduos em adultos ou jovens baseou-se no desgaste da dentição, e presença/ausência de alguns dentes, tamanho da genitália e glândulas mamárias (fêmeas) e nos caracteres sexuais secundários masculinos, como a presença de “barba” bem desenvolvida nos machos adultos (Hershkovitz, 1977; Robinson, 1988). As medidas biométricas obtidas dos animais *in vivo* incluem circunferência do peito (CP), comprimento craniocaudal (CCC – menor distância desde a extremidade superior dos ossos parietais), comprimento da cauda (CCA – menor distância entre a base da cauda e sua extremidade distal, desconsiderando os pelos), mão direita (MD), pé direito (PD), orelha direita (OD), comprimento do pescoço (PC) e peso (P). Padronizou-se um lado (lado direito) para medidas de orelhas, mãos e pés, além do peso (massa corporal) em gramas.

Após o reestabelecimento da consciência e recuperação anestésica os animais foram encaminhados para avaliação pré-soltura. A liberação dos espécimes aptos à soltura imediata foi realizada nos períodos com temperaturas mais amenas, a fim de minimizar os efeitos nocivos do estresse térmico adaptativo. Os fatores sociais foram ainda ponderados, buscando respeitar ao máximo, a proporção sexual (macho: fêmea), as hierarquias e a presença de filhotes no grupo. A soltura dos guaribas foi realizada pela mesma equipe do resgate de fauna, nas áreas de soltura previamente determinadas e aprovadas pelo órgão ambiental licenciador.

Este estudo se encontra amparado ainda, pela “Autorização para Atividades com Finalidade Científica” de número 49643-1, por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Ministério do Meio Ambiente (MMA), prevendo expedições a campo, coleta e transporte de material biológico *in situ*. Além da autorização expedida pelo órgão ambiental competente, este estudo possui aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (No protocolo 124/2015).

RESULTADOS

Foram capturados 27 indivíduos, 11 machos e 16 fêmeas, sendo 18 adultos e nove jovens. Cinco indivíduos eram da margem esquerda do rio Xingu, de floresta de terra firme e 22 indivíduos (81,48%) eram de ilhas do Baixo rio Xingu. De acordo o cronograma do Projeto de Desmatamento do Plano Básico Ambiental do empreendimento, a supressão da vegetação da área destinada aos Reservatórios Principal e Intermediário se encerraria em dezembro de 2015, sendo suprimidos 13.632,32 hectares de cobertura vegetal (entre florestas aluviais, ombrófilas abertas com cipó, ombrófilas abertas com palmeiras, vegetações secundárias e pastagem). Estas operações de supressão vegetal aconteceram



Tabela 1: Parâmetros vitais apresentados em média, os valores máximo e mínimo de variação durante a sedação. bpm = Batimentos por minuto; mpm = Movimentos por minuto. Valores máximo e mínimo, considerando intervalo de confiança de 95% e nível de significância (alfa) 5%; *Diferença significativa entre as médias ($p > 0,05$) (Teste de T para amostras normalmente distribuídas e Mann-Whitney para as variáveis com distribuição não-paramétrica).

	Frequência Cardíaca (bpm)	Frequência Respiratória (mpm)	Temperatura (°C)
Adultos	137,4 (119,6 – 155,3)	24,2 (20,4 – 28)	37 (36,4 – 37,6)
Jovens	139,6 (121,6 – 157,5) $p = 0,86$	24,8 (20,3 – 29,4) $p = 0,82$	38,2 (37,7 – 38,6) $p = 0,005^*$
Machos	137,6 (117,9 – 157,3)	22,8 (17,9 – 27,6)	37,5 (36,9 – 38,1)
Fêmeas	138,5 (120,6 – 156,4) $p = 0,94$	25,5 (21,8 – 29,1) $p = 0,18$	36,8 (36,1 – 37,5) $p = 0,13$

simultânea e cooperativamente com as ações de resgate de fauna, priorizando o afugentamento da fauna para os fragmentos florestais adjacentes. Os animais, portanto, foram capturados nas frentes de supressão vegetal pelas equipes de salvamento de fauna, devidamente capacitadas e designadas a executar ações de manejo com animais selvagens. A movimentação das máquinas, o avanço das atividades de broque manual e mecanizado promove o afugentamento e/ou o isolamento de grupos de primatas nas porções mais altas de árvores remanescentes. Nesse momento, os primatas se lançam das árvores prestes a serem derrubadas, em direção ao solo, descem ou caem junto às árvores.

As frequências cardíaca e respiratória durante o procedimento foram em média 138 batimentos/minuto e 24 movimentos respiratórios/minuto (Tabela 1). A temperatura corporal durante do procedimento variou, com os jovens apresentando temperatura retal média superior à dos adultos. Não foram detectadas anormalidades no sistema nervoso dos primatas examinados. Todos os animais apresentavam comportamento classificado como “atento”, porque foram submetidos a uma condição de estresse agudo (encurralamento e captura) e, ainda sim, apresentavam-se vigilantes e responsivos a qualquer estímulo visual ou auditivo que pudesse ser interpretado como “ameaça”. Mesmo com a possibilidade de haver traumatismos cranianos, em decorrência da queda das árvores ou sinais de acometimento do

sistema nervoso central, nem um sinal patognomônico foi detectado clinicamente. Todavia, não foram detectadas anormalidades no trato superior (cavidade nasal e nasofaringe), nem inferior (brônquios, traqueia, pulmões, a pleura, espaço pleural, o diafragma e a parede do tórax) dos animais avaliados.

A auscultação cardíaca não revelou alterações no ritmo e frequência dos batimentos do coração. O exame físico das órbitas e da cavidade auricular não apontou nenhum sinal clínico sugestivo de doença ocular, tais como alterações morfológicas, secreções ou quaisquer lesões ulcerativas. Momentos antes da contenção química, alguns animais urinavam na caixa de madeira, mas ambos apresentavam urina de coloração transparente e odor *sui generis*. À palpação e auscultação da região abdominal e glândulas mamárias, foi possível obter o diagnóstico de gestação em estágio avançado de duas fêmeas. A repleção e presença do leite nas glândulas mamárias de duas fêmeas, palpação externa pela região abdominal, atrelada à auscultação dos batimentos cardíacos do feto, permitiu o diagnóstico clínico de prenhez. O exame clínico da genitália masculina (prepúcio e testículos) não apontou nenhuma anormalidade associada à doença.

Uma fratura exposta de tíbia e uma fratura de dois dentes incisivos foram as únicas alterações encontradas ao exame físico osteoarticular do sistema musculoesquelético. Em apenas dois casos foi possível detectar emaciação muscular, associada ao histórico de permanência prolongada em local com baixa disponibilidade de alimento (ilhas recém-desmatadas). Diversas escoriações cutâneas foram detectadas, porém sem nenhuma associação clínica direta ou histórico de doença, apenas em decorrência de autotraumatismo (escaras de decúbito).

O exame da cavidade oral (oclusão, odor, superfície labial, dentes, gengiva) e a palpação das demais estruturas do trato digestório (esôfago, estômago, intestino, fígado, baço e pâncreas) não revelou associações clínicas patognomônicas. O desgaste maior dos dentes incisivos superiores e inferiores, retração de gengiva, além de algumas microfraturas dentais foram mais marcantes ao exame odontológico nos indivíduos adultos, em relação aos jovens. Observou-se ainda que todos os animais defecaram na caixa de contenção, nos instantes que precederam a contenção química. Em todos os casos,

Tabela 2: Parâmetros biométricos estratificados de *Alouatta belzebul*. CP = circunferência do peito, CCC = comprimento craniocaudal, CC = comprimento da cauda, MD = mão direita, PD = pé direito, OD = orelha direita, PC = pescoço, P = peso. *Diferença significativa entre as médias ($p > 0,05$, teste de T para amostras com distribuição normal e Mann-Whitney para as variáveis com distribuição não-paramétrica).

Índices (unidade)	Adulto (n = 18)	Jovem (n = 9)	Valor “p”	Macho (n = 11)	Fêmea (n = 16)	Valor “p”
	Valores Médios			Valores Médios		
CP (mm)	308,3	264,4	< 0, 001*	306,3	285	0,07
CCC (mm)	406,6	350,5	0,002*	417,2	367,8	0,005*
CCA (mm)	595,2	541,1	0,02*	601,8	560,3	0,056
MD (mm)	94,7	73,8	< 0,005*	101,3	78,5	< 0, 0001*
PD (mm)	115,5	99	0,01*	124,9	99,7	0,0002*
OD (mm)	34,2	31,04	0,03*	34,8	32	0,04*
PC (mm)	19,9	17,35	0,31	23,35	16,1	0,001*
P (g)	4.400	2.900	0.0006*	4.700	3.400	0.003*



a defecação esteve associada à emissão de vocalização agonística, acompanhada de esforço físico intenso, por manifestarem-se relutantes ao procedimento clínico. As fezes de coloração verde escura, com aspecto pastoso apresentaram-se típicas e compatíveis com o bolo fecal de uma espécie monogástrica com hábitos alimentares folívoros e frugívoros.

Dos 27 primatas examinados, apenas cinco apresentavam ossos proeminentes e/ou pouca musculatura esquelética de revestimento e foram classificados como de “baixo escore” corporal, os outros animais que não apresentavam tais características foram designados como de “escore ideal”. Este achado pode ser associado à pouca disponibilidade de alimento no local de captura, em decorrência do desmatamento.

As medidas biométricas obtidas nos animais *in vivo* são apresentadas na Tabela 2. Confirmando o dimorfismo sexual já registrado para o gênero, o peso das fêmeas foi significativamente menor que dos machos, no entanto, a média dos valores de CP e CCA para fêmeas não foi significativamente distinta dos machos. Como era esperado, os indivíduos jovens foram estatisticamente menores que os adultos em todos os parâmetros, exceto pela variável “PC” (comprimento do pescoço), que não registrou diferenças consistentes entre jovens e adultos.

Foram encontradas fêmeas grávidas no verão ($n = 1$) e na segunda campanha de campo no inverno ($n = 2$), com características como distensão dos mamilos,

presença de leite na glândula, intumescimento de genitália e abdome dilatado pela presença do feto, sugerindo que a reprodução não tem sazonalidade. O número de machos capturados, três jovens e nove adultos, não foi grande e uniforme o suficiente para realizar comparações estatísticas sobre a morfologia dos testículos (comprimento e largura).

A pelagem dos primatas capturados neste estudo possuía os padrões e variações descritas para os espécimes do grupo politípico “*belzebul*”, com machos e fêmeas com pelagem negro-brilhante, e extremidades dos membros anteriores e posteriores, ápice da cauda e uma faixa larga dorsal, que se inicia na nuca até a região lombar, ruiva ou castanho-avermelhada. Os indivíduos jovens não apresentaram o mesmo padrão ruivo de pelagem predominante, pois pareciam estar em transição para o padrão definitivo. A porção superior da cabeça e ombros era preto acastanhados, com muitos pelos apresentando a extremidade laranja-avermelhada, dedos da mão e pés cobertos por uma pelagem longa, em tom vermelho-amarelado. A tonalidade e localização da pelagem ruiva do dorso variou, ora concentrada na região da garupa apresentando coloração forte e brilhante, ora com pelos de cor dourada e com a faixa dorsal mais estreita. A pelagem lateral de todos os indivíduos foi considerada distintamente longa, em relação aos demais pelos do dorso, registrando comprimento médio de 89,72 mm (Figura 1).

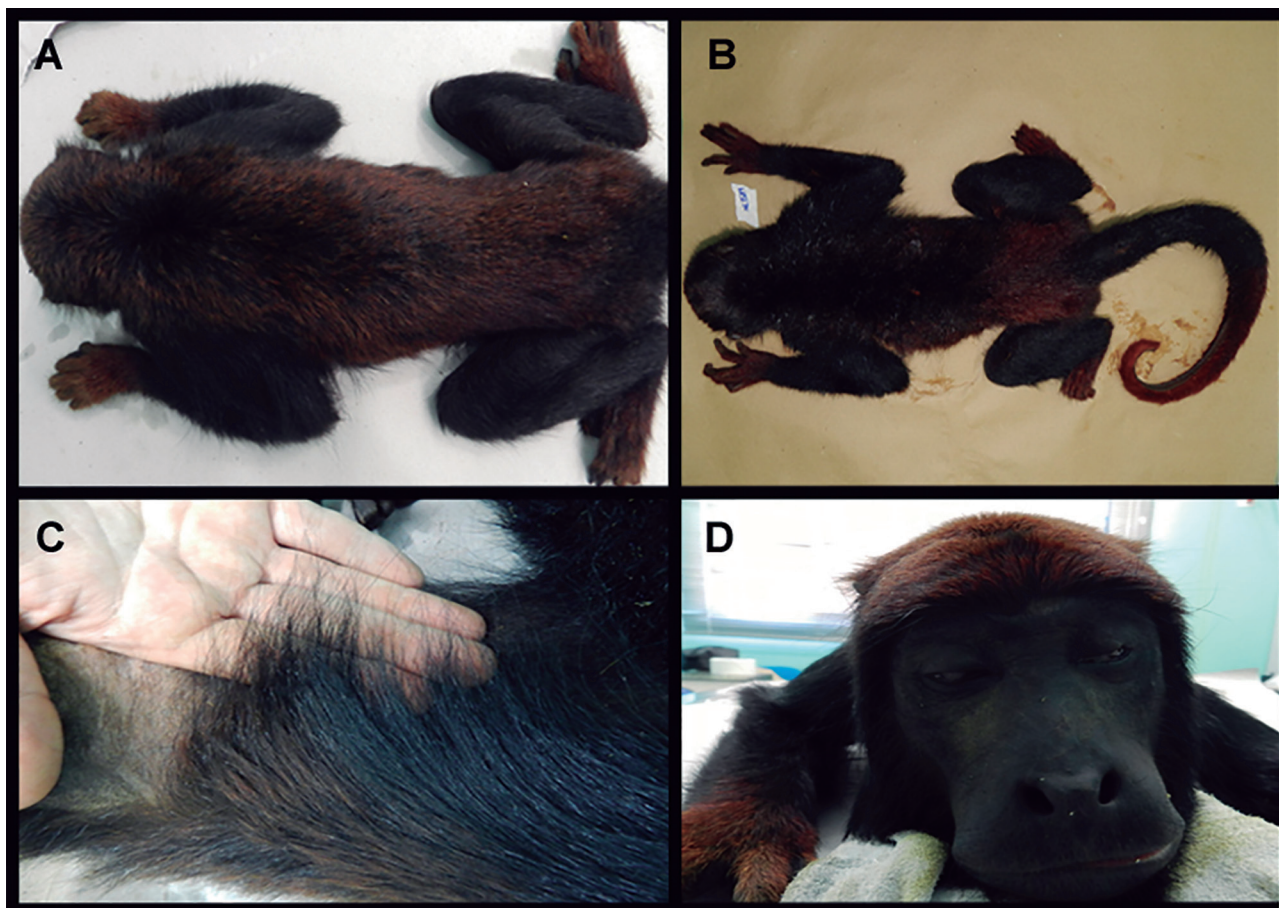


Figura 1: Fêmeas adultas capturadas na Ilha Pimental (A) e Ilha do Meio (B), respectivamente, apresentando diferentes padrões de pelagem e disposição dos campos cromatogênicos ruivos do dorso. Pelagem lateral distintamente longa (C) e macho adulto apresentando coloração ruiva intensa na região parietal e mãos (D). Autor das Fotos: Victor Yunes.



DISCUSSÃO

Apesar dos vários estudos taxonômicos, incluindo craniometria, dentição, estudos genéticos e da pelagem, realizados com o complexo “*belzebul*” (Bonvicino *et al.*, 1989; Gregorin, 2006; Nascimento *et al.*, 2008; Rylands *et al.*, 2000; 2012; Schneider *et al.*, 1991), estudos com guaribas *in vivo* como o realizado no presente estudo são escassos, devido à complexidade de captura dos bugios e a infraestrutura mínima necessária.

Os padrões fenotípicos da pelagem dos primatas encontrados no presente estudo são mais compatíveis com as características de *Alouatta discolor* (Dollman, 1910), do que com o padrão clássico de *Alouatta belzebul* (Bonvicino *et al.*, 1989; Gregorin, 2006). Apesar dos animais serem da margem esquerda do rio Xingu e das ilhas, os espécimes apresentaram um padrão semelhante de coloração, com variações mínimas. Estes achados vão de encontro com a distribuição geográfica conhecida para o grupo, sendo esperado que a pelagem dos animais da margem esquerda fosse compatível com *A. discolor* e margem direita com *A. belzebul* (Gregorin, 2006). No entanto, a coloração da pelagem dos espécimes das ilhas poderia, potencialmente, ser similar a qualquer um dos dois padrões.

Estudos que descrevem a pelagem dos primatas do interflúvio Xingu-Tapajós-Iriri não mencionam o padrão esperado para as ilhas, apenas para o continente (Bonvicino *et al.*, 1989; Lima & Seuanez, 1989; Bonvicino *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2002; Gregorin, 2006; Kowalewski *et al.*, 2015). O ambiente insular do rio Xingu pode ser colonizado por qualquer um dos dois táxons (*A. discolor* ou *A. belzebul*), uma vez que no período de vazante o acesso às ilhas é facilitado, por exemplo, a “Ilha Grande” amostrada neste estudo dista apenas 94 metros da margem direita do rio, sendo acesso mais curto para os indivíduos de *A. belzebul*. No entanto, a pelagem lateral distintamente longa de todos os espécimes eram variantes de *A. discolor* previstas na revisão sistemática de Gregorin (2006). Os dados sugerem que os animais da margem esquerda (*Alouatta discolor*) colonizaram os ambientes insulares desta região. A variação mais notável de coloração da pelagem para *Alouatta discolor* é ontogenética, com indivíduos jovens mais escuros (enegrecidos), devido à ausência de alguns campos cromatogénicos ruivos nas mãos, pés e/ou dorso (Gregorin, 2006), e essa particularidade nos jovens foi detectada no presente estudo.

Apesar de existir limitações de amostragem neste estudo, constatamos que os espécimes da margem esquerda e das ilhas possuem padrão compatível com *Alouatta discolor*. Não foi possível obter amostras equitativas da margem direita, do Baixo rio Xingu ou pelo menos em número suficiente para realizar uma comparação mais robusta. Como o estudo de espécimes *in vivo* inviabiliza a análise multivariada das variáveis cranianas e do hioide, fundamentais para identificação das espécies de *Alouatta* (Gregorin, 2006), preferimos neste estudo designar os espécimes capturados como pertencentes ao complexo grupo polimórfico “*belzebul*” (Cortés-Ortiz *et al.*, 2015).

O peso das fêmeas de bugios, capturadas neste estudo, apresentaram uma proporção de cerca de 72% do peso médio dos machos adultos, dentro da expectativa prevista para o gênero que menciona variação entre 68 a 84% (Neville, 1988). Estes resultados corroboram dados anteriores sobre dimorfismo sexual relativo ao peso em todas as espécies do gênero *Alouatta* (Gregorin, 2006), ainda que apenas duas espécies apresentem dicromatismo sexual, *Alouatta caraya* e *Alouatta guariba clamitans* (Gregorin *et al.*, 2008). O dimorfismo sexual em *Alouatta belzebul* se dá pela diferenciação nos machos adultos com maior tamanho corpóreo (Dollman, 1910), crânio mais achatado com cristas dorsais desenvolvidas e caninos mais longos (Gregorin *et al.*, 2008; Youlatus *et al.*, 2015).

Vale destacar, que os animais da área de estudo estiveram submetidos a diferentes agentes estressores até o momento da captura, o desaparecimento gradual do habitat e a rarefação dos recursos tróficos representam as fontes crônicas de estresse. A captura, o transporte e a manipulação configuram as fontes de estresse agudo, a que os animais estiveram inevitavelmente submetidos (Fowler, 1986; Vie *et al.*, 1998). Apesar disso, o protocolo de sedação dos espécimes se mostrou satisfatório, quando considerada a finalidade do estudo, a duração do procedimento, o nível de relaxamento e o breve retorno. Nossos achados foram similares a estudos anteriores que utilizaram o mesmo protocolo de sedação e mencionam o curto tempo de retorno anestésico para esse tipo de associação anestésica (60 minutos), abreviando o tempo de cativeiro dos espécimes (Agoramoorthy & Rudran, 1994; Caulkett e Armeno, 2013; Flaiban *et al.*, 2008; Olberg, 2007; Spolti *et al.*, 2013; Vilani, 2014).

Durante a contenção os animais emitiram sons compatíveis com uma vocalização agonística, em seguida, defecam na caixa de transporte, no puçá ou até mesmo nas luvas de raspa de couro, sendo esse comportamento característico nas ações de manejo com os espécimes de vida livre. As fezes possuíam coloração escura esverdeada e aspecto pastoso, características típicas do bolo fecal da espécie, com hábitos alimentares folívoros e frugívoros (Crockett, 1998). Quanto à vocalização durante a captura, os guaribas a utilizam como mecanismo de comunicação intra e intergrupar, para sinalizar sua posição na floresta evitando confrontos intra e interespecíficos, e nas situações de perigo frente a ameaças como predadores humanos e não humanos (Jardim e Oliveira, 2002).

Avaliação clínica da cavidade bucal, por vezes pouco explorada, é fundamental para avaliação do estado geral de saúde dos primatas, além de trazer informações relevantes sobre aspectos ecológicos, comportamentais e das relações do indivíduo e da espécie com o ecossistema em que está inserido (Verona & Pissinatti, 2014). Nos *Alouatta* avaliados neste estudo foram encontradas fraturas, retrações de gengiva, desgastes acentuados e por vezes, má-oclusão nos indivíduos adultos, interpretadas como evidências de senilidade.

As evidências de gravidez das fêmeas do rio Xingu no verão e inverno, coincidem com os relatos de



nascimento de filhotes para uma população na Amazônia oriental da mesma espécie, em uma ilha do reservatório da usina hidrelétrica de Tucuruí (rio Tocantins), sudeste do estado do Pará (Camargo & Ferrari, 2007). Em geral, as espécies do gênero não possuem sazonalidade reprodutiva (Neville, 1988), no entanto pode haver uma concentração dos nascimentos em determinada época do ano para algumas espécies, usualmente relacionada com a variação pluvial. Bonvicino (1989) descreve a gestação de um único filhote para *Alouatta belzebul* com período superior a 154 dias. À exceção desses relatos, estudos precisos para a determinação de seu ciclo ovariano, intervalo entre partos, características seminais, níveis hormonais, aparecimento da maturidade e comportamento sexual ainda são necessários, assim como para a maioria das espécies do gênero (Gregorin *et al.*, 2008).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Biota Projetos e Consultoria Ambiental Ltda. e Norte Energia SA pelo suporte logístico e institucional, fundamentais para execução deste estudo. Aos biólogos e auxiliares de campo que contribuíram de maneira substancial para que este estudo de campo fosse concretizado e às valiosas contribuições da Dra. Cibele Bonvicino para composição deste manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Agoramoorthy G, Rudran R. 1994. Field application of Telazol® (Tiletamine Hydrochloride and Zolazepam Hydrochloride) to immobilize wild red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) in Venezuela. *Journal of Wildlife Disease* 30(3): 417-420. <http://doi.org/10.7589/0090-3558-30.3.417>.
- Bonvicino CR, Langguth A, Mittermeier RA. 1989. Study of pelage color and geographic distribution in *Alouatta belzebul* (Primates: Cebidae). *Revista Nordestina de Biologia* 2(6): 139-148.
- Bonvicino CR, Fernandes MEB, Seuánez, HN. 2001. Morphological Analysis of *Alouatta seniculus* Species Group (Primates, Cebidae). A comparison with biochemical and karyological data. *Human Evolution* 2(10): 169-176. <http://doi.org/10.1007/BF02437539>.
- Bradley, BJ, Mundy, NI. 2008. The Primate Palette: The Evolution of Primate Coloration. *Evolutionary Anthropology* 17: 97-111. <http://doi.org/10.1002/evan.20164>.
- Camargo CC, Ferrari SS. 2007. Observations of daytime births in two groups of red-handed-howlers (*Alouatta belzebul*) on an island in the Tucuruí Reservoir in eastern Brazilian Amazonia. *American Journal of Primatology* 69: 1075-1079. <http://doi.org/10.1002/ajp.20414>.
- Caulkett NA, Armeno JM. 2012. Imobilização química de mamíferos terrestres de vida livre. Pp. 884-913, In: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA (Ed.), Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária. Roca, São Paulo.
- Cortés-Ortiz L, Rylands AB, Mittermeier RA. 2015. The Taxonomy of Howler Monkeys: Integrating Old and New Knowledge from Morphological and Genetic Studies. Pp. 55-84, In: Kowalewski MM, Garber PA, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatous D. *Howler Monkeys: Adaptive Radiations, Systematics and Morphology*. Springer, New York.
- Crockett CM. 1998. Conservation biology of genus *Alouatta*. *International Journal of Primatology* 19(3): 549-578. <http://doi.org/10.1023/A:1020316607284>.
- Dollman G. 1910. A note of *Alouatta discolor* of Spix. *Annals and Magazine of Natural History* 8(6): 422-424. <http://doi.org/10.1080/00222931008692868>.
- Emmons LH, Feer F. 1990. Neotropical rainforest mammals: a field guide. University Chicago Press, Chicago.
- Flaiban KMC, Spohr KAH, Malanski LS, Svoboda WK, Shiozawa MM, Hilst CLS, Aguiar LM, Ludwig G, Passos FC, Navarro IT, Lisboa JAN, Balarin MRS. 2008. Valores hematológicos de bugios pretos (*Alouatta caraya*) de vida livre da região do Alto Rio Paraná, sul do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2(61): 628-634.
- Fowler ME. 1986. *Zoo & Wild Animal Medicine*. 2a. Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Gregorin R. 2006. Taxonomia e Variação Geográfica das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède (Primates, Atelidae) no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 1(23): 64-144.
- Gregorin R, Kugelmeyer T, Del Rio do Valle R. 2008. Gênero *Alouatta*. Pp. 189-204, In: Reis NR, Peracchi AL, Andrade FR (Eds.), *Primates Brasileiros*. Technical Books, Londrina.
- Gouveia SF, Villalobos F, Dobrovolski R, Beltrão-Mendes R, Ferrari S. 2014. Forest structure drives global diversity of primates. *Journal of Animal Ecology* 83(6): 1523-1530. <http://doi.org/10.1111/1365-2656.12241>.
- Hershkovitz P. 1977. *Living New World Monkeys (Platyrrhini): with an introduction to Primates*, University of Chicago Press, v. 1, 1210p.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Protocolo para Coleta de Dados sobre Primatas em Unidades de Conservação da Amazônia. Brasília, 2012, 38p.
- Jardim MMA, Oliveira LFB. 2002. Vocalização de um grupo de guaribas (*Alouatta belzebul*). In: Caxiuanã Populações Tradicionais, Meio Físico e Diversidade Biológica. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 697-604.
- Kindlovits A, Kindlovits LM. 2009. Clínica e Terapêutica em Primatas Neotropicais. 2. ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária. 535p.
- Kowalewski MM, Garber PA, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatous D. 2015. *Howler Monkeys: Adaptive Radiations, Systematics and Morphology*. Springer, New York.
- Lima MMC, Seuánez HN. 1989. Cytogenetic Characterization of *Alouatta belzebul* with Atypical Pelage Coloration. *Folia Primatologica* 52: 97-101.
- Ministério da Saúde – MS. 2014. Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia aplicada à Vigilância da Febre Amarela. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2. ed. Brasília: Editora MS, 102p.
- Ministério do Meio Ambiente – MMA. 2014. Instrução Normativa Nº 444 de 17 de dezembro de 2014. Lista Nacional das Espécies de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e invertebrados terrestres ameaçados de extinção. Diário Oficial da União, Brasília. http://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2014/pmma_444_2014_lista_esp%C3%A9cies_ame%C3%A7adas_extin%C3%A7%C3%A3o.pdf. Acesso em: 28 junho 2017.
- Nascimento FF, Bonvicino CR, de Oliveira MM, Schneider MPC, Seuánez HN. 2008. Population Genetic Studies of *Alouatta belzebul* from the Amazonian and Atlantic Forests. *American Journal of Primatology* 70: 423-431. <http://doi.org/10.1002/ajp.20507>.
- Neville MK, Glander KE, Brasa F, Rylands A. 1988. The Howling Monkeys, Genus *Alouatta*. *Ecology and Behavior of Neotropical Primates* p. 349-453.
- Olberg RA. 2007. Monkeys and gibbons. Pp. 375-386, In: West G, Heard D, Caulkett N (Eds.), *Zoo animal & wildlife immobilization and anesthesia*. Blackwell Publishing, Ames.
- Oliveira EHC, Neusser M, Figueiredo WB, Nagamachi C, Pieczarka JC, Sbalqueiro IJ, Wienberg J, Muller S. 2002. The Phylogeny of Howler Monkeys (*Alouatta*, Platyrrhini): Reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting. *Chromosome Research* 10: 669-683. <http://doi.org/10.1023/A:1021520529952>.
- Radostits OM, Mayhew IG, Houston DM. 2002. Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 591p.
- Redford KH. 1992. The Empty Forest. *BioScience* 6(42): 412-422.
- Robinson JG. 1988. Group size in wedge-capped Capuchin monkeys (*Cebus olivaceus*) and the reproductive success of males and females. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 23: 187-197. 1988. <http://doi.org/10.1007/BF00300353>.
- Rylands AB, Schneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodrigues-Luna E. 2000. As Assessment of the Diversity of New World Primates. *Neotropical Primates* 2(8): 61-93.



- Rylands AB, Mittermeier RA, Silva Jr JS. 2012. Neotropical Primates: taxonomy and recently described species and subspecies. *International Zoo Yearbook* 46: 11-24. <http://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2011.00152.x>.
- Schneider H, Sampaio MIC, Schenider MPC, Ayres JM, Barroso CML, Hamel AR, Silva BTF, Salzano FM. 1991. Coat color and biochemical variation in Amazonian wild populations of *Alouatta belzebul*. *American Journal of Physical Anthropology* 85: 85-93. <http://doi.org/10.1002/ajpa.1330850110>.
- Spolti P, Moraes NA, Tamanho RB, Gehrcke MI, Sousa Junior JC, Oleskovicz N. 2013. Efeitos da associação de tiletamina/zolazepam ou cetamina S (+)/midazolam/tramadol para contenção química em bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(2): 236-240. <http://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000200016>.
- Verona C. 2001. Avaliação da condição física versus custos de reprodução e lactação em fêmeas de *Callithrix jacchus* e *Leontopithecus rosalia* selvagens (Callithrichidae – Primates). Dissertação de Mestrado, Laboratório de Ciências Ambientais da Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes.
- Verona CE, Pisssinati A. 2014. Primates – Primatas do Novo Mundo (sagui, macaco-prego, macaco-aranha, bugio e miqui). Pp. 723-743, In: Cubas, ZS, Silva, JCR, Catão-Dias, JL. *Tratado de Animais Selvagens-Medicina Veterinária*. 2. ed. ROCA, São Paulo.
- Vie JC, Moreau B, Thoisy B. 1998. Hematology and Serum Biochemical values of free-ranging red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) from French Guiana. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 29: 142-149.
- Vilani RGDC. 2014. Anestesia injetável e inalatória. Pp. 1826-1863, In: Cubas, ZS, Silva, JCR, Catão-Dias JL (Eds.), *Tratado de Animais Selvagens-Medicina Veterinária*, 2ª ed. Roca, São Paulo.
- Youlatus D, Couette S, Halenar LB. 2015. Morphology of Howler Monkeys: A review and Quantitative Analyses. Pp. 133-176, In: Kowalewski MM, Garber PA, Cortes-Ortiz L, Urbani B, Youlatus D. *Howler Monkeys: Adaptive Radiations, Systematics and Morphology*. Springer, New York.

Submetido em: 15/julho/2017

Aceito em: 25/novembro/2017



APÊNDICE

FICHA DE DADOS CLÍNICO-MORFOMÉTRICOS

NOME CIENTÍFICO: _____ DATA: _____

NOME COMUM: _____

PROCEDÊNCIA: _____

IDADE ESTIMADA: _____ MARCAÇÃO: _____

CONTENÇÃO

FÍSICA/QUÍMICA: _____

ESTADO GERAL

ESTADO NUTRICIONAL: CAQUÉTICO MAGRO BOM OBESO

COMPORTAMENTO: APÁTICO ATENTO HIPEREXCITADO AGRESSIVO

ECTOPARASITAS: AUSENTE/PRESENTE: _____

EXAME FÍSICO

PESO ESTIMADO: _____ PESO REAL (KG): _____ SEXO: _____ TEMPERATURA (°C): _____

HIDRATAÇÃO: _____

MUCOSAS APARENTES: _____

FREQUÊNCIA CARDÍACA (BPM): _____ FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA: _____

PALPAÇÃO: _____ AUSCULTAÇÃO: _____

SISTEMAS

PELE/ANEXOS: NORMAL ALTERADO

OLHOS/OUVIDOS: NORMAL ALTERADO

MÚSCULOS ESQUELÉTICOS: NORMAL ALTERADO



FICHA DE DADOS CLÍNICO-MORFOMÉTRICOS

RESPIRATÓRIO: NORMAL ALTERADO

CIRCULATÓRIO: NORMAL ALTERADO

DIGESTÓRIO: NORMAL ALTERADO

GENITO/URINÁRIO: NORMAL ALTERADO

NERVOSO: NORMAL ALTERADO

OBSERVAÇÕES



FICHA DE DADOS CLÍNICO-MORFOMÉTRICOS

EXAMES COMPLEMENTARES

DATA	EXAMES	RESULTADOS
() Sangue	() Hemograma completo	
	() Imunocitoquímica	
() Soro (Bioquímica)	() TGP/ALT	
	() TGO/AST	
	() Glicose	
	() Colesterol	
	() Fosfatase Alcalina	
	() Uréia	
	() Creatinina	
	() Triglicérides	
	() Bilirrubinas	
	() Cálcio	
	() Fósforo	
	() Proteínas Totais e Frações	
	() Albumina	
	() Amilase	
() Tecido		

INTERNAÇÃO

____/____/____

RECINTOS

____/____/____

ENFERMARIA

____/____/____

ALTA

____/____/____



FICHA DE DADOS CLÍNICO-MORFOMÉTRICOS

BIOMETRIA

Circunferência do peito: _____ mm

Comprimento da cabeça e corpo: _____ mm

Comprimento da cauda: _____ mm

Mão direita: _____ mm

Pé direito: _____ mm

Orelha Direita: _____ mm

Pescoço: _____ mm

FÊMEAS

Prenhez (sim, não): _____ Lactante (sim, não): _____

Extensão dos Mamilos: não estendido estendidos muito estendidos

Intumescimento de Genitália: normal pouco grande

MACHOS

Testículo Esquerdo: Comprimento: _____ mm e Largura _____ mm

Testículo Direito: Comprimento: _____ mm e Largura _____ mm

DENTIÇÃO

CONDIÇÃO DOS DENTES: SAUDÁVEIS: SIM/NÃO

SUJOS POR TÁRTARO: SIM/NÃO

QUEBRADOS: SIM/NÃO QUAIS? _____

DESGASTADOS: SIM/NÃO QUAIS? _____

AUSÊNCIA DE DENTES: SIM/NÃO QUAIS? _____

COMPRIMENTO DOS DENTES: Canino Superior Direito _____ mm

Canino Inferior Direito _____ mm

Incisivo (2) Superior Direito _____ mm

Incisivo (2) Inferior Direito _____ mm

[illegible]

VENTRAL _____ DORSAL _____ LATERAL _____



Área de vida de muriquis-do-norte (*Brachyteles hypoxanthus*): Comparação entre três métodos

Karoline Luiza Sarges Marques^{1,*}, Andrea Presotto², Mariana Petri da Silva³ & Sérgio Lucena Mendes⁴

¹ Conservação Internacional do Brasil, Belém, Pará, Brasil.

² Department of Geography and Geosciences, Salisbury University, Salisbury, Estados Unidos.

³ Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, Espírito Santo, ES, Brasil.

⁴ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil.

* Autor para correspondência: kmarques@conservation.org

Resumo: Nas últimas décadas têm aumentado o número de estudos sobre área de vida em primatas como informação básica para entender a ecologia e comportamento dessas espécies. Dessa forma, a escolha dos métodos utilizados nesses estudos é de grande importância, já que o mesmo conjunto de dados pode gerar resultados diferentes dependendo do método empregado na análise. Visando comparar dois métodos consagrados no cálculo de área de vida animal: Mínimo Polígono Convexo (MPC) e *Grid*, analisamos 7.494 registros instantâneos de um grupo de 15 muriquis-do-norte, coletados ao longo de 4 anos, em um fragmento de Mata Atlântica no Espírito Santo, Brasil. As áreas de vida geradas foram comparadas entre si e com um terceiro método, adaptado de acordo com as particularidades do fragmento florestal do estudo, o método das Áreas Sobrepostas (AS). Os resultados obtidos com os três métodos diferem expressivamente entre si, gerando extensões totais de área de vida que variam de 92 a 176 hectares, na estação seca entre 87 a 147 hectares e na estação chuvosa entre 89 e 152 hectares. Dentre os métodos utilizados, o AS apresentou os resultados mais precisos de acordo com as características da área de estudo e o conjunto de dados e ainda permitiu identificar a frequência de uso das diferentes porções da área de vida no período total e entre as estações.

Palavras-Chave: Área de vida; *Brachyteles hypoxanthus*; Mínimo Polígono Convexo; *Grid*; Áreas Sobrepostas.

Abstract: Home range of North Muriquis (*Brachyteles hypoxanthus*): Comparison between the three methods. In the last decades, the number of studies on primates home range increased as basic information to understand the ecology and behavior of these species. Thus, the choice of the methods used in these studies is very important, once the same dataset can generate different results depending on the method used. Aiming to compare two established methods in animal home range studies: Minimum Convex Polygon (MPC) and Grid, we analyzed 7.494 scans of one group of 15 northern muriquis in a fragment of Atlantic Forest, Espírito Santo, Brazil. The home ranges generated were compared to each other and to a third method, adapted according to the forest fragment characteristics, the method of Superimposed Areas (AS). The results obtained with the three methods differ significantly among them, generating total extensions of home ranges from 92 to 176 hectares, in the dry season between 87 and 147 hectares and in the rainy season from 89 and 152 hectares. Among used methods, the AS presented the most accurate results according to the characteristics of the study area and the dataset and also allowed to identify the frequency of use of the different portions of the home range during all period and between the seasons.

Key-Words: Home-range, *Brachyteles hypoxanthus*, Minimum Convex Polygon, Grid.

INTRODUÇÃO

Segundo Burt (1943), área de vida é aquela utilizada pelo animal em suas atividades normais de obtenção de alimento, reprodução e cuidado com a prole. Seguindo esse raciocínio, é esperado que essa área seja a menor possível onde os indivíduos obtenham recursos suficientes para a sobrevivência e reprodução e, além disso, diminuam o tempo e a energia gasta em defesa de território e forrageio.

Como a disponibilidade de alimentos flutua sazonalmente, muitas espécies de mamíferos se ajustam a essa flutuação, alterando o tamanho e o padrão no uso da área de vida de acordo com a sazonalidade, abundância e qualidade dos recursos (Bowers *et al.*, 1990; Chapman, 1988; Clutton-Brock, 1974; Milton & May, 1976; Saïd *et al.*, 2005).

Estudos sobre área de vida são amplamente realizados com primatas e utilizam diversas metodologias, como: o método de quadrículas ou *grids* (Adams &



Davis, 1967), o Mínimo Polígono Convexo (Mohr, 1947; Stickel, 1954), o método de Kernel (Worton, 1987), entre outros. Entretanto, todas essas metodologias têm limitações estatísticas dependendo da extensão e formato da área ocupada pelos animais, tamanho do grupo de estudo e da quantidade de registro a ser analisado (Ostro *et al.*, 1999).

Alguns estudos utilizam mais de um método, visando diminuir os vieses das análises e se aproximar ao máximo possível da área real utilizada pelo animal (Boyle *et al.*, 2009; Chapman & Wrangham, 1993; Grueter *et al.*, 2009; Kaplin, 2001; Li *et al.*, 2000; Singleton & Van Schaik, 2001), já que o mesmo conjunto de dados pode apresentar resultados diferentes dependendo do método utilizado (Möhr, 1947), o que pode gerar resultados equivocados.

Dessa forma, esse estudo se propôs a comparar dois métodos amplamente utilizados para estimar área de vida em primatas – *grid* e Mínimo Polígono Convexo (MCP) e testar um novo método ajustado às características da área de estudo para calcular a área de vida utilizada por um grupo de muriquis-do-norte (*Brachyteles hypoxanthus*).

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie desse estudo é *Brachyteles hypoxanthus* Kuhl, 1820, conhecida popularmente como muriqui-do-norte, com distribuição nos estados do Espírito Santo e Minas Gerais (Mendes *et al.*, 2005). O grupo de estudo

vem sendo acompanhado pelo Projeto Muriqui, ES há 15 anos e durante a coleta dos “Dados 1” era composto por 13 indivíduos, sendo dois machos adultos, três fêmeas adultas, dois machos subadultos, uma fêmea subadulta, dois machos jovens, uma fêmea jovem, um infante macho e uma infante fêmea (Petri, 2010). Na coleta dos “Dados 2” o grupo aumentou e era composto por 15 animais, sendo seis machos adultos, cinco fêmeas adultas, um macho subadulto, uma fêmea subadulta e duas fêmeas infantes. Todos os indivíduos são habituados à presença humana e reconhecidos individualmente pelos pesquisadores, por meio de características como tamanho, sexo e despigmentações na face e na genitália (Figura 1).



Figura 1: Indivíduo do grupo de estudo: Fêmea adulta com despigmentação facial.

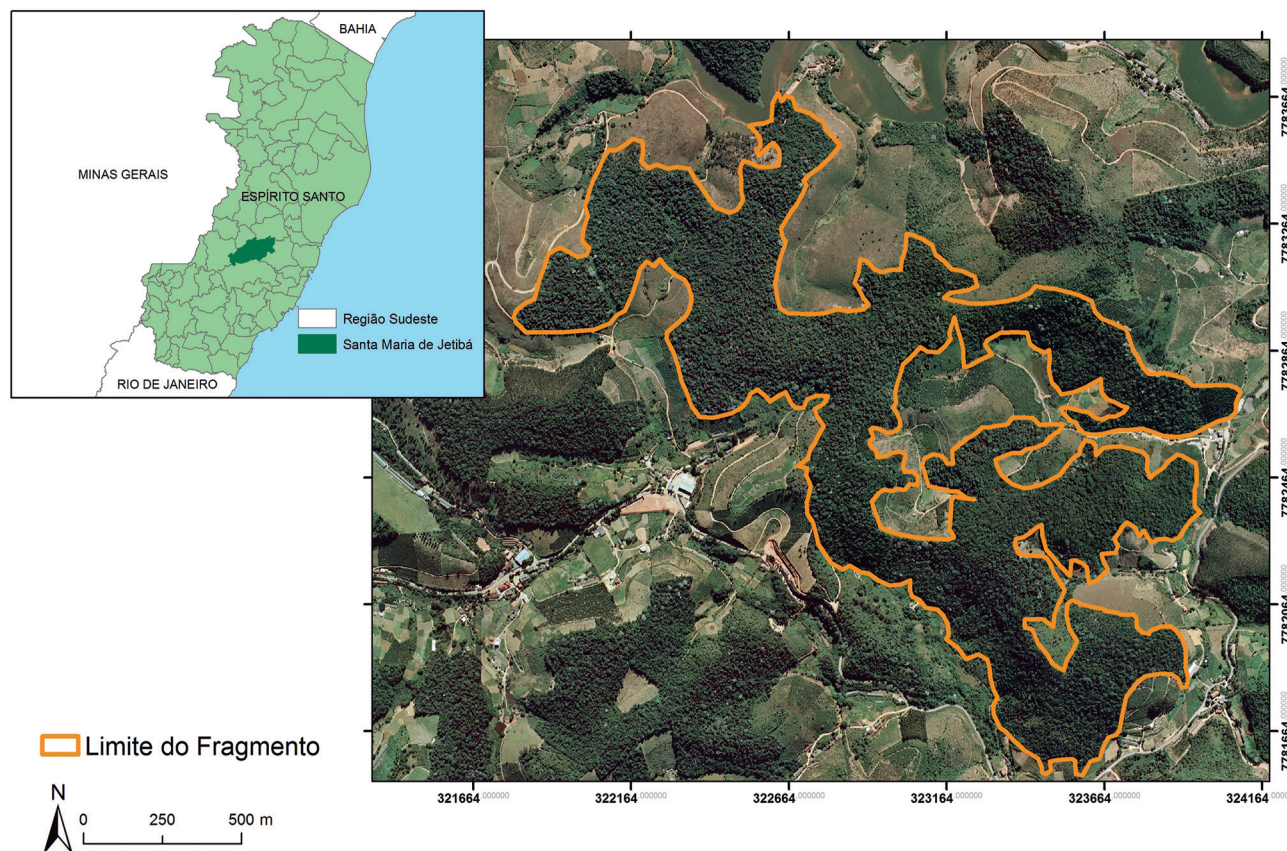


Figura 2: Área de estudo no município de Santa Maria de Jetibá, ES.



O estudo foi realizado no município de Santa Maria de Jetibá (SMJ), região centro-serrana do estado do Espírito Santo, Brasil (41°02'O-40°35'O; 19°56'S-20°13'S). O clima do município, de acordo com a classificação de Köppen, está inserido na classe Aw = clima subtropical com inverno seco (Antongiovanni *et al.*, 2005; Rolim *et al.*, 2007) e é caracterizado por duas estações: a seca, de maio a setembro e a chuvosa, de outubro a abril. A temperatura média anual varia entre 20°C e 22°C (Incaper, 2014) e o índice pluviométrico varia de 1.110 a 1.350 mm (Silva *et al.*, 2011).

A área de estudo corresponde a um fragmento florestal com cerca de 140 ha (20°01'S e 40°42'O), de relevo ondulado, com altitudes variando de 680 m em fundos de vale a 790 m em topos de morro (Mendes *et al.*, 2005). O fragmento é composto por um mosaico de vegetação representado, em parte, por floresta ombrófila densa submontana e montana (Magnago *et al.*, 2007), perturbada por corte seletivo, e parte por matas secundárias em diferentes estágios de sucessão, circundado por uma matriz heterogênea com diferentes usos do solo (plantações, estradas, entre outros).

Os dados utilizados correspondem a dois períodos de coleta, que aqui serão tratados como "Dados 1" e "Dados 2", coletados com metodologias similares. Todos os dados foram coletados utilizando o sistema de projeção Universal Transversa de Mercator (UTM), Datum WGS84, Zona 24S. O conjunto de "Dados 1" foi coletado entre novembro de 2008 e agosto de 2009, pela bióloga Mariana Petri. Foram registrados dados comportamentais por meio da metodologia *scan sampling* (Altmann, 1974), com varreduras de 3 e 7 minutos de intervalo. Concomitantemente ao início das varreduras foram registradas as coordenadas geográficas do grupo de muriquis com GPS Garmin 76 CSX (n = 2.310 varreduras). A coleta do conjunto de "Dados 2" ocorreu entre novembro de 2011 e janeiro de 2013, com os registros de dados comportamentais utilizando a mesma metodologia do primeiro conjunto de dados, porém com varreduras de 1 e intervalos de 4 minutos. A posição central grupo foi registrada a cada 5 minutos com o auxílio do GPS Garmin 60 CSX (n = 5.184 varreduras).

Em cada varredura foram registradas: coordenadas geográficas no centro do grupo de muriquis, data, horário, número do ponto, altura em relação ao solo, identidade dos indivíduos (sexo, faixa etária), atividades comportamentais (deslocamento, forrageio, descanso, comportamentos sociais) e observações adicionais. Foram considerados nas análises dias com mais de seis (06) horas de registro.

O cálculo da área de vida dos muriquis foi realizado utilizando-se três metodologias: quadrículas ou *grid*, e Mínimo Polígono Convexo (MCP) e Áreas Sobrepostas (AS). As análises foram feitas no ArcGIS 10 e Geospatial Modelling Environment (GME) 0.7.2.0.

O cálculo da área de vida por *grid* foi realizado utilizando-se uma malha de quadrículas de 100 × 100 m (1 hectare) sobre o polígono referente à área do estudo (Adams & Davis, 1967). A soma da área de todas as

quadrículas utilizadas, pelo menos uma vez, pelo grupo de muriquis corresponde à área de vida total do grupo (Chapman & Wrangham, 1993). A frequência do uso de cada quadrícula foi calculada, gerando o índice da proporção de registros, correspondente a 25, 50, 75 e 100% do total dos registros. Na análise com MCP, o algoritmo do GME conecta os pontos periféricos por meio de linhas retas, formando um polígono convexo que corresponde à área de vida do grupo (Mohr, 1947; Stickel, 1954). E na metodologia proposta por esse artigo – Áreas Sobrepostas – o MCP foi cortado sobre o polígono da área de estudo, que serviu como molde para o corte do *grid* e as áreas correspondentes a quadrículas sem registros dos muriquis foram excluídas manualmente, gerando a sobreposição das duas áreas (MCP e *grid*) ajustadas. A proporção de registros foi recalculada para a nova área, já que todas as quadrículas excedentes foram excluídas. Para a análise dos usos sazonais da área de vida, foram calculadas separadamente os registros na estação seca e na estação chuvosa em cada um dos métodos.

A coleta e análise de dados dessa pesquisa foi realizada em conformidade com a legislação brasileira sobre ética na pesquisa científica em biodiversidade.

RESULTADOS

Foram obtidos 7.494 registros da localização dos muriquis em 87 dias de coleta, com 3.305 registros na estação seca e 4.189 registros na estação chuvosa. A extensão da área utilizada pelos muriquis resultou em diferentes valores de acordo com a metodologia aplicada: no cálculo com MPC a área total utilizada pelos muriquis foi equivalente a 176 hectares (Figura 3A), utilizando o método de *grid* a área resultante foi 119 hectares (Figura 3B) e com a metodologia de Áreas Sobrepostas a análise resultou em 92 hectares (Figura 3C).

O uso sazonal, dividido nas estações seca e chuvosa, mostrou resultados diferentes nas três metodologias, sendo que os cálculos utilizando MPC foram os que resultaram em áreas maiores, 152 hectares para estação chuvosa e 147 hectares para estação seca (Figuras 4A e B), seguidas dos cálculos com *grid* que resultaram em 103 hectares para estação chuvosa e 96 hectares para estação seca (Figuras 4C e 4D) e os cálculos usando AS, que perfizeram 89 hectares na estação chuvosa e 87 hectares na estação seca (Figuras 4E e 4F).

Dos três métodos, o que mais apresentou extrapolações foi o MPC, gerando valores de área de vida maiores do que o tamanho total do fragmento florestal e englobando dentro do polígono outros usos de solo, como cultivos e estradas. A área calculada com *grid* apresentou extrapolações principalmente em áreas de menor uso quando a área da quadrícula foi considerada por inteiro, mesmo com registro apenas em uma das extremidades (Tabela 1). O uso dessas metodologias em conjunto e ajustadas para as características do fragmento de estudo, que denominamos de método de Áreas Sobrepostas, permitiu o cálculo da área de vida sem



Tabela 1: Área de vida, total e sazonal, do grupo de estudo utilizando os métodos: MPC, grid e AS.

Método	Área Total (ha)	% do fragmento de estudo	Extensão da Área		Área Est. Chuvosa (ha)	% do fragmento de estudo
			Área Est. Seca (ha)	% do fragmento de estudo		
MPC	176	128	147	105	152	109
Grid	119	85	96	69	103	74
AS	92	66	77	55	74	53

extrapolações, já que as áreas geradas pelos dois métodos, mas sem registros dos muriquis foram retiradas das análises.

Utilizando AS, a análise da frequência do uso da área indicou que a área central, com 23% dos registros dos muriquis ($n = 1.734$), consiste em seis hectares, que coincidem com sítios de dormida, sítios de descanso e sítios de fontes alimentares importantes para os muriquis,

como *Helicostylis tomentosa*, *Pourouma guianensis*, *Schefflera kolmanii*, *Miconia cinnamomifolia* e *Vochysia saldanhana* (Petri, 2010). Dos seis hectares com maior frequência de registro dos muriquis, apenas a área equivalente a um hectare tem sobreposição nas estações seca e chuvosa. Essa localidade corresponde a uma área que foi utilizada pelos muriquis 18 vezes como sítio de descanso, seis vezes como sítio de dormida e é sítio de *Vochysia saldanhana* e *Pourouma guianensis*, espécies vegetais consumidas pelos muriquis durante o ano inteiro (Petri, 2010).

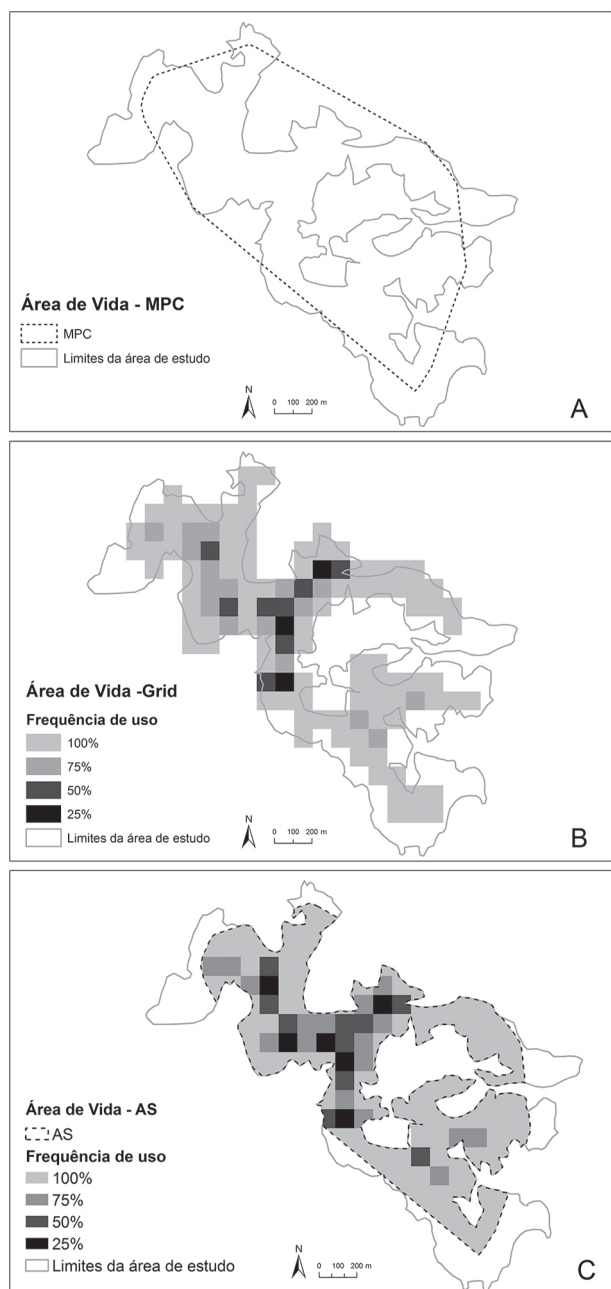
DISCUSSÃO

A escolha no método a ser utilizado no cálculo da área de vida é de essencial importância para que se obtenha resultados mais precisos. A escolha dos métodos MPC e grid para essa comparação ocorreu por tratarem-se de métodos amplamente utilizados no cálculo de áreas de vida de diversas espécies de primatas (Wallace, 2006), mesmo sabendo o quanto podem gerar extrapolações no valor das áreas, principalmente se estas tiverem formatos irregulares (Burgman & Fox, 2003), como a área de estudo desse trabalho.

O uso do MPC, apesar de muito difundido na primatologia, tem ainda dois pontos negativos adicionais: possibilitar apenas o cálculo da área total, sem diferenciar a forma como essa área é utilizada pelos animais e ser extremamente sensível a outliers, gerando áreas muito maiores do que as realmente utilizadas pelos animais (Ostro, 1999; Grueter *et al.*, 2009).

Quando comparado ao MCP, a metodologia do grid obtém resultados mais completos, pois possibilita a contagem de registros nas diferentes porções da área de vida, e consequentemente a análise da área central utilizada pelos animais (Asensio *et al.*, 2012). Entretanto, é necessário um conjunto de dados volumosos para que a metodologia não superestime a área considerando quadrículas com apenas um registro em uma das extremidades e também definir de forma correta o tamanho da quadrícula, evitando assim valores de área de vida subestimados.

Dessa forma, a metodologia de Áreas Sobrepostas se mostrou a mais ajustada para o cálculo da área de vida dos muriquis no fragmento de estudo, pois foi possível mapear a área total utilizada pelos muriquis sem as extrapolações ou subestimações que os métodos de grid e MPC ocasionam e ainda quantificar o uso nas diferentes porções dessa área e identificar a área central de uso pelo grupo de muriquis.



Figuras 3A-C: Área de vida total calculada com (A) MPC, (B) grid e (C) AS.

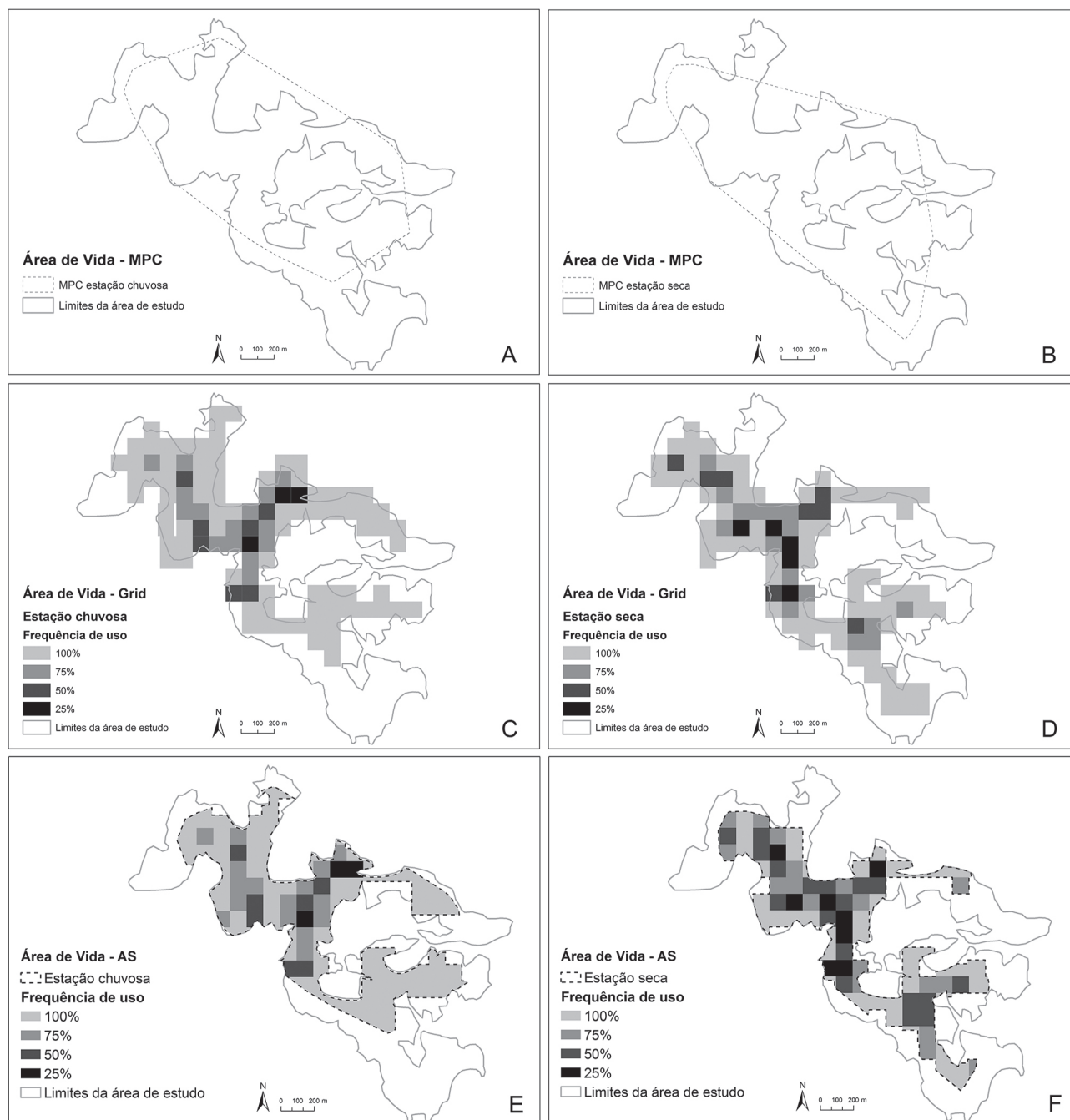


Figura 4: Área de vida utilizada pelos muriquis-do-norte nas estações: (A) chuvosa com MPC, (B) seca com MPC; (C) chuvosa com grid; (D) seca com grid; (E) chuvosa com AS; (F) seca com AS.

É importante que, em estudos futuros, o método de áreas sobrepostas possa ser replicado para a calibração em diferentes formatos de fragmentos florestais, espécies com diferentes hábitos e em diferentes conjuntos de dados, permitindo assim verificar se o método é robusto no cálculo de áreas de vida com diferentes características e em que aspectos pode ser aprimorado.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Marguerite Madden e toda a equipe do Center for Geospatial Research da Universidade da Geórgia pelas contribuições nesse estudo e à CAPES pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche.

Marques KLS *et al.*: Área de vida de muriquis-do-norte

REFERÊNCIAS

- Adams L, Davis SD. 1967. The Internal anatomy of home range. *Journal of Mammalogy* 48(4): 529-536.
- Aguirre AC. 1971. O mono *Brachyteles arachnoides* (E. Geoffroy). *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, Rio de Janeiro. 53p.
- Altmann J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behavior* 49: 227-65.
- Antongiovanni LL, Coelho ALN, Vervolet RJ, Silva DG. 2005. Panorama sobre a desertificação no Espírito Santo. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- Asensio N, Schaffner CM, Aureli F. 2011. Variability in core areas of spider monkeys (*Ateles geoffroyi*) in a tropical dry forest in Costa Rica. *Primates* 53: 147-156. <http://doi.org/10.1007/s10329-011-0288-9>.
- Bowers MA, Welch DN, Carr TG. 1990. Home range size adjustments by the eastern chipmunk, *Tamias striatus*, in response to natural and manipulated water. *Canadian Journal of Zoology* 68(9): 2016-2020.



- Boyle SA, Lourenço WC, Silva LR, Smith AT. 2009. Home range estimates vary with sample size and methods. *Folia Primatologica* 80: 33-42.
- Burgman MA, Fox JC. 2003. Bias in species range estimates from minimum convex polygons: implications for conservation and options for improved planning. *Animal Conservation* 6: 19-28. <http://doi.org/10.1017/S1367943003003044>.
- Burt WH. 1943. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. *Journal of Mammalogy* 24(3): 346-352.
- Chapman CA. 1988. Patterns of foraging and range use by three species of neotropical primates. *Primates* 29(2): 177-194.
- Chapman CA, Wrangham RW. 1993. Range use of the forest of Kibale: Implications for the understanding of chimpanzee social organization. *American Journal of Primatology* 31: 263-273.
- Clutton-Brock TH. 1974. Primate social organization and ecology. *Nature* 250: 539-542.
- Garber PA. 1987. Foraging strategies among living primates. *Annual Review of Anthropology* 16: 339-364.
- Grueter CC, Li D, Ren B, Wei F. 2009. Choice of analytical method can have dramatic effects on primate home range estimates. *Primates* 50: 81-84.
- Hayne DW. 1949. Calculation of size of home range. *Journal of Mammalogy* 30(1): 1-18.
- Incapar. 2014. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Disponível em: <http://www.incapar.es.gov.br>.
- Isbell LA. 1991. Contest and scramble competition: patterns of female aggression and ranging behavior among primates. *Behavioral Ecology* 2(2): 143-155.
- Kaplin BA. 2001. Ranging behavior of two species of guenons (*Cercopithecus lhoesti* and *C. mitis doggetti*) in the Nyungwe forest reserve, Rwanda. *International Journal of Primatology* 22(4): 521-548.
- Li B, Chena C, Ji W, Ren B. 2000. Seasonal home range changes of the Sichuan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*) in the Qinling mountains of China. *Folia Primatologica* 71: 375-386.
- Magnago LFS, Assis AM, Fernandes HQB. 2007. Capítulo 5: Floresta ombrófila densa montana, submontana e alto montana. In: Simonelli M, Fraga CN (Eds.), *Espécies da flora ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo*, p. 45-50. Brasil.
- Mendes SL, Santos RR, Carmo LP. 2005. Conserving the northern muriqui in Santa Maria de Jetibá, Espírito Santo. *Neotropical Primates* 13(Suppl.): 31-35.
- Milton K. 1981. Distribution patterns of tropical plant foods as an evolutionary stimulus to primate mental development. *American Anthropologist* 83(3): 534-548.
- Milton K. 1984. Habitat, diet, and activity patterns of free-ranging woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides* E. Geoffroy, 1806). *International Journal of Primatology* 5(5): 491-514.
- Milton K, May ML. 1976. Body weight, diet and home range area in primates. *Nature* 259(5543): 459-462.
- Mohr CO. 1947. Table of equivalent populations of north American small mammals. *American Midland Naturalist* 37(1): 223-249.
- NASA. 2014. Administração Nacional da Aeronáutica e do Espaço. Disponível em: <https://earthdata.nasa.gov/data>.
- Ostro LET, Young TP, Silver SC, Koontz FW. 1999. A Geographic Information System Method for Estimating Home Range Size. *The Journal of Wildlife Management* 63(2): 748-755.
- Petri MS. 2010. Estratégias de forrageamento do muriqui-do-norte (*Brachyteles hypoxanthus*) em um fragmento florestal em Santa Maria de Jetibá, ES. Dissertação de mestrado do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.
- Rolim GS, Camargo MBP, Lania DG Moraes JFL. 2007. Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o estado de São Paulo. *Bragantia* 66(4): 711-720.
- Rosemberg AL, Strier KB. 1989. Adaptive radiation of the Ateline primates. *Journal of Human Evolution* 18: 717-750.
- Saïd S, Gaillard JM, Duncanc P, Guillon N, Servanty S, Pellerin M, Lefevre K, Martin C, Van Laere G. 2005. Ecological correlates of home-range size in spring-summer for female roe deer (*Capreolus*) in a deciduous woodland. *Journal of Zoology* 267: 301-308.
- Silva ED, Santos AR, Silva KG. 2011. Estudo morfológico e climático dos municípios da região serrana do estado do Espírito Santo. *Caminhos de Geografia* 12(39): 94-103.
- Singleton I, Van Schaik CP. 2001. Orangutan home range size and its determinants in a Sumatran swamp forest. *International Journal of Primatology* 22(6): 877-911.
- Stickel LF. 1954. A Comparison of Certain Methods of Measuring Ranges of Small Mammals. *Journal of Mammalogy* 35(1): 1-15.
- Strier KB. 1987. Ranging behavior of woolly spider monkeys, or muriquis, *Brachyteles arachnoides*. *International Journal of Primatology* 8(6): 575-591.
- Strier KB. 1991. Diet in one group of woolly spider monkeys, or muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *American Journal of Primatology* 23: 113-126.
- Strier KB. 1992. Atelinae Adaptations: Behavioral Strategies and Ecological Constraints. *American Journal of Physical Anthropology* 88: 515-524.
- Wallace RB. 2006. Seasonal Variations in Black-Faced Black Spider Monkey (*Ateles chamek*) Habitat Use and Ranging. *Behavior in a Southern Amazonian Tropical Forest*. *American Journal of Primatology* 68: 313-332.
- Worton BJ. 1987. A review of models of home range for animal movement. *Ecological Modelling* 38: 277-298.

Submetido em: 20/outubro/2017

Aceito em: 07/maio/2018



Getting along with radio-telemetry: effects on howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans* Atelidae-Primates) welfare and monitoring effectiveness

Luísa Genes^{1,2}, Tomaz Cezimbra^{1,2}, Sílvia B. Moreira³, Alcides Pissinatti³ & Marcelo L. Rheingantz^{1,*}

¹ Departamento de Ecologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, Instituto Estadual do Ambiente (INEA), Guapimirim, RJ, Brasil.

* Autor para correspondência: mlrheingantz@gmail.com

Abstract: The use of radio-telemetry provides crucial information for evaluating population dynamics and for primate conservation. However, tracking methods must be balanced in their risks, costs and benefits. We conducted 12 trials; testing three different customized devices on reintroduced brown howler monkeys and compared the outcomes in terms of animal welfare and monitoring effectiveness. Our trials suggest that the use of metal string coated with plastic tube attached with metal sleeves provides lower risk of injuries. We emphasize the need for testing the equipment in captivity and in the field before release and for publishing outcomes of different tracking methods.

Key-Words: Animal health; Monitoring; Primate reintroduction; Tracking.

Resumo: Lidando com radio-telemetria: efeitos no bem-estar de bugios (*Alouatta guariba clamitans* Atelidae-Primates) e na eficácia do monitoramento. A rádio-telemetria fornece informações essenciais para avaliar dinâmicas populacionais e para conservação de primatas. Entretanto, métodos de rastreamento precisam ser balanceados em seus riscos, custos e benefícios. Nós conduzimos 12 experimentos, testando três tipos diferentes de aparelhos customizados em bugios-ruivos e avaliando tanto o bem-estar animal como a efetividade do monitoramento. O cabo de metal preso por braçadeiras de metal, revestido por tubo plástico, promove o menor risco de ferimentos. É essencial testar o equipamento em cativeiro e em campo antes da soltura de animais. Recomendamos que se publiquem resultados com testes de métodos de rastreamento.

Palavras-Chave: Monitoramento; Reintrodução de primatas; Rastreamento; Saúde animal.

The use of electronic transmitters such as data-logger, Global Positioning System (GPS) or Very High Frequency radio (VHF), favoured the monitoring of animals in wild environments. Those equipment are helpful for understanding behaviour, survival, and several other ecological issues that are critical for conservation biology (Kays *et al.*, 2015). However, monitoring is costly, both timewise and pricewise and demands a strategic approach to maximize conservation efforts. This means that methods must be balanced regarding their monetary cost, their impacts on individual's health and the effectiveness on providing useful information. Appropriate monitoring should not impact individual's fitness. Many methods are currently used to monitor primates, such as camera traps, radio-tracking, indirect sign surveys (*e.g.*, nest counting and dung), line transects, genetic methods (*e.g.*, hair and faeces sampling) and passive acoustic monitoring (Plumptre *et al.*, 2013). Each one of these techniques provides different types of data, with different costs and effects on individual's fitness, which should be considered when defining monitoring design. In reintroduction programmes, the assessments

of survival and use of space by released individuals are priorities to evaluate their success. Thus, the information provided by actively following the animals through radio-telemetry can be crucial to evaluate the population establishment and guide its management (IUCN, 2013; Trayford & Farmer, 2012).

Radio-telemetry is a useful tool for wildlife tracking in poor visibility conditions, when animals range in small and/or silent groups (Fedigan *et al.*, 1988) or when they are in small numbers. Since that is the case of many Neotropical primate habitats, its use increases monitoring efficiency through decreasing search time (Campbell & Sussman, 1994). Most commonly used devices include collars, backpacks, subcutaneous devices and anklets. Their effect on monitoring and animal health is usually species-specific (Trayford & Farmer, 2012). Since monitoring through telemetry can affect animal welfare by causing lethal or sub-lethal wounds (*e.g.*, Cid *et al.*, 2013; Hopkins & Milton, 2015), devices must be carefully designed to provide most benefit for minimum health costs. Relevant factors are: proportional size and weight, position, material, technology and brand. For instance, larger devices



usually allow longer timespan batteries, which ensure a longer-term monitoring – however, they can hamper performance of essential behaviours (e.g., feeding, reproduction), impacting animal's survivorship. Similarly, antenna length is related to signal distance, but longer antennas can stress animals and encourage them to obliterate it. The material used to attach the device on individuals and its position might also have different effects on welfare. Traditional neck collars cannot be used on male howler monkeys (*Alouatta* spp.), for example, due to their large hyoid bone (Horwich *et al.*, 1993) and for that reason, the animals should be fitted with backpacks or anklets. Here, we compare our experience using different telemetry device materials and brands on reintroduced brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans* Atelidae-Primates; Cabrera, 1940), concerning animal welfare and the effectiveness of their monitoring. The reintroduction project is authorized by the Brazilian Environmental Agency (MMA/ICMBio license number 43003-5).

Between September 2015 and October 2017, we conducted a total of 12 trials using three different combinations of materials and equipment to monitor *A. guariba clamitans* reintroduction in Tijuca National Park (TNP), an Atlantic Forest reserve (see further details on the reintroduction on Fernandez *et al.*, 2017). The first four howlers (two adult couples) released received custom-built GPS-VHF telemetry devices (TGB-315, Telenax®, Playa del Carmen, Mexico) – anklets for males and collars for females – attached to the animal using a metal string sealed with Nicopress® sleeves, coated with a coloured plastic tubing to prevent the thin string from causing injuries. We undertook five trials for those four individuals. To attach the sleeves, we sedated the animals (Ketamine-Diazepam; Viana, 2003) and used Dremel® rotary cut tool to remove excess of metal rope and metal tips. Each device was customized to record localization every four hours, which would then be downloaded via Bluetooth® in intervals of two weeks, besides providing usual VHF signal. In order to avoid over-sedating the animals, as this process of holding the device sometimes took a long time, we tested attaching the devices with security plastic seals coated with plastic tubing, instead of metal string and Nicopress®. We conducted this procedure with plastic seal for five times in four individuals (three male and one female), using Tigrinus® (Timbó, Brasil) and a different model of Telenax® device, both equipped only with VHF transmitter. We also conducted a trial with a Tigrinus® leather collar on a captive female for two months. All individuals were observed for at least a month in captivity to determine whether devices were functional and if they affected their welfare.

Transmitters attached with metal strings and Nicopress® did not harm any of the four animals involved even after more than a year. However, even though the tests in captivity were successful in recovering data from devices using the tablet, download via Bluetooth® did not work properly on the field and two VHF transmitters ceased working shortly – within 50 days after release. We recaptured one of these individuals, a male, and replaced the device for an identical one, which ceased

to work again after a few days. Additionally, one of the males had to be retrieved two months after releasing due to abnormal behaviour, preventing us from assessing the duration of the device. Four months after release, a female's collar was found still functional on the forest floor, as the animal had managed to remove it from its neck. Tigrinus® leather collar had no effect on the female's welfare, but since it was only tested in captivity, we are uncertain of its effects on the field when exposed to humidity, rain, increased locomotion and potential parasites. Leather collars are known to cause sores in other primate species (see Trayford & Farmer, 2012). The devices with security plastic seal had different acceptance by the individuals: a female was found dead from unknown causes, a male rejected it in three trials – the last one occasioned a deep and serious wound – while another male wore the anklet in the field for 12 months without harm but developed a serious wound in the ankle after that. Details of materials and results are shown in Table 1 and Figure 1.

The main issue concerning primate health in our study was the material used to attach the radio-telemetry device. Although metal strings attached with Nicopress® sleeves require more time and sedation to attach the device, they did not cause any injury on ankle or neck, in opposition to plastic seal. Despite the fact that in both types just a small part of metal or plastic seal was not covered by the plastic tubing and, therefore, in contact with the monkey's skin, our results might be a consequence of the material's shape – plastic seals presented hard edges close to the skin after device attachment if not perfectly coated with the plastic tubing. The male, which rejected the plastic seal three times, was very stressed, destroyed the antenna and showed minor injuries on the first time. On the second trial it started limping, as the attachment was very tight. Finally, on third one, it presented a serious wound – approximately 1 cm of plastic seal was in contact with its skin, what possibly caused the ankle injury (Figure 1C). Since minor misuses could cause serious harms or even death of the animals, we do not recommend the use of plastic seals to fasten the attachment of radio-telemetry devices. When using Nicopress®, however, it is important that metal string is cut closely to sleeves to prevent it creating an injury, and misuse could also be problematic. In the field, injuries caused by device misplacement can start as an open wound but end up compressing muscular tissues. An exposed wound can also be easily infected by parasites, worsening the healing process. Those issues can harm the performance of essential behaviours, decreasing the animal's fitness (Cid *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2013).

Despite not having affected the howlers' welfare, VHF-GPS transmitter had a high failure rate, which impaired effective monitoring of the released animals. Similarly, to other studies (e.g., Campbell & Sussman, 1994), we found that equipment/software failure was responsible for steeply increasing our search time to find the monkeys, thus decreasing our monitoring effectiveness (Table S1). We must state that VHF-GPS devices were developed in collaboration with the developer. On



Table 1: Devices used on each trial, position, weight, attachment method, battery life of VHF in the field and detected effect on individual welfare. M = indicates males, F = indicates females.

Individual	Radio-telemetry device	Type	Weight (g)	Attachment method	Battery life in the field (VHF)	Effect on welfare
M1	Telenax® TGB-315	Anklet	70	Metal string coated with plastic tubing + Nicopress	less than a month	none
	Telenax® TGB-315	Anklet	70	Metal string coated with plastic tubing + Nicopress	less than a week	none
M2	Telenax® TGB-315	Anklet	70	Metal string coated with plastic tubing + Nicopress	2 months (animal retrieved)	none
F1	Telenax® TGB-315	Collar	79.3	Metal string coated with plastic tubing + Nicopress	4 months (fell from the animal)	none
F2	Telenax® TGB-315	Collar	79.3	Metal string coated with plastic tubing + Nicopress	2 months	none
F3	Telenax®	Collar	34	Plastic seal coated with plastic tubing	4 months (found dead)	unknown
F4	Tigrinus®	Collar	47.16	Leather	—	none
M3	Tigrinus®	Anklet	65	Plastic seal coated with plastic tubing	more than 7 months	none
M4	Tigrinus®	Anklet	65	Plastic seal coated with plastic tubing	—	wound
	Tigrinus®	Anklet	65	Plastic seal coated with plastic tubing	—	wound
	Tigrinus®	Anklet	65	Plastic seal coated with plastic tubing	—	serious wound
M5	Tigrinus®	Anklet	65	Plastic seal coated with plastic tubing	12 months	serious wound after 12 months

the one hand, we must consider the possibility that we committed mistakes when setting up the Bluetooth data download. On the other hand, we must also state that it was functional when tested it in captivity but did not work further in the forested environment. Besides data download, VHS-GPS transmitters showed a high failure rate regarding batteries timespan. Devices should not exceed 2% of the animal weight, creating a trade-off between weight and battery timespan. Telemetry devices

battery life is usually lower than expected, which is outlined as a common and challenging issue when monitoring the animals (Trayford & Farmer, 2012). The VHF telemetry equipment has been employed in other studies for similar forested areas with higher success rates (Cid *et al.*, 2014; São Paulo municipality Howler Management Project), suggesting that its failure is due not exclusively to vegetation conditions. When monitoring wild populations (reintroduced or remnant) equipment

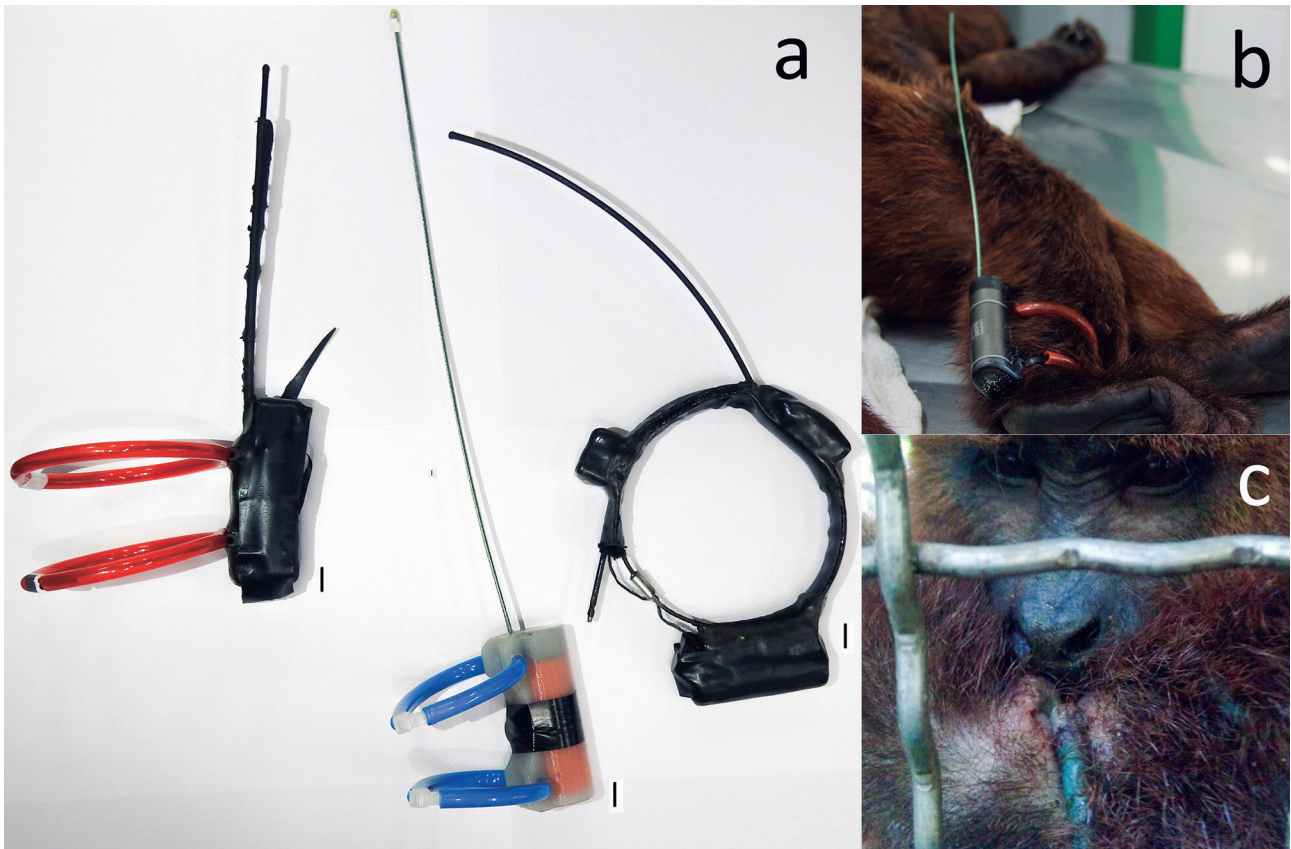


Figure 1: Radio-telemetry devices tested in this study (A) from left to right: Telenax® TGB-315 anklet attached with metal strings and metal sleeves, Tigrinus® VHF anklet attached with plastic seal and Telenax® TGB-315 collar attached with metal strings and metal sleeves. Photo by Marcelo Rheingantz; (B) Tigrinus® VHF anklet attached with plastic seal in use and (C) serious wound caused by spare plastic seal out of the tubing. Photos by Luísa Genes.



failure hampers effective data collection and sometimes the whole project planning and deadlines – affecting researcher performance. Therefore, not only is it urgent to encourage the publication of monitoring methods and its problems, but also back up plans considering devices may not work perfectly. After failure, we started tracking the reintroduced animals through “active search” methods, which enabled us to observe them, despite the high effort. When dealing with limited resources and team numbers, the increased effort for monitoring time results in an exhaustive routine. This concern is especially relevant for reintroductions, since the initial population is small, harder to assess through other methods and requires close monitoring of individual’s rehabilitation. Although *Alouatta* displays social group structure, other translocations (e.g., Horwich *et al.*, 1993; Richard-Hansen *et al.*, 2000; de Vries, 1991) and the reintroduction of the brown howler monkey (*A. guariba clamitans*) in TNP indicate its disruption after release. The need for reliable space use data is essential to understand the mechanisms behind these phenomena, in ways to improve conservation translocation guidelines for that species.

Regarding animal welfare, we discourage the use of plastic seals to attach collars or anklets in monkeys, even if perfectly fitted inside plastic tubing. Based on our experience, we suggest using VHF devices attached through metal strings with aluminium sleeves for monitoring howler monkeys. Whenever testing any new method for attaching telemetry devices, it is essential to observe the animal for enough time in captivity before release, to track for possible injuries, stress or device malfunction. On the other hand, we tested our collars in captivity, but it did not prevent us from having a high rate of equipment failure right after release. We therefore recommend making additional tests with the devices in the field, over rain and humidity, without it being attached in any animal to detect malfunction. It is essential to share even negative outcomes of each method to prevent others from failing and to maintain animal welfare while monitoring. In programmes involving primates’ locating through radio-telemetry, it is crucial to have previous established plans and equipment in case of adverse situations – saving time, resources and maximizing conservation efforts.

This research complies with the current Brazilian laws on ethical standards (SISBIO 43003-5).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all the people involved in REFAUNA-Rio Project and members of Laboratório de Ecologia e Conservação de Populações/UFRJ, for collaboration and field assistance. We especially thank Bruno Moraes and Liana Lima for all the effort made in the reintroduction. We thank Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Estadual do Ambiente (INEA-RJ), Tijuca National Park, Centro de Reabilitação de Animais Silvestres Seropédica/ICMBio, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA-RJ) and Criadouro Passaredo, essential to the

ongoing reintroduction. Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza (Programa 0010/2014), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (grant number E-26/010/001645/2014) and Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq, grant number 308356/2014-4) funded our research. Personal grants were provided by Conselho de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) to LG and TC.

Informações suplementares disponíveis on-line para este arquivo em <https://sbmz.org/publicacoes>.

REFERENCES

- Campbell AF, Sussman RW. 1994. The value of radio tracking in the study of Neotropical rain forest monkeys. *American Journal of Primatology* 32: 291-301.
- Cid B, Costa RC, Balthazar DA, Augusto AM, Pires AS, Fernandez FAS. 2013. Preventing injuries caused by radiotelemetry collars in reintroduced red-rumped agoutis, *Dasyprocta leporina* (Rodentia: Dasyproctidae), in Atlantic Forest, southeastern Brazil. *Zoologia (Curitiba)* 30(1): 115-118. <http://doi.org/10.1590/S1984-46702013000100015>.
- Cid B, Figueira L, Mello AFT, Pires AS, Fernandez FAS. 2014. Short-term success in the reintroduction of the red-humped agouti *Dasyprocta leporine*, an important seed disperser, in a Brazilian Atlantic Forest reserve. *Tropical Conservation Science* 7(4): 796-810. <http://doi.org/10.1177/194008291400700415>.
- de Vries A. 1991. Translocation of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) in Guanacaste, Costa Rica, Master's Thesis in Anthropology, University of Calgary, Alberta, Canada.
- Fedigan LM, Fedigan L, Chapman C, Glander KE. 1988. Spider Monkey Home Ranges – A comparison of telemetry and direct observation. *American Journal of Primatology* 16: 19-29.
- Fernandez FAS, Rheingantz ML, Kenup CF, Galliez M, Cezimbra T, Cid B, Macedo L, Araujo BBA, Moraes BS, Monjeau A, Pires AS. *In press*. Rewilding the Atlantic Forest: Restoring the fauna and ecological interactions of a protected area. *Perspectives in Ecology and Conservation*. <http://doi.org/10.1016/j.pecon.2017.09.004>.
- Ferreira GA, Pinto ML, Nakano-Oliveira E, Genaro G. 2013. Dermatitis prompted by a collar employed in radio-telemetry monitoring. *Animal Welfare* 22(2): 195-197. <http://doi.org/10.7120/09627286.22.2.195>.
- Hopkins ME, Milton K. 2016. Adverse Effects of Ball-Chain Radio-Collars on Female Mantled Howlers (*Alouatta palliata*) in Panama. *International Journal of Primatology* 37(2): 213-224. <http://doi.org/10.1007/s10764-016-9896-y>.
- Horwich RH, Koonts F, Saqui E, Saqui H, Glander K. 1993. A Reintroduction Program for the Conservation of the Black Howler Monkey in Belize. *Endangered Species Update* 10(6): 1-6.
- IUCN/SSC. 2013. Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission. <http://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.07.030>.
- Kays R, Crofoot MC, Jetz W, Wikelski M. 2015. Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science*. 348(6240), 2478-1-2478-9. <http://doi.org/10.1126/science.aaa2478>.
- Plumptre AJ, Sterling EJ, Buckland ST. 2013. Primate census and survey techniques, Pp. 11-26, In: Sterling EJ, Byrnum N, Blair ME (Eds.), *Primate Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques*, Oxford University Press, Oxford.
- Richard-Hansen C, Vié JC, De Thoisy B. 2000. Translocation of red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) in French Guiana. *Biological Conservation* 93(2), 247-253. [http://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00136-6](http://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00136-6).
- Trayford HR, Farmer KH. 2012. An assessment of the use of telemetry for primate reintroductions. *Journal for Nature Conservation* 20(6), 311-325. <http://doi.org/10.1016/j.jnc.2012.07.004>.
- Viana FAB. 2003. Guia terapêutico veterinário. Editora Cem, Lagoa Santa.

Submetido em: 07/julho/2017

Aceito em: 08/dezembro/2017

Genes L *et al.*: Getting along with radio-telemetry



Ecologia alimentar e dispersão de sementes por guariba-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) à margem esquerda do rio Tocantins, Brasil

Maíra Dalia Sagnori^{1,*}, Victor Yunes², Frederico Valtuille Faleiro¹,
Fabiano R. de Melo³, Alexandre Corrêa⁴ & Ronaldo Leal Carneiro¹

¹ Departamento de Análise de Projetos, Biota Projetos e Consultoria Ambiental Ltda Goiânia, GO, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Campus Botucatu, Botucatu, SP, Brasil.

³ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa, dif. Reinaldo de Jesus Araújo, Campus Universitário, Viçosa, MG, Brasil.

⁴ Área Meio físico e biótico Consórcio Estreito Energia – CESTE, Estreito, MA, Brasil.

* Autor para correspondência: m.sagnori@gmail.com

Resumo: O estudo sobre hábitos de vida de primatas é uma etapa importante para o entendimento da dinâmica entre o papel de dispersor que desempenham e a germinação de sementes em áreas florestadas. Para estudar um grupo de *Alouatta belzebul* na margem esquerda do rio Tocantins, foram feitas buscas ativas e coleta de fezes. O potencial dispersor dessa espécie arbórea foi confirmado pelo sucesso na germinação de sementes presentes nas fezes. Este resultado confirma a preferência por um item alimentar antes registrado e em estágio de frutificação e reforça o potencial dispersor de sementes em áreas de Cerrado e Floresta Amazônica.

Palavras-Chave: Primates; Germinação; Zoocoria; Dieta; *Protium heptaphyllum*.

Abstract: Feeding ecology and seed dispersion by red-handed-howler-monkey (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) on the left margin of the Tocantins river, Tocantins, Brazil. Studies on primate life activities is an important step towards understanding the dynamics between the role of these animals as dispersers and the seed germination in forested areas. To study a group of *Alouatta belzebul* at the left margin of the Tocantins river, active-search and fecal samples collection were carried out. The dispersion potential of this species was confirmed by the germination success of the seed found in the fecal samples. It was possible to confirm one item of the specie's diet and to understand the potential seed disperser role played by it in transitional areas.

Key-Words: Primates; Germination; Zoochory; Diet; *Protium heptaphyllum*.

Os primatas apresentam diferentes níveis de tolerância a distúrbios antrópicos e fragmentação de habitat (Arroyo-Rodríguez & Dias, 2010; Stevenson *et al.*, 2015; Zárate *et al.*, 2014). Primatas do gênero *Alouatta* podem manter populações tanto em regiões conservadas quanto em regiões com diferentes níveis de distúrbio antrópico, mas são afetados negativamente a altos níveis de degradação, perda e fragmentação de habitat (Arroyo-Rodríguez & Dias, 2010). Por seus hábitos herbívoros e papel na dispersão de sementes de várias espécies vegetais, primatas do gênero *Alouatta* acabam desempenhando um papel fundamental para a regeneração, estruturação ou manutenção de habitats (Bonvicino, 1989; Chapman *et al.*, 2012; Kowalewski *et al.*, 2014). Em ecossistemas de florestas tropicais, a zoocoria pode ser responsável por até 90% da dispersão de algumas espécies vegetais (Howe & Smallwood, 1982). Para ampliar o conhecimento sobre hábitos de vida e papel ecológico das espécies, o estudo da composição da dieta e do sucesso da germinação de sementes são fundamentais (Benítez-Malvido *et al.*, 2014; Chapman *et al.*, 2012).

A espécie guariba-das-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul*) está ameaçada de extinção, sendo listada como "Vulnerável" nas listas nacional (Ministério do Meio Ambiente; Valença-Montenegro *et al.*, 2012) e internacional (União Internacional para Conservação da Natureza; Veiga *et al.*, 2008), assim o conhecimento ecológico sobre o uso de recursos e a importância ecológica dessa espécie são relevantes para elaboração de estratégias de conservação das populações remanescentes. O Programa de Monitoramento de populações de guariba-das-mãos-ruivas nas áreas de influência da Usina Hidrelétrica de Estreito, localizada na divisa dos estados do Maranhão com o Tocantins, Brasil, tem como objetivo obter dados sobre a dieta e a viabilidade das sementes dispersadas pela espécie.

O método utilizado para a busca dos grupos e fezes, além da avaliação da dieta foi o de busca ativa durante os períodos de maior atividade da espécie, entre 05:30 e 17:30, e a análise do conteúdo fecal. As equipes visitaram diariamente duas áreas conectadas no entorno do empreendimento entre fevereiro e abril de 2017. A área



Tabela 1: Registros diretos e indiretos de *Alouatta belzebul* obtidos durante busca ativa nas áreas de influência da Usina Hidrelétrica de Estreito (Tocantins, Brasil) (SIRGAS 2000, 23M) (Datum Sirgas 2000, Fuso 23M).

Tipo de Registro	Área	Data	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Descrições
Avistamento 1	T10	06/02/2017	07°04'42"S	47°39'37"O	183	Grupo
Fezes 1	T10		07°04'36"S	47°39'58"O	183	Sementes
Avistamento 2	T20	05/04/2017	06°59'52"S	47°35'12"O	208	Grupo
Avistamento 3	T20	11/04/2017	07°04'22"S	47°41'51"O	208	Grupo
Avistamento 4	T20	12/04/2017	07°04'43"S	47°39'32"O	208	Grupo
Avistamento 5	T20	14/04/2017	07°04'44"S	47°39'34"O	208	Grupo
Avistamento 6	T20	17/04/2017	07°04'50"S	47°39'32"O	208	Grupo
Avistamento 7	T20	18/04/2017	07°04'22"S	47°41'51"O	208	Grupo
Avistamento 8	T20	19/04/2017	07°04'23"S	47°42'0,9"O	208	Grupo
Avistamento 9	T20	20/04/2017	07°04'17"S	47°41'41"O	208	Grupo
Avistamento 10	T20	22/04/2017	07°04'21"S	47°41'58"O	208	Grupo
Odor 1	T10		07°04'18"S	47°41'42"O	183	Fezes e urina
Odor 2	T20		07°04'18"S	47°41'42"O	208	Fezes e urina
Odor 3	T20		07°04'23"S	47°42'0,9"O	208	Fezes e urina
Fezes 2 e 3	T20		07°04'23"S	47°42'0,9"O	208	Material foliar

estudada fica próxima a tributários na margem esquerda do Rio Tocantins, com fitofisionomias características de área de transição entre Mata de Galeria e Mata Seca Semi-decídua, ambas na zona de transição entre os biomas Cerrado e Floresta Amazônica (Haidar *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2006). Amostras de fezes de *A. belzebul* encontradas nas trilhas foram coletadas e imediatamente acondicionadas em frascos coletores universais (70 ml), mantidos em bolsa térmica ao abrigo do calor. As amostras foram mantidas em geladeira a 4°C, em seguida lavadas em uma peneira com água corrente para eliminar os restos fecais (Glander, *et al.* 1991), deixando apenas as sementes dos frutos e os materiais foliares que fazem parte da dieta da espécie (Benítez-Malvido *et al.* 2014). As sementes de frutos encontradas nas amostras de fezes do animal, após lavadas e secas, foram colocadas para germinar em sementeira com substrato específico e em seguida transferidas para tubetes com o mesmo substrato, ambos processos foram realizados dentro do viveiro florestal, evitando uma possível contaminação por fungos ou ataque de insetos (Oliveira *et al.*, 2016). O substrato específico utilizado foi o da empresa DACKO que têm as seguintes características: turfa de *Sphagno*, vermiculita expandida, casca de arroz torrefada, calcário dolomítico, gesso agrícola e fertilizante NPK, pH de aproximadamente 5,0, condutividade elétrica 0,4 mS. cm⁻¹, densidade 155 kg.m⁻³, umidade máxima de 60% e capacidade de retenção de água – CRA(10) de 55%. A irrigação foi realizada duas vezes ao dia, uma vez pela manhã e uma vez a tarde. As sementes e as plântulas foram identificadas com o auxílio de um guia de espécies nativas do Brasil (Lorenzi, 1998).

A equipe, formada por cinco pessoas (duas biólogas, um veterinário e dois auxiliares), totalizou 304 horas de busca ativa em dois meses. Um grupo formado por três indivíduos de *A. belzebul*, um macho adulto, uma fêmea adulta e um indivíduo subadulto cujo sexo não foi identificado, foi avistado dez vezes nas áreas. Vestígios foram registrados (odor, urina e fezes) e três amostras de fezes foram coletadas (Tabela 1). Uma amostra, coletada em fevereiro, continha 119 sementes dos frutos de

Protium heptaphyllum (Aubl.) Marchand (almecegueira, breu-branco), pertencente à família Burseraceae. Dessas, 17 sofreram ataques de insetos durante processo de secagem, 102 sementes foram colocadas para germinar, 64 germinaram após 11 dias e 53 delas estão em estágio de muda (Figura 1). Este número representa, aproximadamente, 52% de sucesso de germinação, que é maior do que o observado para outras espécies do mesmo gênero (Bonvicino, 1989; Stevenson *et al.*, 2015).

A partir da análise do conteúdo fecal coletado observamos que a espécie se alimentou, principalmente, de frutos de *P. heptaphyllum*, nos meses após a maturação desses frutos que, segundo Lorenzi (1998) e Muniz (2008) ocorre a partir de dezembro. Esta é uma espécie vegetal com ampla distribuição geográfica em áreas de Cerrado e Floresta Amazônica, e o consumo por *A. belzebul* já foi observado anteriormente em diferentes biomas brasileiros, especialmente em períodos chuvosos, quando gastam maior parte do tempo de atividade consumindo frutos calóricos (Bonvicino, 1989; Pinto, 2003). O fruto dessa espécie vegetal está entre os mais consumidos pelos guaribas, não somente pelo consumo

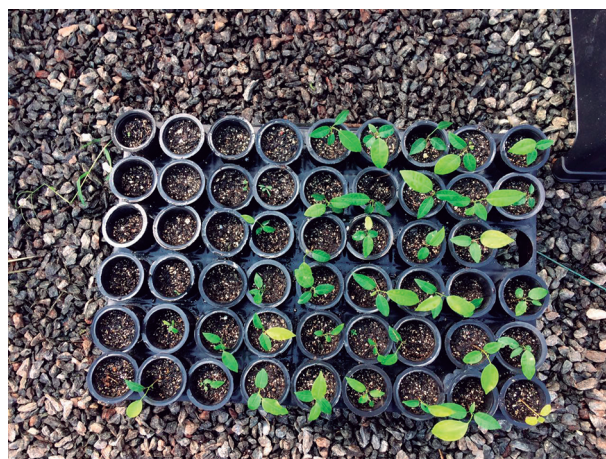


Figura 1: Mudanças de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) em desenvolvimento obtidas a partir das sementes presentes nas fezes de *Alouatta belzebul* presentes nas áreas de influência da Usina Hidrelétrica de Estreito (Tocantins, Brasil).



da polpa, mas da casca e semente em diferentes estágios de maturidade (Bonvicino, 1989; Stevenson *et al.*, 2015). O desenvolvimento das sementes significa que as mesmas se mantiveram viáveis, ou seja, mesmo após passarem pelo sistema digestório do primata e liberadas nas fezes, ainda possuem a capacidade de germinativa (Arroyo-Rodríguez *et al.*, 2015; González-Di Pierro *et al.*, 2011). Esse resultado demonstra que a dispersão de sementes pela espécie é efetiva (Ribeiro & Tabarelli, 2002). Com a continuidade deste monitoramento, novos resultados de testes de germinação poderão contribuir para a compreensão do papel dessa espécie na manutenção da heterogeneidade e diversidade florística da área e para a disponibilidade de recursos alimentares (Garber *et al.*, 2015; Moura & McConkey, 2007).

Para a região de mata amazônica no estado do Maranhão, é previsto que a frutificação de *P. heptaphyllum* ocorra até o mês de dezembro (Muniz, 2008). Durante o mês de abril poucos frutos foram observados nas árvores e solo das áreas. De acordo com o esperado, as duas amostras de fezes coletadas durante esse mês continham somente restos de folhas, flores e caules de espécies vegetais. A partir desse registro, nota-se uma semelhança com outros estudos sobre os padrões de consumo de recursos alimentares disponíveis por espécie, que pode variar em função da fenologia e sazonalidade das espécies vegetais (Chapman *et al.*, 2012; Milton, 1998; Pinto, 2003; Zárate *et al.*, 2014; Lambert, 2017).

Entender o papel desempenhado pelos macacos é um desafio, tendo em vista que, atualmente, os guaribas-de-mãos-ruivas sofrem ameaças por interferências humanas como a degradação de habitat, o que os coloca em risco iminente de extinção (Howe & Miriti, 2004; Jordano *et al.*, 2011). O entendimento da dieta e da dispersão de sementes por *A. belzebul* pode auxiliar na tomada de decisão quanto a conservação da espécie. Projetos de conservação para a proteção do guariba-de-mãos-ruivas são fundamentais não somente para a manutenção de suas populações, atualmente consideradas vulneráveis, assim como para a manutenção de populações viáveis de espécies vegetais através da dispersão de sementes.

A coleta e análise de dados dessa pesquisa foi realizada em conformidade com a legislação brasileira sobre ética na pesquisa científica em biodiversidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Consórcio Estreito Energia e Biotas Projetos e Consultoria pelo apoio logístico, financeiro e disponibilização de dados, a Karize E.R. Patriota pela identificação das sementes, Bruno M. de Mello e a empresa Deflora pelo plantio das sementes, Fernando Estevam pela elaboração do mapa da área de estudo.

REFERÊNCIAS

Arroyo-Rodríguez V, Andresen E, Bravo SP, Stevenson PR. 2015. Seed dispersal by howler monkeys: current knowledge, conservation Sagnori MD *et al.*: Ecologia alimentar de *Alouatta belzebul*

- implications, and future directions. Pp. 111-139, In: Kowalewski M, Garber P, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatos D (Eds.), Howler monkeys developments in primatology: progress and prospects. Springer, New York.
- Arroyo-Rodríguez V, Dias PAD. 2010. Effects of habitat fragmentation and disturbance on Howler monkeys: a review. *American Journal of Primatology* 72(1): 1-16. <http://doi.org/10.1002/ajp.20753>.
- Benítez-Malvido J, González – Di Pierro AM, Lomera R, Guillén S; Estrada A. 2014. Seed source, seed traits, and frugivore habits: implications for dispersal quality of two sympatric primates. *American Journal of Botany* 101(6): 970-978.
- Bonvicino CR. 1989. Ecologia e comportamento de *Alouatta belzebul* (Primates: Cebidae) na Mata Atlântica. *Revista Nordestina de Biologia* 6(2): 149-179.
- Chapman CA, Rothman JM, Lambert J. 2012. Food choice as a selective force. Pp. 149-168, In: Mitani JC, Call J, Kappeler PM, Palombi RA, Silk JB (Eds.), *Primates: the evolution of primate societies*. University of Chicago Press, Chicago.
- Garber PA, Righini N, Kowalewski MM. 2015. Evidence of alternative dietary syndromes and nutritional goals in the genus *Alouatta*. Pp. 85-105, In: Kowalewski M, Garber P, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatos D (Eds.), *Howler monkeys: behavior, ecology, and conservation*. Springer, New York.
- Glander KE, LM Fedigan, L Fedigan, Chapman C. 1991. Field methods for capture and measurement of three monkeys in Costa Rica. *Folia Primatologica* 57(2): 70-82. <http://doi.org/10.1159/000156567>.
- González-Di Pierro AM, Benítez-Malvido J, Méndez-Toribio M, Zermeno I, Arroyo-Rodríguez V, Stoner KE, Estrada A. 2011. Effects of the physical environment and primate gut passage on the early establishment of *Ampelo cerahottlei* standley in rain forest fragments. *Biotropica* 43(4): 459-466. <http://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2010.00734.x>.
- Haidar RF, Fagg JMF, Pinto JRR, Dias RR, Damasco G, Silva LDCR, Fagg CW. 2013. Florestas estacionais e áreas de ecótono no estado do Tocantins, Brasil: parâmetros estruturais, classificação das fitofisionomias florestais e subsídios para conservação. *Acta Amazonica* 43(3): 261-290.
- Howe HF, Smallwood J. 1982. Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 201-228.
- Howe HF, Miriti MN. 2004. When seed dispersal matters. *BioScience* 54(7): 651-660. [http://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0651:WSDM\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0651:WSDM]2.0.CO;2).
- Jordano P, Forget PM, Lambert JE, Böhning-Gaese K, Traveset A, Wright SJ. 2011. Frugivores and seed dispersal: mechanisms and consequences for biodiversity of a key ecological interaction. *Biology Letters* 7(3): 321-323. <http://doi.org/10.1098/rsbl20100986>.
- Kowalewski MM, Garber PA, Cortés-Ortiz L, Urbani B, Youlatos D. 2014. *Howler monkeys: behavior, ecology, and conservation*. Springer, New York.
- Lambert JE. 2017. Ecological Communities. *The International Encyclopedia of Primatology*. <http://doi.org/10.1002/9781119179313.wbprim0128>.
- Lorenzi H. 1998. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum, São Paulo.
- Milton, K. 1998. Physiological Ecology of Howlers (*Alouatta*): energetic and digestive considerations and comparison with the Colobinae. *International Journal of Primatology* 19(3): 516-548. <http://doi.org/10.1023/A:1020364523213>.
- Moura ACA, McConkey KR. 2007. The Capuchin, the Howler, and the Caatinga: Seed dispersal by monkeys in a threatened Brazilian forest. *American Journal of Primatology* 69(2): 220-226. <http://doi.org/10.1002/ajp.20343>.
- Muniz FH. 2008. Padrões de floração e frutificação de árvores da Amazônia Maranhense. *Acta Amazonica* 38(4): 617-626.
- Oliveira MD, Ogata R, De Andrade GA, Santos DDS, Souza R, Guimaraes T, Júnior MCS, Pereira DJS, Ribeiro JF. 2016. Manual de viveiro e produção de mudas: espécies arbóreas nativas do Cerrado. Embrapa Cerrados. Editora Rede de Sementes do Cerrado, Brasília, DF.
- Pinto ACB, Azevedo-Ramos C, Carvalho Jr O. 2003. Activity patterns and diet of the howler monkey *Alouatta belzebul* in areas of logged and unlogged forest in Eastern Amazonia. *Animal Biodiversity and Conservation* 262: 39-49.
- Ribeiro LF, Tabarelli M. 2002. A structural gradient in cerrado vegetation of Brazil: changes in woody plant density, species



- richness, life history and plant composition. *Journal of Tropical Ecology* 18(5): 775-794.
- Silva JF, Fariñas MR, Felfili JM, Klink, CA. 2006. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. *Journal of Biogeography* 33(3): 536-548. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2005.01422.x>.
- Stevenson PR, Beltrán ML, Quiñones MJ, Ahumada JA. 2015. Diferencias en el rango de hogar, el patrón de actividades y la dieta de monos aulladores rojos en bosque continuo y en un fragmento de bosque en Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 39(153): 514-519. <http://doi.org/10.18257/raccefyn.262>.
- Valença-Montenegro MM, Fialho MS, Carvalho AS, Ravetta AL, Régis T, Melo FR, Veiga LM. 2012. Avaliação do Risco de Extinção de *Alouatta belzebul* (Linnaeus, 1766) no Brasil. In: Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira ICMBio. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br>. Acesso em: 03 de março de 2018.
- Veiga LM, Kierulff C, de Oliveira MM. 2008. *Alouatta belzebul*. IUCN 2017 The IUCN Red List of Threatened Species 2008: Versão 3.1. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 09 de março de 2018.
- Zárate DA, Andresen E, Estrada A, Serio-Silva JC. 2014. Black howler monkey (*Alouatta pigra*) activity, foraging and seed dispersal patterns in shaded cocoa plantations versus rainforest in southern Mexico. *American Journal of Primatology* 76: 890-899. <http://doi.org/10.1002/ajp.22276>.

Submetido em: 15/julho/2017
Aceito em: 15/dezembro/2017



Uso de imagens térmicas infra-vermelho para localização e captura de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus* Mikan, 1823) *in situ*

Cauê Monticelli^{1,*}, Rodrigo Pinho Gomez Lopez² & Lucas Tadeu Peloggia Caldano³

¹ Setor de Mamíferos, Divisão de Ciências Biológicas, Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), São Paulo, SP, Brasil.

² Departamento Técnico, Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), São Paulo, SP, Brasil.

³ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência: cmchelli@uol.com.br

Resumo: Devido à dificuldade de capturar os animais diante dos sítios de pernoite utilizados pelos micos-leões-pretos (*Leontopithecus chrysopygus*) da Floresta Nacional Capão Bonito, SP, avaliamos o uso de equipamento para captação de imagens térmicas infra-vermelho como método complementar para localização dos grupos e posterior captura para coleta de material biológico. Neste sentido, nós discutimos a hipótese de que o calor corpóreo pode aquecer o tronco da árvore onde os animais estavam abrigados, facilitando sua localização. O uso da termografia favoreceu a localização e captura dos grupos quando associado à identificação e georreferenciamento de ocos de árvores para posterior análise do gradiente térmico.

Palavras-Chave: Callitrichidae; Termografia; Localização de mamíferos.

Abstract: Use of infrared thermal imaging for locate and capture black-lion-tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*, Mikan, 1823) *in situ*. Due to the difficulty of capture the animals on sleeping sites used by black-lion-tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*) of the Capão Bonito National Forest (São Paulo, SP), we evaluated the use of infrared thermal imaging equipment as complementary method for locating the groups and capture for collection of biological material. In this sense, we discuss the hypothesis that the body heat could heat the wood in which the animals were sheltered. The use of thermography favored the location and capture of the groups when associated with the identification and georeferencing of tree hollows for later analysis of the thermal gradient.

Key-Words: Callitrichidae; Thermography; Locating mammals.

O mico-leão-preto, *Leontopithecus chrysopygus*, é o maior primata dentre os calitriquídeos e endêmico da Mata Atlântica do sudeste brasileiro (Coimbra-Filho, 1976a; Kierulff *et al.*, 2008). Atualmente, está Em Perigo de extinção, cuja principal ameaça à espécie é a fragmentação do habitat e o pequeno tamanho populacional (Brasil, 2014; Rylands *et al.*, 2002). Pesquisas com primatas em ambiente florestado são muito difíceis, especialmente em caso de primatas arbóreos (Watsa *et al.*, 2015). Tais dificuldades estão relacionadas à manutenção dos animais no campo de visão, principalmente quando espécies de pequeno porte são alvos de estudos, tornando o monitoramento e captura uma tarefa difícil (Savage *et al.*, 1993). Sabendo que as espécies de *Leontopithecus* predominantemente utilizam ocos de árvores como abrigos noturnos (Kierulff *et al.*, 2002), foi pressuposto que a madeira das árvores poderia ser aquecida pelo contato com os mamíferos, cuja variação térmica seria passível de aferimento por um termógrafo para então acusar a presença dos micos-leões-pretos quando abrigados nos ocos de árvores, favorecendo assim, a possibilidade de captura.

As câmeras de imagem térmica são amplamente utilizadas para observar e detectar animais selvagens em seus habitats (Boonstra *et al.*, 1994; Ditchkoff *et al.*, 2005; Garner *et al.*, 1995; McCullough *et al.*, 1969). A vantagem está relacionada a não necessidade de manusear ou perturbar o animal. As medições em infra-vermelho possibilitam análises próximas (< 1 m) e distantes (> 1000 m) (McCafferty, 2007), além de permitir avaliação da presença/ausência dos animais pelas imagens coloridas e quentes geradas sob um fundo escuro de coloração fria, o que é suficiente para diagnosticar a presença dos animais (Cilulko *et al.*, 2013). Segundo Boonstra *et al.* (1994), os objetos que são mais quentes do que objetos adjacentes em 0,1°C podem ser detectados a distâncias de até 500 metros, pois a radiação infravermelha é emitida por todos objetos com temperatura acima de zero absoluto (Hill & Clayton, 1985). A imagem infravermelha se torna visível no termograma a partir de sensores que convertem a energia e concentram a radiação térmica em detectores que emitem sinais de tensão proporcionais à temperatura do cenário captado que, após amplificação, é transformada em

imagem visível através de diodos emissores de luz (Hill & Clayton, 1985). Diante deste cenário, o objetivo deste estudo é apresentar uma metodologia complementar que foi utilizada para aumentar a chance de encontro e captura de grupos de micos-leões-pretos com base na localização dos animais por imagens térmicas infravermelho para obtenção de material biológico para estudos genéticos.

A área de estudo foi a Floresta Nacional de Capão Bonito (Flona) (23°54'57,8"S, 48°30'53,5"O, Datum: WGS-84), que apresenta 4.773,83 ha e abrange os municípios de Buri e Capão Bonito (SP). Os biomas da área são o Cerrado e a Mata Atlântica, sendo que a vegetação é descrita como Savana, Floresta Ombrófila Mista e Floresta Estacional Semidecidual (ICMBio, 2013). O limite leste faz divisa com o rio Paranapitanga e a oeste com o rio Apiaí Mirim. Abriga em seu interior inúmeras nascentes, córregos, açudes e insere-se na bacia hidrográfica do Alto Paranapanema. Os reflorestamentos realizados na Flona totalizam 3.489,39 ha distribuídos entre *Araucaria angustifolia* e *Pinus* sp. Completando a cobertura vegetal, somam-se outros 270 ha de mata ciliar com ecossistemas de várzea na porção leste, em paralelo ao rio Apiaí-mirim (ICMBio, 2013). Dezoito trilhas que variaram de 0,4 a 2,8 km foram inseridas em todas as áreas de potencial hábitat para mico-leão-preto de forma a conhecer a área, identificar os grupos e georreferenciar

(GPS Garmin Etrex 30) ocos de árvores que pudessem ser utilizados pelos micos-leões-pretos (Figuras 1A-B). Após identificação, as mesmas trilhas foram percorridas antes do amanhecer (3 h às 6 h) com auxílio do equipamento de termografia (Flir, modelo E40). Os ocos identificados foram analisados de forma a avaliar a presença ou ausência dos animais a partir do gradiente de temperatura apresentado para posterior captura dos animais para coleta de material biológico.

Durante cinco campanhas de 30 dias cada (1.200 h) para reconhecimento da área e localização dos grupos dentro da Flona, 23 ocos foram identificados e georreferenciados de forma que, as tentativas de localização dos grupos pela termografia duraram 30 horas divididas entre 10 dias. Dois de três eventos de captura foram propiciados a partir da avaliação do gradiente térmico apresentado pelo termógrafo enquanto os animais ainda estavam abrigados no interior das árvores (Figuras 1C-D). O aumento térmico na porção do oco em contato com os animais foi de até 1,5°C quando comparado às porções adjacentes da mesma árvore. Este aumento foi suficiente para o equipamento utilizado gerar uma imagem nítida e precisa quanto à localização dos primatas.

Quando próximo dos pesquisadores, os micos optavam por pernoitar em emaranhados de cipó ou na copa de araucárias. A utilização dessas estruturas para pernoite já é conhecida (Mamede, 1997), sendo que o uso

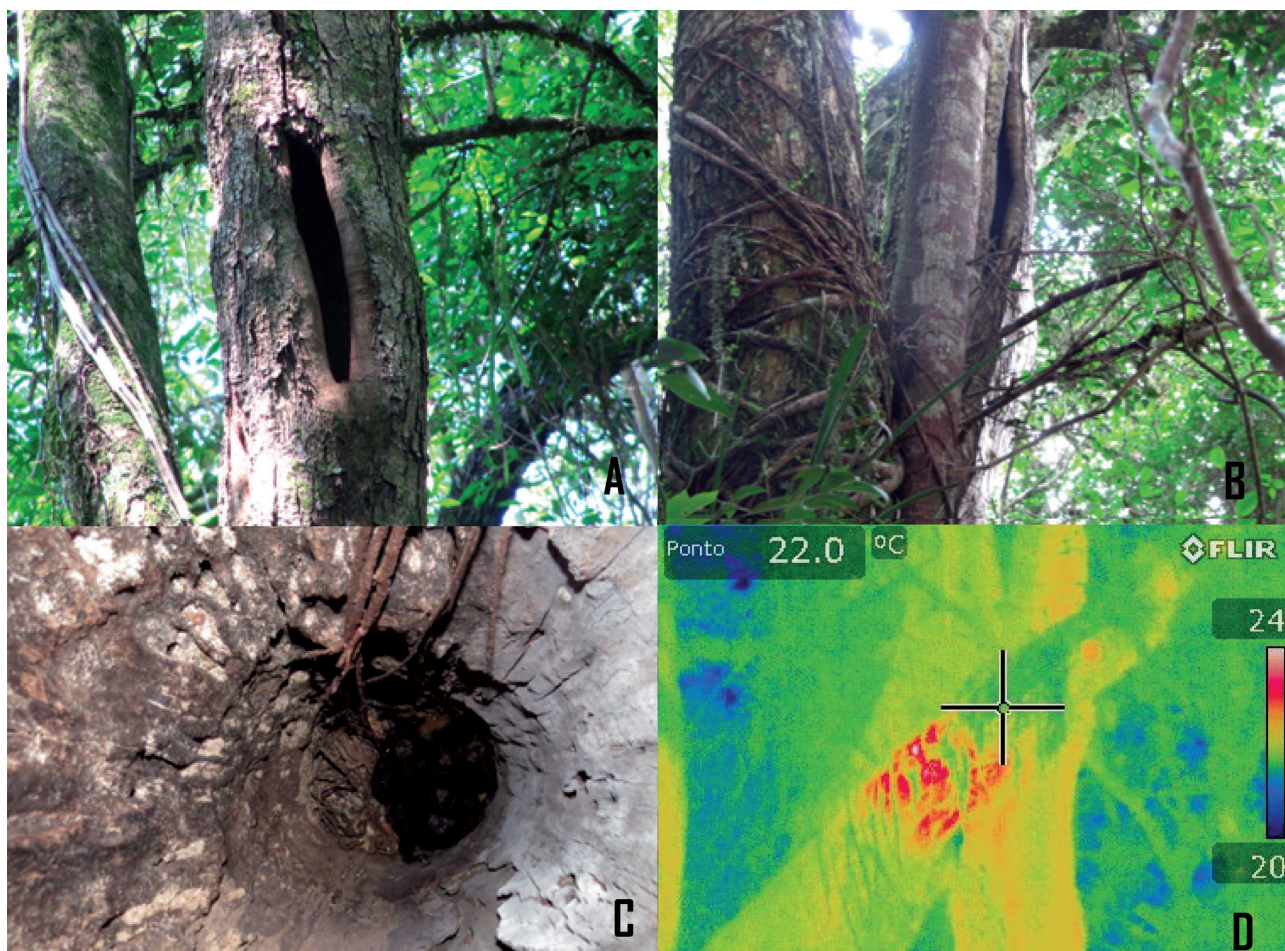


Figura 1: (A-B) Características de possíveis ocos utilizados pelos animais. Foto: Cauê Monticelli; (C) Grupo de *Leontopithecus chrysopygus* no interior do abrigo. Foto: Rodrigo Lopez; (D) variação térmica apresentada pelo equipamento de termografia durante avaliação externa. Foto: Cauê Monticelli.



de ocos não parece ser um fator limitante que restrinja a utilização do habitat pela espécie (Valladares-Padua, 1993). Porém, a utilização dessas estruturas inviabilizou os procedimentos de captura conforme metodologia de Valladares-Padua (1993) pela altura em que os animais ficavam quando na copa das araucárias e pela instabilidade das estruturas quando em emaranhados de cipó. Portanto, o uso do termógrafo após georreferenciamento dos potenciais ocos viabilizou o encontro e a captura da espécie alvo, sendo que o período de varredura com termógrafo (antes do amanhecer) foi selecionado com intuito de aumentar o tempo para condução do calor dos animais para a madeira da árvore utilizada como abrigo, fato somado à dinâmica da atividade da espécie, pois neste período os grupos ainda não iniciaram as atividades diárias e ainda permanecem nos sítios de pernoite.

Alguns estudos utilizaram imagens térmicas infravermelho para localização de mamíferos terrestres (Graves *et al.*, 1972; Wiggers & Beckerman, 1993 com *Odocoileus virginianus*; Boonstra *et al.*, 1994 com *Tamiasciurus hudsonicus*, *Spermophilus parryi*, *Lepus americanus* e *Zapus hudsonius*; Ditchkoff *et al.*, 2005 com *Odocoileus virginianus*; Butler *et al.*, 2006 com *Odocoileus* spp.; Collier *et al.*, 2007 com *Odocoileus virginianus*), porém, pouco foi feito com mamíferos arborícolas. Nesta aplicação, as dificuldades encontradas foram relacionadas às áreas em regeneração com maior presença de sub-bosque e a maior quantidade de epífitas em determinadas árvores. A sobreposição de objetos ao longo do campo de visão do equipamento tendeu a gerar imagens de menor clareza devido à incapacidade de penetração na vegetação. Resultado similar também foi observado por Boonstra *et al.* (1994) para *Tamiasciurus hudsonicus*, *Spermophilus parryi*, *Lepus americanus* e *Zapus hudsonius*. Contudo, foi possível observar que a visão termal foi eficiente para apontar a diferenciação térmica nos ocos e, consequentemente, favoreceu a localização e captura dos animais que habitam a Floresta Nacional de Capão Bonito quando não foi possível acompanhar os grupos até o sítio de pernoite ou quando a presença dos pesquisadores inibia os animais na escolha de abrigos mais próximos do solo.

Apesar do sucesso da utilização deste equipamento na Flona de Capão Bonito, a metodologia pode possuir entraves significativos quando áreas de elevada preservação forem amostradas, principalmente devido ao tamanho da área a ser percorrida, a maior quantidade de ocos com potencial utilização e maior presença de epífitas que agem como barreira para leitura térmica do tronco das árvores. Além disso, todos esses fatores podem inviabilizar a técnica pela falta de praticidade e custo-benefício quando associado ao esforço de campo requerido. Porém, em áreas menores com possibilidade de rápida varredura com o termógrafo ou quando a área de vida do grupo alvo já é conhecida, a metodologia pode ser utilizada como complementação das ações a partir da localização do abrigo em uso pelos primatas e posterior captura, conforme apresentado neste estudo.

Monticelli C *et al.*: Termografia para localização e captura de *Leontopithecus chrysopygus*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente com as atividades relacionadas aos estudos de campo, à Fundação Parque Zoológico de São Paulo e à Universidade Federal de São Carlos. Agradecemos também aos assistentes de campo Cichinho (*in memoriam*) e Wilsinho do Instituto de Pesquisas Ecológicas.

REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Portaria Nº 444 de 17 de dezembro de 2014, Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção. <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=121&data=18/12/2014>. Acesso em: 26 de outubro de 2017.
- Boonstra R, Krebs CJ, Boutin S, Eadie JM. 1994. Finding mammals using far-infrared thermal imaging. *Journal of Mammalogy* 75(4): 1063-1068. <http://doi.org/10.2307/1382490>.
- Butler DA, Ballard WB, Haskell SP, Wallace MC. 2006. Limitations of thermal infrared imaging for locating neonatal deer in semiarid shrub communities. *Wildlife Society Bulletin* 34(5): 1458-1462. [http://doi.org/10.2193/0091-7648\(2006\)34\[1458:LOTIIF\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.2193/0091-7648(2006)34[1458:LOTIIF]2.0.CO;2).
- Cilulko, J, Janiszewski P, Bogdaszewski M, Szczielska E. 2013. Infrared thermal imaging in studies of wild animals. *European Journal of Wildlife Research* 59(1): 17-23. <http://doi.org/10.1007/s10344-012-0688-1>.
- Coimbra-Filho AF. 1976a. *Leontopithecus rosalia chrysopygus* (Mikan, 1823), o mico-leão do Estado de São Paulo. *Silvicultura*, 10: 1-36.
- Collier BA, Ditchkoff SS, Raglin JB, Smith JM. 2007. Detection probability and sources of variation in white-tailed deer spotlight surveys. *The Journal of Wildlife Management* 71(1): 277-281. <http://doi.org/10.2193/2005-728>.
- Ditchkoff SS, Raglin JB, Smith JM, Collier BA. 2005. From the field: capture of white-tailed deer fawns using thermal imaging technology. *Wildlife Society Bulletin* 33(3): 1164-1168. [http://doi.org/10.2193/0091-7648\(2005\)33\[1164:FTFCOW\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.2193/0091-7648(2005)33[1164:FTFCOW]2.0.CO;2).
- Garner DL, Underwood HB, Porter WF. 1995. Use of modern infrared thermography for wildlife population surveys. *Journal of Environmental Management* 19(2): 233-238. <http://doi.org/10.1007/BF02471993>.
- Graves HB, Bellis ED, Knuth WM. 1972. Censuring white-tailed deer by airborne thermal infrared imagery. *The Journal of Wildlife Management* 36(3): 875-884. <http://doi.org/10.2307/3799443>.
- Heymann EW. 1995. Sleeping habits of tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis* (Mammalia, Primates, Callitrichidae) in north-eastern Peru. *Journal of Zoology* 237(2): 211-226. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb02759.x>.
- Hill SB, Clayton DH. 1985. Wildlife after dark: a review of nocturnal observation techniques. James Ford Bell Museum of Natural History Occasional Paper 17: 1-21.
- Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade. 2013. Floresta Nacional de Capão Bonito, São Paulo. <http://www.icmbio.gov.br/portal/flona-de-capao-bonito>. Acesso em: 12 de julho de 2017.
- Kierulff MC, Raboy BE, Oliveira PP, Miller K, Passos FC, Prado F. 2002. Behavioral ecology of lion tamarins. Pp. 157-187, In: Kleiman D, Rylands AB (Eds.), *The lion tamarins of Brazil: Twenty-five years of research and conservation*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Kierulff MCM, Rylands AB, Mendes SL & Oliveira MM. 2008. *Leontopithecus chrysopygus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T11505A3290864. <http://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T11505A3290864.en>. Downloaded in: 26 October 2017.
- Mamede AC. 1997. Ecologia de um grupo de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus* Mikan, 1823) na mata ciliar da fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista, SP. Dissertação de mestrado



- em Ciências Biológicas (Zoologia), Instituto de biociências do Campos de Rio Claro, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, Brasil.
- McCafferty, DJ. 2007. The value of infrared thermography for research on mammals: previous applications and future directions. *Mammal Review* 37(3): 207-223.
- McCullough DR, Olson CE, Queal LM. 1969. Progress in large animal census by thermal imaging. Pp. 138-147, In: Johnson PL (Ed.), *Remote sensing in ecology*. The University of Georgia Press, Athens.
- Mittermeier RA, Pádua CV, Valle CMC, Coimbra-Filho AF. 1985. Major program underway to save the black lion tamarin in São Paulo, Brazil. *Primate Conservation* 6: 19-21.
- Rylands AB, Kierulff MC, Pinto LP. 2002. Distribution and status of lion tamarins. Pp. 42-70, In: Kleiman DG, Rylands AB (Eds.), *Lion Tamarins: Biology and Conservation*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Savage A, Giraldo H, Blumer ES, Soto LH, Burguer W, Snowdon CT. 1993. Field techniques for monitoring cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus oedipus*) in Colombia. *American Journal of Primatology* 31: 189-196. <http://doi.org/10.1002/ajp.1350310304>.
- Valladares-Padua C. 1993. The ecology, behavior and conservation of the back lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*, Mikan, 1823). Dissertação de doutorado. Universidade da Flórida, Gainesville, EUA.
- Watsa M, Erkenwick G, Halloran D, Kane EE, Poirier A, Klonoski K, Cassalet S, Maciag E, Mangalea MR, Dinsmore MP, McCready H, Boughan BK, Parker C, Hickmott A, Bazan IEN, Zuniga A. A field protocol for the capture and release of Callitrichids. *Neotropical Primates* 22(2): 59-68.
- Wiggers EP, Beckerman SP. 1993. Use of thermal infrared sensing to survey white-tailed deer populations. *Wildlife Society Bulletin* 21: 263-268. <http://www.jstor.org/stable/3782864>.

Submetido em: 15/julho/2017

Aceito em: 09/dezembro/2017



Non-invasive techniques for reproductive endocrine monitoring in Atlantic Forest primates

Gisela Sobral^{1,*}, Gabriela Siqueira Martins¹, Mauricio Talebi² & Claudio Alvarenga de Oliveira¹

¹ Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

² Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Campus Diadema, Diadema, SP, Brasil.

* Autor para correspondência: gsobral@usp.br

Abstract: Traditional reproductive endocrine studies require repeated blood sampling for hormonal analysis, a routine unfeasible in wild populations. Non-invasive sampling enables longitudinal and constant monitoring of wild animal, but still embryonic among primate studies. Faeces can be collected easily and are the most used biological matrix employed in a variety of studies, from hormonal to genetic ones. Urine, on the other hand, is harder to obtain but is richer in information. Other matrices that are even less common include semen, saliva and hair, all of which require ingenious devices for sampling. Besides saliva, that provides real-time hormonal assessment, hormonal concentration in all other matrices is cumulative and depicts elimination over a period of time, such as a few hours in urine, around a day in faeces and a few weeks or months in hair, thus not ideal for detecting specific events. There are still many Neotropical primates which reproduction is virtually unknown. This incipient knowledge is possibly a reflection of this group's biology and habitat. Proper conservation measures will benefit from any non-invasive reproductive studies, a promising area for wild primates, particularly New World ones.

Key-Words: Urine; Hormones; Platyrrhini; Brazil.

Resumo: Técnicas não-invasivas para monitoramento endócrino reprodutivo em primatas da Mata Atlântica. Tradicionalmente, estudos endócrinos reprodutivos requerem amostragens seriadas de sangue para análise hormonal, uma rotina inviável em populações selvagens. A amostragem não invasiva permite o monitoramento longitudinal e constante de animais silvestres, ainda embrionária entre os estudos com primatas. As fezes podem ser coletadas facilmente e são a matriz biológica mais utilizada em uma variedade de estudos, desde hormonais até genéticos. A urina, por outro lado, é mais difícil de se obter, porém é mais rica em informações. Outras matrizes ainda menos comuns incluem o sêmen, a saliva e o pelo, que requerem dispositivos engenhosos para sua coleta. Enquanto a saliva fornece níveis hormonais praticamente em tempo real, as concentrações hormonais nas demais matrizes são cumulativas e retratam a eliminação de hormônios após um tempo, sendo após algumas horas na urina, cerca de um dia nas fezes e algumas semanas ou meses nos pelos, não sendo recomendadas para se detectar eventos específicos. Ainda existem muitos primatas Neotropicais cuja reprodução é virtualmente desconhecida. Esse conhecimento incipiente é possivelmente um reflexo da biologia e do hábitat desse grupo. Políticas de conservação se beneficiarão de qualquer estudo reprodutivo não-invasivo, uma área promissora para primatas selvagens, especialmente para os do Novo Mundo.

Palavras-Chave: Fezes; Urina; Hormônios; Platyrrhini; Brazil.

Reproduction is the base of evolution or extinction of a species as it has pivotal role in population processes (birth or death), the pillars of conservation (Cooke & O'Connor, 2010). Thus, the most successful conservation measures are those that include information on the reproductive biology of the organism in question (Wildt *et al.*, 2003). Most reproductive biology studies in either free ranging or captive individuals investigate the relationship between hormones and reproduction (Schwarzenberger *et al.*, 1996).

There is a wide array of hormones related directly or indirectly to reproduction, such as steroid hormones

(androgens, progestogens, oestrogens, and corticosteroids); peptide and proteic hormones (oxytocin, prolactin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, gonadotrophin releasing hormone, inhibin, activating, lactogen, chorionic gonadotropin, anti-müllerian hormone), and prostaglandins (Senger, 2005). Each hormone answers different research questions as each is involved in a myriad of biological processes (Senger, 2005). For instance, oxytocin and prolactin have been shown to play an important role in parent-infant bonding (Maestriperi *et al.*, 2009), and, in monogamous species, it has been associated with father and paternal behaviour



(Bales *et al.*, 2004; Wynne-Edwards, 2001). Oestrogens and progestogens, on the other hand, are used for assessing ovarian cycle and pregnancy (Whitten *et al.*, 1998). Oestrogens are also linked to the expression of maternal behaviour in most Callithrichidae (Pryce *et al.*, 1988), despite the fact that it had a negative correlation with maternal behaviour in *Callithrix kuhlli* (Fite & French, 2000). Elevated testosterone levels in females were correlated with decreased maternal but the effect of this hormone in paternal care remains under discussion as both high and low levels were correlated with a better paternal care (Fite *et al.*, 2005; Roberts *et al.*, 1996; Ziegler & Snowdon, 2000). In males, additionally, testosterone has a prominent role in aggressiveness, dominance rank, development of secondary sexual characteristics, and male fertility in many primate species (Dixon *et al.*, 1993; Dohle *et al.*, 2003; Wickings & Dixon, 1992; Wickings *et al.*, 1993). Glucocorticoids are probably one of the most widespread hormones studied. Stress situations cause the release of adrenal steroids such as glucocorticoids, and chronic stress may impend reproduction activity and spermatogenesis (Teixeira *et al.*, 2007). Anti-müllerian hormones (AMH) have been gaining importance only recently. Originally, it was known to be important in the development of male reproductive system (Jost, 1953), but, in the ovaries, it alters follicle development (Durlinger *et al.*, 2002).

Traditionally, reproductive studies make use of invasive methods, such as blood collection for measuring hormones, requiring animals' capture and sedation (Shimizu, 2005). Although they are the most informative (Heistermann, 2010), the effects of handling should not be considered as unimportant (Wilson & McMahon, 2006). Field improvised laboratories are not sterile or controlled, and stress caused by containment situation as well as the risk of injury and death to the animal are major concerns (Arnemo *et al.*, 2006). Hence, ethical and logistic issues limit its use in the wild (Strier & Ziegler, 2005). Yet, hormones are modified by bacteria in the gut and broken down into metabolites (Palme, 2005), end products that will be eliminated from body system either via urinary or digestive system (Palme, 2005; Taylor, 1971). This process allowed the measurement of hormones indirectly via urine and faeces, the two most widely used matrices for non-invasive techniques.

The advent of non-invasive methods for hormone measurement has improved the study of reproduction from both free-ranging and captive animals since it was no longer necessary to go through the whole process of capture. Non-invasive sampling has also leveraged research on molecular genetic analysis for wild populations (Nsubuga *et al.*, 2004). Genetic analysis can be used for sex identification (Bradley *et al.*, 2001), as well as paternity and maternity tests, consequently assessing male and female reproductive success (Garber *et al.*, 2016; Oklander *et al.*, 2004; 2014; Strier *et al.*, 2011). Reproductive data, however, are available mostly to Old World Monkeys (Catarrhini), such as gorillas, chimpanzees, baboons, and macaques. These Old-World monkeys are mostly large bodied, terrestrial, and inhabiting open areas, facilitating

observation and sample collection (Dixon, 1998). Conversely, New World primates are smaller, arboreal and forest-dwellers. Forest-dwelling primates are harder to find and follow than savannah-dwelling ones, coupling greater distance from observer and lower light inside forest as obstacles to overcome (Glander *et al.*, 1991).

The few studies on reproductive hormones of New World monkeys (Platyrrhini), however, revealed that they differ from the patterns found for Catarrhini. The Platyrrhini do not show the pre-ovulatory oestrogen peak neither in urine nor in faeces (Ziegler *et al.*, 2009) due to differences in steroid metabolism and excretion (Ziegler & Wittwer, 2005). All Platyrrhini show higher steroid production and higher oestrogen conjugation, delaying oestrogen excretion (Ziegler *et al.*, 2009).

Despite the many differences in reproductive strategies between the Platyrrhini and other primates as well as the importance of reproductive data for species conservation, reproduction has been addressed for Atlantic Forest Platyrrhini only lately (as seen from the publication years cited above), reflecting its still incipient knowledge and available papers to date. Thus, the aim of the current review was to present the current non-invasive techniques for hormone sampling, and which ones have been applied to the Brazilian Atlantic Forest primates.

Preliminary Literature Survey for the Atlantic Forest Primates

Based on Paglia *et al.* (2012) species list, we consulted which primate species occurred within the Atlantic Forest biome, resulting in 24 species (Table 1). Afterwards, we performed a web search using the Scholar Google platform including the full species as keywords (e.g., "*Alouatta belzebul*") combined with the word's "urine" (and "urina", in Portuguese) and "faeces", "feces" or "faecal" (and "fezes" or "fecais", in Portuguese) until May 2017. This encompassed literature that has faeces and urine sampling within its methods, but not restricted to reproductive study purposes. In this table, we also included if a given species was endemic to Brazil (still following Paglia *et al.*, 2012) and its endangerment status (following IUCN, 2017). We also added non-published information based on personal observation for *Alouatta guariba*, *Brachyteles arachnoides* e *Sapajus nigritus*.

From the 24 species occurring in the Atlantic Forest, 21 are endemic to Brazil and 18 are between near threatened or critically endangered categories of IUCN (2017). Despite its threatened status, the use of non-invasive methods is applied sparingly. Information regarding faeces or urine collection is available for only half of the 24 species, with nearly all urine sampling conducted in captivity, except for the *Alouatta guariba*. Some groups, such as the Pitheciidae family (*Callicebus* spp.) have no application of non-invasive methods in neither the wild nor in captive individuals.

After the literature survey outcome, we divided the text into two sections. The first (Preliminary



Table 1: List of primate species, endemic or not, that occurs in the Brazilian Atlantic Forest, following Paglia *et al.* (2012). IUCN – refers to categories of threat according to IUCN Redlist (IUCN, 2017): VU = vulnerable; NT = near threatened; LC = least concern; EN = endangered; CE = critically endangered. * = refers to study only conducted in captivity. **Literature:** studies that have included faeces and urine sampling.

FAMILY/Species	IUCN	Endemic	Faeces	Urine	Literature
ATELIDAE					
<i>Alouatta belzebul</i>	VU	Yes	Yes	No	Monteiro <i>et al.</i> , 2013
<i>Alouatta caraya</i>	LC	No	Yes	No	Moreland <i>et al.</i> , 2001; Kugelmeier <i>et al.</i> , 2011; Cantarelli <i>et al.</i> , 2017
<i>Alouatta guariba</i>	LC	No	Yes	Yes	Silvestre <i>et al.</i> , 2017; present review.
<i>Brachyteles arachnoides</i>	EN	Yes	No	No	
<i>Brachyteles hypoxanthus</i>	CE	Yes	Yes	Yes*	Strier & Ziegler, 1994; Strier & Ziegler, 1997; Ziegler <i>et al.</i> , 1997
CALLITRICHIDAE					
<i>Callithrix aurita</i>	VU	Yes	No	No	
<i>Callithrix flaviceps</i>	EN	Yes	No	No	
<i>Callithrix geoffroyi</i>	LC	Yes	Yes*	Yes*	Birnie <i>et al.</i> , 2011; Musto <i>et al.</i> , 2012; Wark <i>et al.</i> , 2016
<i>Callithrix jacchus</i>	LC	Yes	Yes	Yes*	Heistermann <i>et al.</i> , 1993; Sousa <i>et al.</i> , 2005
<i>Callithrix kuhlii</i>	NT	Yes	No	Yes*	Fite & French, 2000
<i>Callithrix penicillata</i> (allien)	LC	Yes	Yes*	No	Sgai <i>et al.</i> , 2015
<i>Leontopithecus caissara</i>	CE	Yes	No	No	
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	EN	Yes	Yes	Yes*	Chaoui & Hasler-Gallusser, 1997; Catenacci <i>et al.</i> , 2009
<i>Leontopithecus chrysopygus</i>	EN	Yes	No	No	
<i>Leontopithecus rosalia</i>	EN	Yes	Yes	Yes*	Stribley <i>et al.</i> , 1987; French <i>et al.</i> , 2003; Bales <i>et al.</i> , 2005; Henry <i>et al.</i> , 2013
CEBIDAE					
<i>Sapajus flavus</i>	CE	Yes	No	No	
<i>Sapajus libidinosus</i>	LC	Yes	Yes	No	Mendonça-Furtado <i>et al.</i> , 2014
<i>Sapajus nigritus</i>	NT	No	Yes	No	Lynch <i>et al.</i> , 2002; Moreira <i>et al.</i> , 2016
<i>Sapajus robustus</i>	EN	Yes	No	No	
<i>Sapajus xanthosternos</i>	CE	Yes	No	No	
PITHECIIDAE					
<i>Callicebus coimbrai</i>	EN	Yes	No	No	
<i>Callicebus melanochir</i>	VU	Yes	No	No	
<i>Callicebus nigrifrons</i>	NT	Yes	No	No	
<i>Callicebus personatus</i>	VU	Yes	No	No	

Considerations session) are those important considerations that need to be taken into account prior the application of the non-invasive methods, which are included in the second section (Non-invasive Sampling Methods session). If no data or little data was available for the Atlantic Forest species, we provided other examples accordingly.

Preliminary Considerations

Individualization

Reproductive assessment usually is an individual evaluation and is conducted over a certain period of time, *e.g.*, the ovarian cycle of a particular female; the testosterone level of a particular male during breeding season. Punctual measures provide little more than just absolute numbers disconnected from ecological, social, and reproductive contexts. For instance, most females do not synchronise their births (one exception example *Leontopithecus rosalia*, French & Stribley, 1987) so that each female will be at different stages of her ovarian cycle. Thus, pooling multiple samples from unknown females will return patterns of hormonal fluctuation at different timings. Hormone levels also vary in relation to puberty and sexual maturity (females, Wilson *et al.*, 1984; males, Cutler Jr *et al.*, 1978). Thus, ideally,

samples should come from an individual of known sex and roughly known age (Hodges & Heistermann, 2003; Möhle *et al.*, 2002). However, there are situations in which it is not possible to discern individuals by sex nor age. In these cases, questions should focus not on the individual level, but at a broader and generalised scale, such as group level (Barja *et al.*, 2008).

Identifying animals individually requires that these animals present consistent traits at least throughout the period of study. Natural marks and singular characteristics, such as scars (*e.g.*, *Brachyteles hypoxanthus*, Strier *et al.*, 2003) and pelage pattern (*e.g.*, *Sapajus nigritus*, Lynch *et al.*, 2002), are broadly used and consistent through time. Sexual dimorphism is also consistent through time and allows individual distinction by sex (Kay *et al.*, 1988), as observed in black howler monkeys (*Alouatta caraya*; Gregorin, 2006). Species with little or no obvious sexual dimorphism, such as southern brown howler monkey (*A. clamitans*, Gregorin, 2006) and the miqui species (*Brachyteles* spp.) will require a trained eye to sex recognition (Strier *et al.*, 2003). Many primates show ontogenetic differentiation in colour, with older individuals with different colour from those of newborns' and infants' (Alley, 1980). Hence, if a particular study is long enough to allow some traits to change (such as those that vary ontogenetically), these traits should be addressed carefully.



Time lag and Validation

Non-invasive matrices (or samplings) do not provide measures from the actual hormone (the biologically active molecule), but from their metabolites instead. As they are a result of metabolic processes, any component that promotes variation in metabolic rates will affect excretion (Palme, 2005; Taylor, 1971). Sex, diet, and individual's intrinsic characteristics can/will influence hormone metabolism and, consequently, its excretion (Goymann, 2012). Because route excretion can vary among species, individuals, and hormones types (Heistermann, 2010), it is crucial to demonstrate that the non-invasive measurements reflect biological events (Narayan, 2013), such as sexual maturity or pregnancy, what is called "biological validation". There is also the need for laboratorial validation, which establishes if the assay or test used in the lab can detect the metabolites of interest (Narayan, 2013). Validation is species specific, matrix specific and assay/test specific. Specific validation methods, however, are beyond the scope of the present paper (but see Heistermann, 2010 and Goymann, 2012).

Urine and faecal metabolites are cumulative through time and represent preterit moment, so researchers need to address time according to the research question (Campbell *et al.*, 2001; Ziegler *et al.*, 1997). Urinary steroids are excreted at a faster pace than faecal, peaking at 4 to 8 hours after secretion (Ziegler *et al.*, 1989), contrasting with faecal excretion, which occurs between 24 to 72 hours after secretion (Heistermann *et al.*, 1993; Ziegler *et al.*, 1989). Thus, if combining behavioural observations to hormonal levels, both patterns must be referring to the same day.

Sample Contamination

Contamination is a large problem. The use of latex gloves, disposable masks and sometimes glasses are recommended to handle samples. Rain, although not a contaminant itself, may dilute samples and make them indistinguishable from the environment (Whitten *et al.*, 1998). Self-contamination is also a hazard, so correct care is essential, as animal body fluids are sources of pathogens and another zoonosis (Hodges & Heistermann, 2003; Wasser *et al.*, 1988; Whitten *et al.*, 1998). Liquid samples should be stored in unbreakable solvent-resistant containers with leak-proof screw lids (Whitten *et al.*, 1998).

Daily Variation and Number of Samples Needed

Since hormone production in general follow circadian cycles (daily variation), the timing of sampling must be standardised whenever possible (Heistermann, 2010; Whitten *et al.*, 1998). Standardisation is usually carried out by collecting the first sample of the day, *i.e.*, after the individuals have woken up and are still reasonably immobile (Whitten *et al.*, 1998). Effects of time on hormone excretion and concentration are more pronounced in urine than in faeces (Hodges & Heistermann,

2003). Urine is more concentrated in the morning resulting from overnight inactivity (Collins *et al.*, 1979) but effects on stool are still controversial (Brockman & Whitten, 1996). For instance, oestrogens are seemingly constant in faeces (Hess *et al.*, 1981; Norjavaara *et al.*, 1996), although cortisol, testosterone, and progesterone all show circadian variation (Whitten *et al.*, 1998). If early morning sampling is not possible and samples are collected opportunistically, effects of time on hormone concentration should be controlled for, especially in the case of urine samples (Hodges & Heistermann, 2003).

Each physiological event requires different patterns of sampling and it is dependent on the research question. For ovulation assessment, daily samples are ideal (Strier & Ziegler, 1997), given that in most primates ovarian cycles last up to 30 days and ovulation occurs within a window of 2 to 3 days (Hodges & Heistermann, 2003). Assessment of individual and seasonal differences in testosterone can be conveyed with fewer samples, one to three per month, as adopted for *Sapajus nigratus* (Lynch *et al.*, 2002). Testosterone and cortisol have been measured from faecal samples in male *Brachyteles hypoxanthus* with the purpose of assessing seasonal and social correlation with sexual behavior (Strier *et al.*, 1999). Relating cortisol levels and reproduction have been studied in *Leontopithecus rosalia* (Bales *et al.*, 2005) and the northern muriqui, *Brachyteles hypoxanthus* (Strier *et al.*, 1999), not showing seasonal variation in testosterone, but in cortisol instead. Oestrogens and progesterone metabolites measured from stool to assess reproductive status of females have been done in *B. hypoxanthus* (Strier & Ziegler, 1997); *C. jacchus* (Heistermann *et al.*, 1993), and *L. rosalia* (French *et al.*, 2003). Pregnancy loss via hormone has been assessed in *Callithrix jacchus* (Albuquerque *et al.*, 2001) and the authors evidenced the need of extensive sampling. In the referred studies, one or two faecal samples were collected per week. When daily variation is the aim, then as many samples of the same day is required (Beehner & Whitten, 2004; Norjavaara *et al.*, 1996).

Authorizations, Licenses and Permits

Despite being non-invasive, permits to obtain biological samples are necessary and must agree with local legislation. Brazilian environmental organ "Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade" (Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation) requires a special permit for obtaining any biological samples from wild animals *in situ* or *ex situ*. Biological samples include blood, tissue, faeces, urine, carcass, behavioural, bioacoustics and photographs (MMA, 2014). Additional permits emitted by state organs and institutions may also be required for developing research within the state or national jurisdiction. Different conservation units may require distinct permits. Permission from Ethics Committee may also be mandatory depending on the institution in which research is conveyed. Requirements vary from country to country and place to place and should be verified accordingly.

The Non-invasive Sampling Methods

Faeces Sampling

Faeces collection, sometimes referred as “stool” (e.g., Nsubuga *et al.*, 2004; Whitten *et al.*, 1998), is possibly the most widespread non-invasive method as it can be collected without altering the animals’ activities (Whitten *et al.*, 1998) and without requiring any cutting-edge technology. The most common metabolites within stool are from steroid hormones (oestrogens, androgens, progestogens, and corticosteroids) and, until today, it is not possible to measure peptide and proteic hormones (Heistermann, 2010). However, any biological event related to steroid hormone fluctuation can be measured through faecal sampling. From ovarian cycle to pregnancy, sexual maturity, seasonal reproduction, foetal loss, concealed ovulation, paternity confusion, dominance rank, animal welfare, maternal style, vaginal swelling, mating system and so on (see reviews from Schwarzenberger, 2007 and Whitten *et al.*, 1998), they are all related to variation in sex steroid hormones. More recently, even genetic studies can be conducted with the DNA present in faecal samples. Sex identification, paternity/maternity tests and male/female reproductive success questions can be anchored on faecal sampling (Bradley *et al.*, 2001; Garber *et al.*, 2016; Oklander *et al.*, 2004; 2014; Strier *et al.*, 2011). A low point for hormonal measures from faecal sampling is that, since steroid metabolite in faeces is cumulative through time, detecting hormone variation in response to single events is difficult (Heistermann, 2010).

Faecal samples can be collected straight from the ground and surrounding branches, but amount needed varies. Smaller species and young individuals produce tinier samples due to anatomical differences in intestine diameter, in digestion and in food intake (Cork & Foley, 1991; Lambert, 2002), and pulverize before reaching the ground (*personal observation*). Since the steroids are not evenly distributed throughout the samples, it is advisable to homogenise samples before collecting, what can be done with the aid of a leave or using other flat surfaces, or even using an improvised spatula (Hodges & Heistermann, 2003; Palme, 2005). Any inert material should be removed (stones and seeds) (Torres-Pelayo *et al.*, 2011).

Contamination with urine invalidates the sample (Hodges & Heistermann, 2003; Wasser *et al.*, 1988; Whitten *et al.*, 1998). Thus, for those species in which individuals defecate and urinate at the same time, the researcher should focus on a single individual and protect the sample of interest from self and cross-contamination (either from the urine of the same individual or from other individuals). Some species give indicatives of a forthcoming defecation and urination, allowing researchers to position themselves beneath the animal of interest prior to the action (e.g., Andelman *et al.*, 1985; Gilbert, 1997). Most species defecate at the sleeping site or soon after waking up and before leaving resting site (Deputte, 1994; Kowalewski & Zunino, 2005; McGrew,

1984). Additionally, some species, such as howlers, marmosets and marmosets, defecate while seated and/or standing still (Bravo, 2009; Gilbert, 1997; Milton, 1984; and G. Sobral *personal observation*), whilst capuchins defecate while moving (M. Verderane, *personal communication*). The latter behaviour hinders faecal sample collection. Although most of Atlantic Forest species are diurnal and spotting the droppings is less problematic, for crepuscular or cathemeral species, impediments due to lack of visibility may also hinder sample collection.

After collection, the bolus must then be conditioned in an appropriate storage item (Falcon tube, small sealing bags etc). Samples should be kept cold or frozen (preferably at -20°C) until analysis (Campbell *et al.*, 2001; Hodges & Heistermann, 2003; Ziegler *et al.*, 1996). If stored directly in alcohol (higher than 80% in a minimum volume: mass ratio of 2.5:1), samples should not vary in amount size due to influence of bolus mass on hormone concentration (very small samples present higher concentration per gram of faeces, Hodges & Heistermann, 2003). For hormone metabolite measurement, only 0.5 to 2.0 g faeces is enough (Campbell *et al.*, 2001; Strier *et al.*, 1999; 2003).

Urine Sampling

Urine is more difficult to obtain than faeces and this difficulty is reflected in the fewer studies with wild populations (Table 1). Urine sampling may also be hindered as it is often used as scent marking (Epple, 1986) or “urine washing” behaviour, employed in many situations, as observed in *Sapajus* spp., *Alouatta palliata* and *Brachyteles arachnoides* (Campos & Fedigan, 2013; Verderane, 2017). Usually, the sample collected is the first urine of the day (also called “first void urine”, e.g., Ziegler *et al.*, 1996) since it represents the secretion of hormones over several hours during sleep time (Heistermann, 2010).

Hodges & Heistermann (2003) listed three main methods for collecting urine depending on the moment of urination: (i) use a sheet, a tray or a bowl to intercept urine before it reaches the ground or mid-story leaves; (ii) aspiration (by syringe or pipette) or absorption onto filter paper if urine reached hanging leaves or foliage; (iii) recovery of foliage if urine reached the ground (with subsequent use of centrifuge). Apparatus should be disposable or rinsed between sampling. The first method (i) retrieves larger samples, than the second (ii) and the third ones (iii). It is important to prevent startling the animal with sudden movement or funnel opening (Andelman *et al.*, 1985).

Large samples depend on the habituation of animals, location and height of sites, and travel rate (Whitten *et al.*, 1998). Sample size limits the number of assays that can be run and amount needed varies from only 0.2 to 1 mL (Heistermann, 2010; Nunes *et al.*, 2001). It is required 1 mL for oxytocin measurement, 500 µl for LH and another 500 µl per steroid measurement, for instance (T. Ziegler, *personal communication*). Urine needs to be kept cool with ice bricks in cooler bags right



after collection. Once in a support lab, keep the sample ideally at -10°C or lower until analyses (Hodges & Heistermann, 2003), but standard reported temperature is -20°C (Campbell *et al.*, 2001; Ziegler *et al.*, 1996). Alternative methods for storage include preparing an ethanolic solution, absorbing the urine onto filter paper and store it dry (Hodges & Heistermann, 2003), or even the use of Salivette Cortisol code blue swabs (Danish *et al.*, 2015). Acidification with hydrogen chloride (HCl) is important for long storage. The most common metabolites within urine are those of protein origin, such as LH, FSH, oxytocin and prolactin, and non-hormonal physiological markers, such as C-peptide, a marker of nutritional status (Heistermann, 2010). Yet, steroid hormones are also found in urine as complementing the other part excreted in faeces (Heistermann, 2010; Schwarzenberger *et al.*, 1996). Due to containing various classes of hormones, urine is a richer sample for hormone measurements than faeces.

Sample Storage

All containers should be identified and labelled. Ideally, animal ID/number, date, time and type of sample (urine/faeces/other) should be written down. Whilst falcon tubes provide a specific part for writing, some smaller tubes of 15 mL do not, and waterproof pen writings will rub off at thawing (G. Sobral *personal observation*). Additional precautions will make it more trustworthy, such as sticky papers that resist solvents and freeze-thawing differences. If labelling is lost for some reason, it will render sample invalidation and loss of information, considered as one of the major causes of data loss (Hodges & Heistermann, 2003).

Although most papers report that freezing at -20°C is the general rule, even at remote field sites, when a freezer is not available, some faecal samples can be stored in alcohol if it needs to be at room temperature. However, it alters hormone levels in both short and long-term storing (Hodges & Heistermann, 2003; Khan *et al.*, 2002). Additional storage methods are available in Hodges & Heistermann (2003) and Ziegler & Wittmer (2005), though the laboratory methods are beyond the scope of the present paper.

Alternative Non-invasive Matrices

Researchers are developing ingenious non-invasive methods to obtain alternative matrices that are more complicated to acquire, such as semen, hair and saliva. Given that these methods are still in its early stages of use, we presented them in this separate session.

Semen Sampling

Testosterone levels are directly correlated to male fertility (Dohle *et al.*, 2003) and the most traditional medium for male fertility analysis is through seminal evaluation. Semen can be used not only for reproductive studies (Thomsen *et al.*, 2006), but also epidemiological

(Dejucq-Rainsford & Je'gou, 2004), genetic studies (Hayakawa, 2008) and dead sperm ultrastructure can be used in taxonomical studies (*e.g.*, Robson *et al.*, 1997). Semen collection generally requires specific devices but the occurrence of masturbation (or auto sexual behaviour) in primates offers a great potential for semen collection through a truly non-invasive technique (Thomsen & Sommer, 2015). For instance, semen sample recovery from masturbatory behaviour in the wild has been possible for a terrestrial Catarrhini (Thomsen, 2014). About 16% of known primate species exhibit masturbatory behaviour (including Atlantic Forest species as well, Thomsen & Sommer, 2015), but masturbation followed by ejaculation is an unpredictable behaviour, requiring long periods of observation to obtain a reasonable number of samples. Arboreal habits of the Atlantic Forest species also preclude sampling, but increased ground use has been observed in northern muriqui *Brachyteles hypoxanthus*, where they even socialize on the ground (Mourthé *et al.*, 2007). Yet, it has been possible to obtain semen sample from wild southern muriqui after male copulated (Z. Queiroz *personal observation*).

The samples can be collected directly from the floor, using a volumetric pipette (liquid fraction) and tweezers (coagulated fraction) (Thomsen, 2014). The seminal clot should be stored separately in a plastic bag and gently pressed for the release of the seminal fluid stored therein thereby dispensing the need for laboratory structure for its dissolution.

Saliva Sampling

Saliva is widely used for hormone measurements and, unlike urine and faeces, in which metabolites are cumulative through time, saliva provides real time hormonal variation (Heistermann, 2010). Few non-invasive collection techniques for saliva samples in primates have been reported. Kaur *et al.* (2008) and Smiley *et al.* (2010) successfully recovered saliva from partially chewed plants dropped by mountain gorillas (*Gorilla beringei*) and chimpanzees (*Pan troglodytes*), respectively. Three methods were used to recover saliva from discarded forest food: 1) swabbing bite marks with a sterile cotton swab, 2) soaking a bite mark in assay diluent, and 3) washing the bite marks with assay diluent. The use of rope devices is another method for saliva recovery applied with successfully in wild terrestrial primates (Evans *et al.*, 2015). The chewing devices are made of cotton dental rope or nylon rope, sometimes with a long string sewn to its end for retrieval. The devices can be dipped in fruit jam, baby food or placed inside a banana. Chewed ropes were compressed and placed directly into empty swab storage tubes which contained a separate compartment allowing the saliva to flow through upon centrifugation. The samples eluted from the ropes were transferred to sterile cryovial tubes and stored at -80°C until testing (Evans *et al.*, 2015).

Collection was facilitated given the fact that these are terrestrial species. However, for arboreal species, such as the ones found in the Atlantic Forest, this

Sobral G *et al.*: Non-invasive techniques for endocrine monitoring



technique can be coupled with baited platforms for camera trapping (e.g., Kieruff *et al.*, 2004), allowing individual identification of chewed food items. The method obviously implies some restrictions since the species in question must be attracted to the baits.

Hair or Fur Sampling

Améndola-Pimenta and collaborators (2009) developed a low cost and completely non-invasive technique for hair sampling in wild black howlers *Alouatta pigra* that can be applied to other primate species as well. To sample fresh hair, they developed a special dart with a long tuft at one end (for stability), and nylon plus glue from rat trap at the other end (precise details on the paper). To launch darts, they used a copper blowpipe. Distance varied from 3 to 15 m and apparently the procedure did not cause stress to individuals as they were able to sample the same individual repeatedly. Sampled hair was transferred to paper envelopes and stored at room temperature until analysis. Although they used hair samples for DNA analysis, hair has been broadly used as matrix for steroid hormone assessment (Keckeis *et al.*, 2012; Koren *et al.*, 2002). Limitations of this technique include: (i) hair recovery efficiency depends on the habitat (lower-height forests are more successful); and (ii) DNA from non-invasive methods are usually of lower quality (Oklander *et al.*, 2004).

CONCLUSIONS

The most successful conservation measures are those in which the reproductive biology of the organism in question is properly known. Hormones and reproduction are deeply correlated, but traditional reproductive studies require repeated blood sampling for hormonal analysis. However, daily (or more than once a day) blood sampling is virtually impossible in the wild. The advent of non-invasive methods allowed daily monitoring in wild animals, with the faeces as the most common matrix, possibly due to the facility in locating and obtaining samples. Faeces have been widely used for many purposes, from hormonal measures to paternity and maternity tests. Yet, it is still not possible to measure proteic hormones from faeces. Urine, on the other hand, is more difficult to obtain in the wild, although it offers a broader array of hormone classes (from proteic to steroids) and non-hormonal studies, such as nutritional status markers. Nonetheless, detecting specific events from faecal and urine hormone levels is difficult since metabolite concentration is cumulative through time. Researchers are developing ingenious non-invasive methods to obtain alternative matrices, such as semen, hair and saliva. Those samples are richer in information and such richness is what makes up the obstacles. For semen sampling, the only truly non-invasive method is by means of masturbation. Hitherto, this behaviour is not frequent or predictable enough for regular sampling. Saliva hormone levels are not cumulative as in urine and faeces, allowing

real-time assessment. Conversely, hair hormonal levels comprise up to months before the day of sampling. Regardless, any sample acquisition can be hampered if the information is lost, considered, considered as the main caveat for non-invasive hormonal analysis. Other obstacles are species-specific behaviours, such as “moving and defecating” and urine-washing behaviour observed in capuchins, or lack of masturbation behaviour, or or extensive use of canopies. Previous knowledge on the animal habits and species metabolism is mandatory as the delay on excretion of metabolites depends on diet and metabolism. Excretion delay knowledge is essential when coupling hormonal profiles to behavioural observations. There are still many species requiring fully evaluation of its reproduction within Atlantic Forest primates, but its arboreal habits, smaller body size, agile movement and the dense forest they occupy holds up the advance of reproductive knowledge and, consequently, proper conservation policy tools. Yet, despite its caveats, non-invasive techniques usually provide accurate reproductive evaluation of individuals. It is repeatable, provides many samples throughout time and from the same individual, allowing longitudinal evaluations at minimal disturbance. Thus, non-invasive methods are promising for studying reproductive biology of wild primate species.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank F.S. Gudinho for the valorous suggestions on structure of the present paper, and to T. Ziegler, M. Verderane and Z. Queiroz for sharing their personal observation. We are also grateful to the actual and previous staff from Parque Estadual Carlos Botelho for providing the logistics for fieldwork, where all *in vivo* personal observations reported in this study occurred. We are also indebted to the anonymous referees and the editor for their careful reading and comments. Current work was supported by graduate fellowships from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES to both the first and second authors, processes 1646750 and 1625795, respectively. Fieldwork was conducted within the current legal norms in Brazil (*Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* License number 55826-1; Secretaria do Meio Ambiente, Fundação Florestal authorisation number 009.188/2016; SISGEN register number A165E11).

REFERENCES

- Albuquerque ACSR, Sousa MBC, Santos HM, Ziegler TE. 2001. Behavioral and hormonal analysis of social relationships between oldest (reproductive and non-reproductive) females in a wild monogamous group of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *International Journal of Primatology* 22: 631-645. <http://doi.org/10.1023/A:1010741702831>.
- Alley TR. 1980. Infantile colouration as an elicitor of caretaking behaviour in Old World primates. *Primates* 21(3): 416-429. <http://doi.org/10.1007/BF02390470>.



- Améndola-Pimenta M, García-Feria L, Serio-Silva JC, Rico-Gray V. 2009. Non invasive collection of fresh hairs from free-ranging howler monkeys for DNA extraction. *American Journal of Primatology* 71(4): 359-363. <http://doi.org/10.1002/ajp.20658>.
- Andelman SJ, Else JG, Hearn JP, Hodges JK. 1985. The non-invasive monitoring of reproductive events in wild Vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) using urinary pregnanediol-3 α -glucuronide and its correlation with behavioural observations. *Journal of Zoology* 205(4): 467-477. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1985.tb03538.x>.
- Arnemo JM, Ahlqvist P, Andersen R, Berntsen F, Ericsson G, Brunberg OJS, Segerström P, Swenson JE. (2006). Risk of capture-related mortality in large free-ranging mammals: experiences from Scandinavia. *Wildlife Biology* 12(1): 109-113. [http://doi.org/10.2981/0909-6396\(2006\)12\[109:ROCML\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.2981/0909-6396(2006)12[109:ROCML]2.0.CO;2).
- Bales KL, French JA, Hostetler CM, Dietz JM. 2005. Social and reproductive factors affecting cortisol levels in wild female golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *American Journal of Primatology* 67(1): 25-35. <http://doi.org/10.1002/ajp.20167>.
- Bales KL, Kim AJ, Lewis-Reese AD, Sue Carter C. 2004. Both oxytocin and vasopressin may influence allo parental behavior in male prairie voles. *Hormones and Behaviour* 45: 354-361. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.01.004>.
- Barja I, Silván G, Illera JC. 2008. Relationships between sex and stress hormone levels in feces and marking behavior in a wild population of Iberian wolves (*Canis lupus signatus*). *Journal of Chemical Ecology* 34(6): 697-701. <http://doi.org/10.1007/s10886-008-9460-0>.
- Beehner JC, Whitten PL. 2004. Modifications of a field method for fecal steroid analysis in baboons. *Physiology & Behavior* 82(2): 269-277. [http://doi.org/10.1016/S0031-9384\(04\)00103-9](http://doi.org/10.1016/S0031-9384(04)00103-9).
- Birnie AK, Smith AS, Nali C, French JA. 2011. Social and developmental influences on urinary androgen levels in young male white-faced marmosets (*Callithrix geoffroyi*). *American Journal of Primatology* 73(4): 378-385. <http://doi.org/10.1002/ajp.20909>.
- Bradley BJ, Chambers KE, Vigilant L. 2001. Accurate DNA-based sex identification of apes using non-invasive samples. *Conservation Genetics* 2(2): 179-181. <http://doi.org/10.1023/A:1011847528045>.
- Bravo SP. 2009. Implications of behavior and gut passage for seed dispersal quality: the case of black and gold howler monkeys. *Biotropica* 41(6): 751-758. <http://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2009.00538.x>.
- Brockman DK, Whitten PL. 1996. Reproduction in free-ranging *Propithecus verreauxi*: Estrus and the relationship between multiple partner matings and fertilization. *American Journal of Physical Anthropology* 100: 57-69. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199605\)100:1<57::AID-AJPA6>3.0.CO;2-A](http://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199605)100:1<57::AID-AJPA6>3.0.CO;2-A).
- Campbell CJ, Shideler SE, Todd HE, Lasley BL. 2001. Fecal analysis of ovarian cycle in female black-handed spider monkeys (*Atelles geoffroyi*). *American Journal of Primatology* 54: 79-89. <http://doi.org/10.1002/ajp.1014>.
- Campbell CJ. 2004. Patterns of behavior across reproductive states of free-ranging female black-handed spider monkeys (*Atelles geoffroyi*). *American Journal of Physical Anthropology* 124(2): 166-176. <http://doi.org/10.1002/ajpa.10350>.
- Campos FA, Fedigan LM. 2013. Urine Washing in White-Faced Capuchins: A New Look at an Old Puzzle. *Behaviour* 150: 763-798. <http://doi.org/10.1163/1568539X-00003080>.
- Cantarelli VI, Perez-Rueda MA, Kowalewski MM, Mastromonaco GF, Ponzo MF. 2017. Validation of an enzyme immunoassay and comparison of fecal cortisol metabolite levels in black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) inhabiting fragmented and continuous areas of the humid Chaco region, Argentina. *American Journal of Primatology* 79(3): 1-9. <http://doi.org/10.1002/ajp.22625>.
- Catenacci LS, De Vleeschouwer KM, Nogueira-Filho SL. 2009. Seed Dispersal by Golden-headed Lion Tamarins *Leontopithecus chrysomelas* in Southern Bahian Atlantic Forest, Brazil. *Biotropica* 41(6): 744-750. <http://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2009.00530.x>.
- Chaoui NJ, Hasler-Gallusser S. 1999. Incomplete sexual suppression in *Leontopithecus chrysomelas*: A behavioural and hormonal study in a semi-natural environment. *Folia Primatologica* 70(1): 47-54. <http://doi.org/10.1159/000021675>.
- Collins NW, Collins PO, Kilpatrick MJ, Manning PA, Pike JK, Tyler JPP. 1979. The concentrations of urinary oestrone-3-glucuronide, LH and pregnanediol – 3 α -glucuronide as indices of ovarian function. *Acta Endocrinologica* 90: 336-348. <http://doi.org/10.1530/acta.0.0900336>.
- Cooke SJ, O'Connor CM. 2010. Making conservation physiology relevant to policy makers and conservation practitioners. *Conservation Letters* 3(3): 159-166. <http://doi.org/10.1111/j.1755-263X.2010.00109.x>.
- Cork SJ, Foley WJ. 1991. Digestive and metabolic strategies of arboreal folivores in relation to chemical defenses in temperate and tropical forests. Pp. 133-167, In: Palo RT, Robbins CT (Eds.), *Plant Defenses Against Mammalian Herbivory*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Cutler JR GB, Glen M, Bush M, Hodgen GD, Graham CE, Loriaux DL. 1978. Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals, and primates. *Endocrinology* 103(6): 2112-2118. <http://doi.org/10.1210/endo-103-6-2112>.
- Danish LM, Heistermann M, Agil M, Engelhardt A. 2015. Validation of a novel collection device for non-invasive urine sampling from free-ranging animals. *PloSone* 10(11): e0142051. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0142051>.
- Dejuq-Rainsford N, Je'gou B. 2004. Viruses in semen and male genital tissues: consequences for the reproductive system and therapeutic perspectives. *Current Pharmaceutical Design* 10: 557-575. <http://doi.org/10.2174/1381612043453225>.
- Deputte BL. 1994. Ethological study of yawning in primates. I. Quantitative analysis and study of causation in two species of old-world monkeys (*Cercocebus albigena* and *Macaca fascicularis*). *Ethology* 98(3-4): 221-245. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1994.tb01073.x>.
- Dixon AF. 1998. *Primate sexuality*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Dixon AF, Bossi T, Wickings BL. 1993. Male dominance and genetically determined reproductive success in the mandrill (*Mandrillus sphinx*). *Primates* 34: 525-532. <http://doi.org/10.1007/BF02382663>.
- Dohle GR, Smit M, Weber RFA. 2003. Androgens and male fertility. *World Journal of Urology* 21(5): 341-345. <http://doi.org/10.1007/s00345-003-0365-9>.
- Durlinger ALL, Visser JA, Themmen ANP. 2002. Regulation of ovarian function: The role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 124: 601-609. <http://doi.org/10.1530/rep.0.1240601>.
- Epple G. 1986. Communication by chemical signals. Pp. 531-580, In: Mitchell G, Erwin J (Eds.), *Comparative Primate Biology* 2A. Liss, New York.
- Evans TS, Barry PA, Gilardi KV, Goldstein T, Deere JD, Fike J, Yee J, Ssebide BJ, Karmacharya D, Cranfield MR, Wolking D, Smith B, Mazet JAK, Johnson CK. 2015. Optimization of a novel non-invasive oral sampling technique for zoonotic pathogen surveillance in nonhuman primates. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9(6): e0003813. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003813>.
- Fite JE, French JA, Patera KJ, Hopkins EC, Rukstalis M, Ross CN. 2005. Elevated urinary testosterone excretion and decreased maternal caregiving effort in marmosets when conception occurs during the period of infant dependence. *Hormones and Behavior* 47(1): 39-48. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.08.005>.
- Fite JE, French JA. 2000. Pre- and postpartum sex steroids in female marmosets (*Callithrix kuhlii*): is there a link with infant survivorship and maternal behavior? *Hormones and Behavior* 38(1): 1-12. <http://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1607>.
- Frantzen MAJ, Silk JB, Ferguson JWH, Wayne RK, Kohn MH. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA. *Molecular Ecology* 7(10): 1423-1428. <http://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00449.x>.
- French JA, Bales KL, Baker AJ, Dietz JM. 2003. Endocrine monitoring of wild dominant and subordinate female *Leontopithecus rosalia*. *International Journal of Primatology* 24(6): 1281-1300. <http://doi.org/10.1023/B:IJOP.0000005993.44897.ae>.
- French JA, Stribley JA. 1987. Synchronization of ovarian cycles within and between social groups in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *American Journal of Primatology* 12(4): 469-478. <https://pdfs.semanticscholar.org/99f5/88fc4d160becede9810ca438ac76e28c34a2.pdf>.
- Garber PA, Porter LM, Spross J, Di Fiore A. 2016. Tamarins: Insights into monogamous and non-monogamous single female social and breeding systems. *American Journal of Primatology* 78(3): 298-314. <http://doi.org/10.1002/ajp.22370>.
- Sobral G et al: Non-invasive techniques for endocrine monitoring



- Gilbert KA. 1997. Red howling monkey use of specific defecation sites as a parasite avoidance strategy. *Animal Behaviour* 54(2): 451-455. <http://doi.org/10.1006/anbe.1996.0439>.
- Glander KE, Fedigan LM, Fedigan L, Chapman C. 1991. Field methods for capture and measurement of three monkey species in Costa Rica. *Folia Primatologica* 57: 70-82. <http://doi.org/10.1159/000156567>.
- Goymann W. 2012. On the use of non-invasive hormone research in uncontrolled, natural environments: the problem with sex, diet, metabolic rate and the individual. *Methods in Ecology and Evolution* 3(4): 757-765. <http://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00203.x>.
- Gregorin R. 2006. Taxonomia e variação geográfica das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède (Primates, Atelidae) no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23: 64-144. <http://doi.org/10.1590/S0101-81752006000100005>.
- Hayakawa S. 2008. Male-female mating tactics and paternity of wild Japanese macaques (*Macaca fuscata yakui*). *American Journal of Primatology* 70: 986-989. <http://doi.org/10.1002/ajp.20580>.
- Heistermann M, Tari S, Hodges JK. 1993. Measurement of faecal steroids for monitoring ovarian function in New World primates, Callitrichidae. *Journal of Reproduction and Fertility* 99: 243-251. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0990243>.
- Heistermann M. 2010. Non-invasive monitoring of endocrine status in laboratory primates: methods, guidelines and applications. *Advances in Science and Research* 5(1): 1-9. <http://doi.org/10.5194/asr-5-1-201>.
- Henry MD, Hankerson SJ, Siani JM, French JA, Dietz JM. 2013. High rates of pregnancy loss by subordinates leads to high reproductive skew in wild golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *Hormones and Behavior* 63(5): 675-683. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.02.009>.
- Hess DL, Spies HG, Hendrick AG. 1981. Diurnal steroid patterns during gestation in the rhesus macaque: Onset, daily variation, and the effects of dexamethasone treatment. *Biology of Reproduction* 24: 609-616. <http://doi.org/10.1095/biolreprod24.3.609>.
- Hodges JK, Heistermann M. 2003. Field endocrinology: monitoring hormonal changes in free-ranging primates. Pp. 353-370. In: Setchell JM, Curtis DJ (Eds.), *Field and laboratory methods in primatology: A practical guide* (Cambridge University Press, University of Cambridge).
- Horwich R, Koontz F, Saqui E, Saqui H, Glander K. 1993. A reintroduction program for the conservation of the black howler monkey in Belize. *Endangered Species Update* 10: 1-6. <http://communityconservation.org/publications/esu.10.6.1993.pdf>.
- Inoue E, Inoue-Murayama M, Takenaka O, Nishida T. 2007. Wild chimpanzee infant urine and saliva sampled noninvasively usable for DNA analyses. *Primates* 48(2): 156-159. <http://doi.org/10.1007/s10329-006-0017-y>.
- International Union for Conservation of Nature (IUCN). 2017. IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org>. Access in: May 2017.
- Jost A. 1953. Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Progress in Hormone Research* 8: 379-418. <http://ci.nii.ac.jp/naid/10009517275>.
- Kaur T, Singh J, Tong S, Humphrey C, Clevenger D, Tan W, et al. 2008. Descriptive epidemiology of fatal respiratory outbreaks and detection of a human-related metapneumovirus in wild chimpanzees (*Pan troglodytes*) at Mahale Mountains National Park, Western Tanzania. *American Journal of Primatology* 70: 755-65. <http://doi.org/10.1002/ajp.20565>.
- Kay RF, Plavcan JM, Glander KE, Wright PC. 1988. Sexual selection and canine dimorphism in New World monkeys. *American Journal of Physical Anthropology* 77(3): 385-397. <http://doi.org/10.1002/ajpa.1330770311>.
- Keckeis K, Lepschy M, Schopper H, Moser L, Troxler J, Palme R. 2012. Hair cortisol: a parameter of chronic stress? Insights from a radiometabolism study in guinea pigs. *Journal of Comparative Physiology B* 182: 985-996. <http://doi.org/10.1007/s00360-012-0674-7>.
- Khan MZ, Altmann J, Isani SS, Yu J. 2002. A matter of time: evaluating the storage of fecal samples for steroid analysis. *General and Comparative Endocrinology* 128(1): 57-64. [http://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00063-1](http://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00063-1).
- Kierulff MCM, Santos GR, Canale G, Guidorizzi CE, Cassano C. 2004. The use of camera-traps in a survey of the buff-headed capuchin monkey, *Cebus xanhosternos*. *Neotropical Primates* 12(2): 56-59.
- Koren L, Mokady O, Karaskov T, Klein J, Koren G, Geffen E. 2002. A novel method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Animal Behavior* 63: 403-406. <http://doi.org/10.1006/anbe.2001.1907>.
- Kowalewski M, Zunino GE. 2005. The parasite behavior hypothesis and the use of sleeping sites by black howler monkeys (*Alouatta caraya*) in a discontinuous forest. *Neotropical Primates* 13(1): 22-26. <http://doi.org/10.1896/1413-4705.13.1.22>.
- Kugelmeier T, do Valle RDR, Guimarães MADBV, Muniz JAPC, Monteiro FOB, Oliveira CA. 2011. Tracking the ovarian cycle in black-and-gold howlers (*Alouatta caraya*) by measuring fecal steroids and observing vaginal bleeding. *International Journal of Primatology* 32(3): 605-615. <http://doi.org/10.1007/s10764-010-9490-7>.
- Lambert JE. 2002. Digestive retention times in forest guenons (*Cercopithecus* spp.) with reference to chimpanzees (*Pan troglodytes*). *International Journal of Primatology* 23(6): 1169-1185. <http://doi.org/10.1023/A:1021166502098>.
- Lynch JW, Ziegler TE, Strier KB. 2002. Individual and seasonal variation in fecal testosterone and cortisol levels of wild male tufted capuchin monkeys, *Cebus paella nigritus*. *Hormones and Behavior* 41(3): 275-287. <http://doi.org/10.1006/hbeh.2002.1772>.
- Maestripieri D, Hoffman CL, Anderson GM, Carter CS, Higley JD. 2009. Mother-infant interactions in free-ranging rhesus macaques: relationships between physiological and behavioural variables. *Physiology & Behavior* 96(4): 613-619. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.12.016>.
- McGrew JAAW. 1984. Guinea baboons (*Papio papio*) at a sleeping site. *American Journal of Primatology* 6: 1-14. <http://doi.org/10.1002/ajp.1350060102>.
- Mendonça-Furtado O, Eades M, Palme R, Rodrigues A, Siqueira J, Izar P. 2014. Does hierarchy stability influence testosterone and cortisol levels of bearded capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) adult males? A comparison between two wild groups. *Behavioural Processes* 109: 79-88. <http://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.09.010>.
- Milton K. 1984. Habitat, diet, and activity patterns of free-ranging woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides* E. Geoffroy, 1806). *International Journal of Primatology* 5(5): 491-514.
- MMA (Ministério do Meio Ambiente). 2014. Instrução Normativa Nº 03, de 01 de setembro de 2014. Available in: http://www.icmbio.gov.br/sisbio/images/stories/instrucoes_normativas/INSTRU%C3%87%C3%83O_NORMATIVA_ICMBio_N%C2%BA_3_DE_2014_com_retifica%C3%A7%C3%A3o_do_DOU18062015.pdf.
- Möhle U, Heistermann M, Palme R, Hodges JK. 2002. Characterization of urinary and fecal metabolites of testosterone and their measurement for assessing gonadal endocrine function in male nonhuman primates. *General and Comparative Endocrinology* 129(3): 135-145. [http://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00525-7](http://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00525-7).
- Monteiro FOB, Kugelmeier T, Valle RDR, Lima ABF, Silva FE, Martins S, Pereira LG, Dinucci KL, Viau P. 2013. Evaluation of the fecal steroid concentrations in *Alouatta belzebul* (Primates, Atelidae) in the National Forest of Tapirape-Aquiri in Pará, Brazil. *Journal of Medical Primatology* 42(6): 325-332. <http://doi.org/10.1111/jmp.12061>.
- Moreira CM, Peternelli dos Santos L, de Sousa MBC, Izar P. 2016. Variation in glucocorticoid levels: survival and reproductive demands in wild black capuchins (*Sapajus nigritus*). *International Journal of Psychological Research* 9(2): 20-29. <http://doi.org/10.21500/20112084.2303>.
- Moreland RB, Richardson ME, Lamberski N, Long JA. 2001. Characterizing the reproductive physiology of the male southern black howler monkey, *Alouatta caraya*. *Journal of Andrology* 22(3): 395-403. <http://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2001.tb02195.x>.
- Mourthé J, Guedes D, Fidelis J, Boubli JP, Mendes SL, Strier KB. 2007. Ground use by northern muriquis (*Brachyteles hypoxanthus*). *American Journal of Primatology* 69(6): 706-712. <http://doi.org/10.1002/ajp.20405>.
- Mustoe AC, Jensen HA, French JA. 2012. Describing Ovarian Cycles, Pregnancy Characteristics, and the Use of Contraception in Female White-Faced Marmosets, *Callithrix geoffroyi*. *American Journal of Primatology* 74(11): 1044-1053. <http://doi.org/10.1002/ajp.22058>.
- Narayan EJ. 2013. Non-invasive reproductive and stress endocrinology in amphibian conservation physiology. *Conservation Physiology*, 1(1): 1-16. <http://doi.org/10.1093/conphys/cot011>.



- Norjavaara E, Anharberg C, Albertson-Wikland K. 1996. Diurnal rhythm of 17 β -estradiol secretion throughout pubertal development in healthy girls: Evaluation by a sensitive radioimmunoassay. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 81: 4095-4102. <http://doi.org/10.1210/jcem.81.11.8923866>.
- Nsubuga AM, Robbins MM, Roeder AD, Morin PA, Boesch C, Vigilant L. 2004. Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape faeces and the identification of an improved sample storage method. *Molecular Ecology* 13(7): 2089-2094. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02207.x>.
- Nunes S, Fite JE, Patera KJ, French JA. 2001. Interactions among paternal behavior, steroid hormones, and parental experience in male marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Hormones and Behavior* 39(1): 70-82. <http://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1631>.
- Oklander LI, Kowalewski M, Corach D. 2014. Male reproductive strategies in black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*). *American Journal of Primatology* 76(1): 43-55. <http://doi.org/10.1002/ajp.22191>.
- Oklander LI, Marino M, Zunino GE, Corach D. 2004. Preservation and extraction of DNA from feces in howler monkeys (*Alouatta caraya*). *Neotropical Primates* 12(2): 59-63.
- Paglia AP, Fonseca GAB, Rylands AB, Herrmann G, Aguiar LMS, Chiarello AG, Leite YLR, Costa, LP, Siciliano S, Kierulff MCM, Mendes SL, Tavares VC, Mittermeier RA, Patton JL. 2012. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil. 2ª Edição. Occasional Papers in Conservation Biology. https://www.researchgate.net/profile/Anthony_Rylands/publication/288902447_Annotated_checklist_of_Brazilian_mammals/links/568a821408ae051f9afa5551.pdf.
- Palme R. 2005. Measuring fecal steroids: guidelines for practical application. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046(1): 75-80. <http://doi.org/10.1196/annals.1343.007>.
- Pryce CR, Abbott DH, Hodges JK, Martin RD. 1988. Maternal behavior is related to prepartum urinary estradiol levels in red-bellied tamarin monkeys. *Physiology & Behavior* 44(6): 717-726. [http://doi.org/10.1016/0031-9384\(88\)90052-2](http://doi.org/10.1016/0031-9384(88)90052-2).
- Robson SK, Rouse GW, Pettigrew JD. 1997. Sperm ultrastructure of *Tarsius bancanus* (Tarsiidae, Primates): implications for primate phylogeny and the use of sperm in systematics. *Acta Zoologica* 78(4): 269-278. <http://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1997.tb01011.x>.
- Senger PL. 2005 (ed.). Pathways to pregnancy and parturition. Second revised edition. Current Conceptions Inc, Ed.
- Sgai MGFG, Pizzutto CS, Viaw P, Oliveira CAD, Guimarães, MADBV. 2015. Reproductive endocrine and socio-sexual behavior study of black-tufted-marmoset (*Callithrix penicillata*) kept in captivity. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35(3): 304-310. <http://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000300015>.
- Shimizu K. 2005. Studies on reproductive endocrinology in non-human primates: application of non-invasive methods. *Journal of Reproduction and Development* 51(1): 1-13. <http://doi.org/10.1262/jrd.51.1>.
- Schwarzenberger F. 2007. The many uses of non-invasive faecal steroid monitoring in zoo and wildlife species. *International Zoo Yearbook* 41(1): 52-74. <http://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2007.00017.x>.
- Schwarzenberger F, Möstl E, Palme R, Bamberg E. 1996. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* 42(1-4): 515-526. [http://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01561-8](http://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01561-8).
- Silvestre T, Zanetti ES, Duarte JM, Barriento FG, Hirano ZM, Souza JC, Passos FC. 2017. Ovarian cycle of southern brown howler monkey (*Alouatta guariba clamitans*) through fecal progesterone measurement. *Primates* 58(1): 131-139. <http://doi.org/10.1007/s10329-016-0561-z>.
- Smiley T, Spelman LH, Lukasik-Braum M, Mukherjee J, Kaufman G, Akiyoshi D, Cranfield M. 2010. Non-invasive saliva collection techniques for free-ranging mountain gorillas and captive eastern gorillas. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 41(2): 201-9. <http://doi.org/10.1638/2009-0015R.1>.
- Sousa MBC, Albuquerque ACSDB, Albuquerque FDS, Araujo A, Yamamoto ME, Arruda MDF. 2005. Behavioral strategies and hormonal profiles of dominant and subordinate common marmoset (*Callithrix jacchus*) females in wild monogamous groups. *American Journal of Primatology* 67(1): 37-50. <http://doi.org/10.1002/ajp.20168>.
- Stribley JA, French JA, Inglett BJ. 1987. Mating patterns in the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*): Continuous receptivity and concealed estrus. *Folia Primatologica* 49(3-4): 137-150. <http://doi.org/10.1159/000156318>.
- Strier KB, Chaves PB, Mendes SL, Fagundes V, Di Fiore A. 2011. Low paternity skew and the influence of maternal kin in an egalitarian, patrilocal primate. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(47): 18915-18919. <http://doi.org/10.1073/pnas.1116737108>.
- Strier KB, Lynch JW, Ziegler TE. 2003. Hormonal changes during the mating and conception seasons of wild northern muriquis (*Brachyteles arachnoides hypoxanthus*). *American Journal of Primatology* 61(2): 85-99. <http://doi.org/10.1002/ajp.10109>.
- Strier KB, Ziegler TE, Wittwer DJ. 1999. Seasonal and social correlates of fecal testosterone and cortisol levels in wild male muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *Hormones and Behavior* 35: 125-134. <http://doi.org/10.1006/hbeh.1998.1505>.
- Strier KB, Ziegler TE. 1994. Insights into ovarian function in wild muriqui monkeys (*Brachyteles arachnoides*). *American Journal of Primatology* 32(1): 31-40. <http://doi.org/10.1002/ajp.1350320104>.
- Strier KB, Ziegler TE. 1997. Behavioral and endocrine characteristics of the reproductive cycle in wild muriqui monkeys, *Brachyteles arachnoides*. *American Journal of Primatology* 42(4): 299-310. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)42:4<299::AID-AJP5>3.0.CO;2-S](http://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)42:4<299::AID-AJP5>3.0.CO;2-S).
- Strier KB, Ziegler TE. 2005. Advances in field-based studies of primate behavioral endocrinology. *American Journal of Primatology* 67(1): 1-4. <http://doi.org/10.1002/ajp.2016>.
- Taylor W. 1971. The excretion of steroid hormone metabolites in bile and feces. *Vitamins and Hormones* 29: 201-285. [http://doi.org/10.1016/S0083-6729\(08\)60050-3](http://doi.org/10.1016/S0083-6729(08)60050-3).
- Teixeira CP, De Azevedo CS, Mendl M, Cipreste CF, Young RJ. 2007. Revisiting translocation and reintroduction programmes: the importance of considering stress. *Animal Behaviour* 73(1): 1-13. <http://doi.org/10.1016/j.anbehav.2006.06.002>.
- Thomsen R, Soltis J, Matsubara M, Matsubayashi K, Onuma M, Takenaka O. 2006. How costly are ejaculates for Japanese macaques? *Primates* 47: 272-274. <http://doi.org/10.1007/s10329-005-0171-7>.
- Thomsen R. 2014. Non-invasive collection and analysis of semen in wild macaques. *Primates* 55: 231-237. <http://doi.org/10.1007/s10329-013-0393-z>.
- Thomsen, R., & Sommer, V. 2015. Masturbation (nonhuman primates), in Whelehan P, Bolin A (Eds.), *The International Encyclopedia of Human Sexuality*. Wiley-Blackwell. <http://doi.org/10.1002/9781118896877.wbiehs289>.
- Torres-Pelayo VR, Roviroso-Hernández MJ, García-Orduña F, Chavira-Ramírez RD, Boeck L, Canales-Espinosa D, Rodríguez-Landa JF. 2011. Variation in the extraction efficiency of estradiol and progesterone in moist and lyophilized feces of the black howler monkeys (*Alouatta pigra*): alternative methods. *Frontiers in Physiology* 2: 97. <http://doi.org/10.3389/fphys.2011.00097>.
- Verderane MP. 2017 (in press). Urine Washing In: Fuentes A (Ed.), *The International Encyclopedia of Primatology*. Wiley-Blackwell. <http://doi.org/10.1002/9781119179313.wbprim0119>.
- Wark JD, Amendolagine L, Lukas KE, Kuhar CW, Dennis PM, Snowdon CT, Schoffner T, Schook MW. 2016. Fecal glucocorticoid metabolite responses to management stressors and social change in four species of callitrichine monkeys. *Primates* 57(2): 267-277. <http://doi.org/10.1007/s10329-016-0514-6>.
- Wasser SK, Risler L, Steiner RA. 1988. Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy. *Biology of Reproduction* 39(4): 862-872. <http://doi.org/10.1095/biolreprod39.4.862>.
- Whitten PL, Brockman DK, Stavisky RC. 1998. Recent advances in noninvasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. *American Journal of Physical Anthropology* 107(S27): 1-23. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(1998\)107:27+1::AID-AJPA2>3.0.CO;2-H](http://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(1998)107:27+1::AID-AJPA2>3.0.CO;2-H).
- Wickings EJ, Bossi T, Dixon AF. 1993. Reproductive success in the mandrill, (*Mandrillus sphinx*) correlations of male dominance and mating success with paternity, as determined by DNA fingerprinting. *Journal of Zoology* 231: 563-574. <http://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1993.tb01938.x>.
- Wickings EJ, Dixon AF. 1992. Testicular function, secondary sexual development, and social status in male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Physiology & Behaviour* 52: 909-916. [http://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90370-H](http://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90370-H).

Sobral G et al: Non-invasive techniques for endocrine monitoring



- Wildt DE, Ellis S, Janssen D, Buff J. 2003. Toward more effective reproductive science for conservation. Pp. 2-20, In: Holt WV, Pickard AR, Rodger JC, Wildt DE (Eds.), Conservation Biology Series, Cambridge.
- Wilson ME, Gordon TP, Blank MS, Collins DC. 1984. Timing of sexual maturity in female rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) housed outdoors. Journal of Reproduction and Fertility 70(2): 625-633. <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0700625>.
- Wilson RP, McMahon CR. 2006. Measuring devices on wild animals: what constitutes acceptable practice? Frontiers in Ecology and the Environment 4(3): 147-154. [http://doi.org/10.1890/1540-9295\(2006\)004\[0147:MDOWAW\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1890/1540-9295(2006)004[0147:MDOWAW]2.0.CO;2).
- Wynne-Edwards KE. 2001. Hormonal changes in mammalian fathers. Hormones and Behaviour 40: 139-145. <http://doi.org/10.1006/hbeh.2001.1699>.
- Ziegler TE, Santos CV, Pissinatti A, Strier KB. 1997. Steroid excretion during the ovarian cycle in captive and wild muriquis, *Brachyteles arachnoides*. American Journal of Primatology 42: 311-321. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)42:4<311::AID-AJP6>3.0.CO;2-%23](http://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)42:4<311::AID-AJP6>3.0.CO;2-%23).
- Ziegler TE, Sholl SA, Scheffler G, Haggerty MA, Lasley BL. 1989. Excretion of estrone, estradiol, and progesterone in urine and feces of the female cotton top tamarin (*Saguinus edipus*). American Journal of Primatology 17: 185-195. <http://doi.org/10.1002/ajp.1350170302>.
- Ziegler TE, Strier KB, Van Belle S. 2009. The reproductive ecology of South American primates: ecological adaptations in ovulation and conception. Pp. 191-210, In: Garber PA, Estrada A, Bicca-Marques JC, Heymann EW, Strier KB (Eds.), South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation. Springer New York. http://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3_8.
- Ziegler TE, Wegner FH, Snowdon CT. 1996. Hormonal responses to parental and nonparental conditions in male cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*, a New World primate. Hormones and Behavior 30(3): 287-297. <http://doi.org/10.1006/hbeh.1996.0035>.
- Ziegler TE, Wittwer DJ. 2005. Fecal steroid research in the field and laboratory: improved methods for storage, transport, processing, and analysis. American Journal of Primatology 67: 159-74. <http://doi.org/10.1002/ajp.20175>.

Submetido em: 07/julho/2017
Aceito em: 05/novembro/2017



Observações sobre a dispersão de sementes por primatas no Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Jehnnifer Mendonça
jehnnifer.mendonca@gmail.com

Monografia de Conclusão de Curso
Ciências Biológicas, Universidade Veiga de Almeida, RJ
Orientadores: Tânia Pereira Sampaio; Cristiane Rangel (JBRJ)
Data de Defesa: 07 de dezembro de 2016

O macaco-prego (*Sapajus nigrinus*) – nativo – e o sagüi (*Callithrix* sp.) – exótico –, são primatas residentes e frequentadores do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ) e da área de Mata Atlântica local. Sua presença pode trazer danos à coleção científica de plantas vivas do JBRJ ao dispersarem sementes e/ou propágulos no Arboreto e ao consumirem espécimes exóticos da coleção viva do JBRJ e os introduzindo na Mata Atlântica local. O objetivo deste trabalho foi verificar e analisar a possibilidade de dispersão de sementes através das fezes dos primatas *Sapajus nigrinus*, *Callithrix jacchus*, *Callithrix penicillata* e híbridos. As sementes foram obtidas entre dezembro de 2014 e setembro de 2016 (estações secas e úmidas), diretamente das fezes dos animais coletadas em campo. As fezes foram filtradas em gaze com soro fisiológico e triadas na lupa. As sementes e/ou propágulos encontrados foram parcialmente identificados e a germinação das sementes foi realizada no Laboratório de Sementes do JBRJ. Foram coletadas 36 de amostras de sagui com os seguintes resultados: 14 amostras possuíam sementes ou propágulos de 8 (oito) famílias diferentes. Macaco-prego foram 25 amostras com 30 tipos de sementes e/ou propágulos distribuídos em 14 famílias. As amostras de sementes de espécies/famílias nativas e exóticas germinaram bem atestando a viabilidade das mesmas. Os resultados obtidos com este trabalho indicam que *S. nigrinus* é dispersor mais eficiente que o *Callithrix* sp., diante da diversidade de vegetais com sementes pequenas e maiores nas amostras de fezes ao longo de todas as estações (seca e úmida).



Coocorrência entre *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix penicillata* em fragmentos de Mata Atlântica no sul de Minas Gerais

Rayssa Cristina Faria Pedroso
rayssa.pedroso@gmail.com

Trabalho de Conclusão de Curso, Ciências Biológicas, Universidade Federal de Lavras, MG
Orientadores: Marcelo Passamani; Lilian Patrícia Sales (UFLA)
Data de Defesa: 08 de agosto de 2016

Primatas apresentam grande importância ecológica, pois, além de serem grandes dispersores de sementes, eles integram processos ecológicos complexos. Entretanto, perda de habitat e fragmentação são as principais ameaças às espécies de primatas, pois suas populações encontram separadas e muitas vezes isoladas em manchas de habitat e isso pode acarretar perda de variabilidade genética e futura extinção das espécies. Entender como as espécies de primatas interagem com o meio e entre si, são fatores fundamentais para a conservação desse grupo. *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix penicillata* são duas espécies de primatas encontrados na região do sul de Minas Gerais, comumente encontradas em um mesmo fragmento, entretanto pouco se sabe sobre a relação entre elas. Assim esse estudo teve como objetivo verificar a coocorrência de *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix penicillata* a fim de se entender mais sobre a relação entre essas duas espécies e analisar se covariáveis de paisagem e locais influenciam nesse padrão. Os dados foram coletados em 51 fragmentos no sul de Minas Gerais com características ambientais semelhantes. A metodologia de campo usada foi a de *playback*, a qual consiste na emissão da vocalização de cada espécie separadamente e então, obteve-se presença ou ausência da espécie através das respostas das mesmas, criando um histórico de detecção. Assim, analisamos a coocorrência através do modelo *single-season, two-species*, no programa MARK. Nós verificamos que *C. penicillata* ocorre independentemente da presença de *C. nigrifrons*. Similarmente, nós verificamos que a detecção do sagui independe da detecção do sauá. Para entendermos os fatores que favorecem essa independência, nós testamos a probabilidade de ocupação das espécies em função das covariáveis coletadas. Assim, nosso estudo ressaltou que há diferença no padrão de ocorrência de cada espécie, pois a ocupação do sauá está relacionada com o tamanho de fragmento e altura de dossel enquanto a probabilidade de ocupação do sagui está relacionada apenas com a conectividade. Acreditamos que essas diferenças na probabilidade de ocupação são devido a diferenças ecológicas entre as espécies, o que sugere a distinção de nichos. *Callicebus nigrifrons* é uma espécie restrita a ambientes florestais e possui uma dependência relativa a florestas de dossel mais alto e de maior tamanho. *Callithrix penicillata* é uma espécie oportunista, presente em diferentes tipos de habitats e possui ampla variedade de recurso. Também observamos que a probabilidade de ocupação do sagui é maior que a do sauá e, essa diferença pode ser explicada pela abrangência alimentar e de uso de habitat do *C. penicillata* e assim essa espécie consegue explorar ambientes variados, diferentemente de *C. nigrifrons*. Dessa forma, nós salientamos a importância de entender as relações entre os primatas e de como eles se relacionam com o meio em que vivem.



Ocupação e Detecção de *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix aurita* em Fragmentos da Mata Atlântica no Sul de Minas Gerais

Nilmara Cristina da Silva
nilmara9@gmail.com

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, MG
Orientador: Marcelo Passamani (UFLA)
Bolsista CAPESP
Data de Defesa: 22 de junho de 2017

A Mata Atlântica possui uma alta diversidade, um alto de grau de endemismo e ao mesmo tempo é um dos biomas mais ameaçados no Planeta, sendo considerado um *hotspot* para conservação. As maiores ameaças à biodiversidade global incluem a fragmentação, porém diferentes espécies respondem de diferentes maneiras a alterações no ambiente. Entender as respostas da fauna e flora frente às alterações no ambiente é importante para ações de conservação. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar as probabilidades de ocupação e detecção de dois primatas (*Callicebus nigrifrons* e *Callithrix aurita*) em 23 fragmentos na Mata Atlântica do Sul de Minas Gerais, e verificar quais variáveis poderiam influenciar na ocupação das espécies. O método de playback foi utilizado como forma de amostragem dos primatas. A ocupação de ambas espécies foi alta, sendo que a de *Callicebus nigrifrons* foi superior, e nenhuma das variáveis obteve possível explicação para a ocupação da espécie nos fragmentos amostrados. A detectabilidade do *Callicebus nigrifrons* foi bastante alta, mostrando ser uma espécie altamente responsiva ao playback. Para o *Callithrix aurita*, o tamanho da área foi a variável com maior influência na ocupação da espécie, sendo que em áreas menores a ocupação foi maior. Por ser uma espécie de hábitos e dieta generalista, a alta ocupação em ambientes alterados, como fragmentos menores é esperada para a espécie. A detectabilidade do *Callithrix aurita* foi pequena, sendo uma espécie críptica, naturalmente rara, é difícil detectá-la. Os resultados mostram que os fragmentos pequenos também possuem importância na manutenção de espécies, os quais devem ser considerados em planos de conservação da biodiversidade.

ENSAIOS

- Non-invasive techniques for reproductive endocrine monitoring in Atlantic Forest primates
Gisela Sobral, Gabriela Siqueira Martins, Mauricio Talebi & Claudio Alvarenga de Oliveira 51

RESUMOS

- Observações sobre a dispersão de sementes por primatas no Jardim Botânico do Rio de Janeiro
Jehnnifer Mendonça 62
- Coocorrência entre *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix penicillata* em fragmentos de Mata Atlântica no sul de Minas Gerais
Rayssa Cristina Faria Pedroso 63
- Ocupação e Detecção de *Callicebus nigrifrons* e *Callithrix aurita* em Fragmentos da Mata Atlântica no Sul de Minas Gerais
Nilmara Cristina da Silva 64





ÍNDICE

ARTIGOS

- Measuring fecal glucocorticoid metabolites of an endangered Neotropical primate: technical details of a physiological validation
Paula Bertoli, Laurence Culot, Rupert Palme & Olívia Mendonça-Furtado 1
- “Esse manauara merece respeito”: Percepção dos habitantes de Manaus sobre o sauí-de-coleira (*Saguinus bicolor*)
Victor Yunes Guimarães, Viviane Costa, Tiago da Silva Henicka, Cristiane Hollanda Rangel & Romari Martinez 7
- Método de captura e sedação utilizado em um grupo de híbridos de *Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) em uma floresta urbana no Instituto Butantan, São Paulo
Beatriz Alves Braz, Mariana Dutra Fogaça, Gabriela Garcia Victorio, Luíza Gonzalez Ferreira, Viviane Nogueira da Silva, Allessandro Ferraz Abdo Bijeni, Kamal Achoa Filho & Erika Hingst-Zaher 16
- Avaliação clínico-morfométrica em guaribas-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) na região da Volta Grande do rio Xingu, Amazônia Oriental, Brasil
Victor Yunes Guimarães, Fabiano Rodrigues de Melo & Regina Kiomi Takahira 20
- Área de vida de muriquis-do-norte (*Brachyteles hypoxanthus*): Comparação entre três métodos
Karoline Luiza Sarges Marques, Andrea Presotto, Mariana Petri da Silva & Sérgio Lucena Mendes 33

NOTAS

- Getting along with radio-telemetry: effects on howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans* Atelidae-Primates) welfare and monitoring effectiveness
Luísa Genes, Tomaz Cezimbra, Silvia B. Moreira, Alcides Pissinatti & Marcelo L. Rheingantz 39
- Ecologia alimentar e dispersão de sementes por guariba-de-mãos-ruivas (*Alouatta belzebul* Linnaeus, 1766) à margem esquerda do rio Tocantins, Brasil
Maíra Dalia Sagnori, Victor Yunes, Frederico Valtuille Faleiro, Fabiano R. de Melo, Alexandre Corrêa & Ronaldo Leal Carneiro 43
- Uso de imagens térmicas infra-vermelho para localização e captura de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus* Mikan, 1823) *in situ*
Cauê Monticelli, Rodrigo Pinho Gomez Lopez & Lucas Tadeu Peloggia Caldano 47

continua na capa interna...

Remetente: Sociedade Brasileira de Mastozoologia
A/C Dr. Paulo Sérgio D'Andrea
Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios
Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz
Avenida Brasil, 4365, Pavilhão Lauro Travassos, Sala 70
21040-360, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Destinatário: