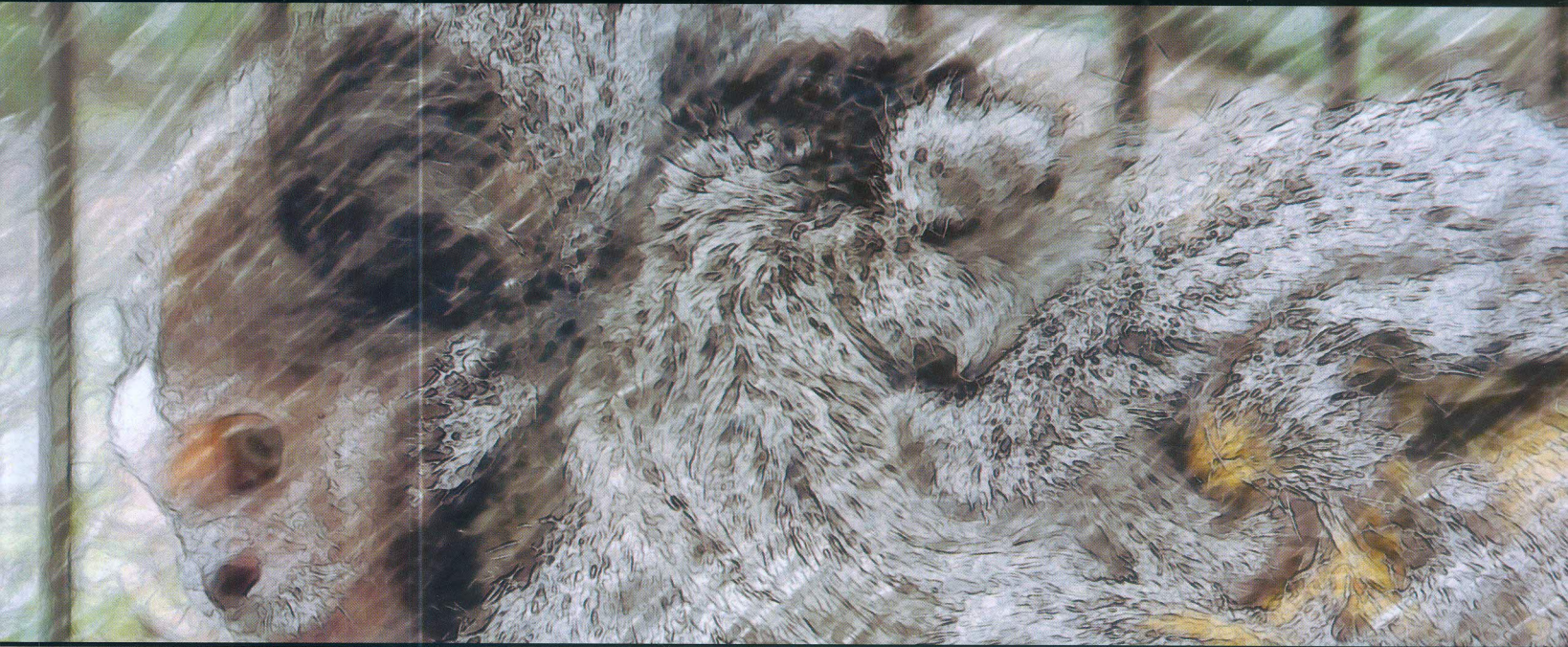


MANUELA GONÇALVES FRAGA GERONYMO SGAI



**Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do
sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*)**



São Paulo

2012

MANUELA GONÇALVES FRAGA GERONYMO SGAI

**Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do
sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Reprodução Animal da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutorado em Ciências

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz
Guimarães

São Paulo

2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2545
FMVZ

Sgai, Manuela Gonçalves Fraga Geronymo
Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do sagui-de-tufo-preto
(*Callithrix penicillata*) / Manuela Gonçalves Fraga Geronymo Sgai. -- 2012.
71 f.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães.

1. Sagui-de-tufo-preto. 2. *Callithrix penicillata*. 3. Ciclo ovariano.
4. Comportamento sócio-sexual. 5. Metabólitos fecais. I. Título.

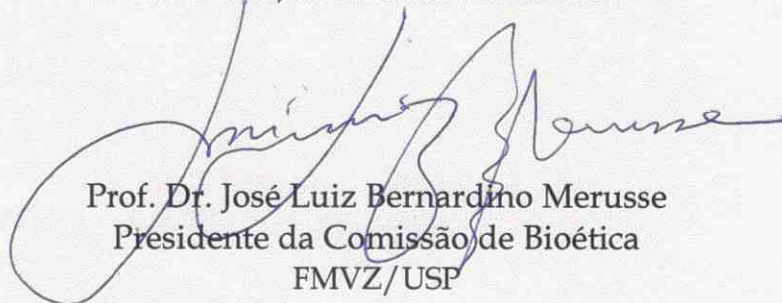


CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da influência do enriquecimento ambiental nas características endócrino-comportamentais reprodutivas de sagüi-de-cara-branca (*Callithrix geoffroyi*), em cativeiro", protocolado sob o nº 1470/2008, utilizando 10 (dez) sagüis, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 29 de outubro de 2008.

We certify that the Research "Evaluation of influency of environmental enrichment in the endocrine-behaviour reproductive characteristics of Geoffroy's tufted-ear marmosets (*Callithrix geoffroyi*), in captivity ", protocol number 1470/2008, utilizing 10 (ten) marmosets, under the responsibility Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/29/08.

São Paulo, 30 de outubro de 2008



Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SGAI, Manuela Gonçalves Fraga Geronymo

Título: Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do sagui-de-tufo-preto
(*Callithrixpenicillata*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Reprodução Animal da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutorado em Ciências

Data: _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Dedico este trabalho a minha mãe,
Maria Laura Gonçalves Fraga Geronymo(*in memoriam*)
por todo o amor, carinho, confiança e incentivo
que me guiaram por toda vida.

A minha família

Ao meu filho, Mateus Geronymo Sgai

Simplesmente por existir

Ao meu marido, Wilson Roberto Sgai

Pela paciência, incentivo e companheirismo

Aos meus pais

Por todo amor e ensinamentos

A minha grande família

Meus avós, irmão, sobrinhos, madrinha, padrinho, afilhado, tios, tias, primos, primas,

Por estarem sempre ao meu lado, alicerce da minha vida

Agradecimento especial

A minha grande amiga e parceira de todos os momentos, **Cristiane Schilbach Pizzuto**,

este trabalho não seria o mesmo sem você

agradeço por todos os bons momentos que passamos, pelo incentivo e pela confiança

Ao meu orientador **Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães,**

Agradeço por toda confiança em mim depositada

Agradecimentos

- Aos saguis, **Maria, Trakinas, Clovis, Sussi, Anone, Muriá, Mogli, Thainá, Selvaginha, Tigon, Silvestrinha, Lion**, por possibilitarem a realização deste projeto.
- Ao **Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS)** por permitirem este estudo com os animais.
- Ao **Bruno Nálío, CintyaEimy Kato, Luciana Guerra** pela grande ajuda na coleta de dados.
- A bióloga **Sumiko (DEPAVE)**, por mais uma oportunidade.
- A **Priscila Viau Furtado**, por toda ajuda com as dosagens hormonais.
- Ao **Rodrigo Amaral e Claudia PeredaFrancischini**, por toda ajuda no laboratório.
- Ao **Marcílio Nichi**, pela grande ajuda na análise estatística.
- A **CintyaEimy Kato**, pelos desenhos que ajudaram ilustrar esta tese.
- A **Paola Goes**, pela preocupação e ajuda nas referencias.
- A todos os funcionários e professores do **Departamento de Reprodução Animal – VRA** pelo auxílio e incentivo indispensáveis.

- A minha amiga **Juliana AnayaSinhorini**, por toda sua amizade.
- Aos **tratadores** do CRAS pela dedicação e carinho durante o trabalho
- A todos os **meus amigos**, que estão sempre por perto.

RESUMO

SGAI, M. G. F. G. **Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*).**[Endocrine profile and reproductive behavior in black tufted marmoset (*Callithrix penicillata*)] 2012. 71 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A possibilidade de obtenção de informações relevantes através do monitoramento hormonal não-invasivo foram fatores determinantes para o delineamento deste projeto, que possibilitou um estudo detalhado dos aspectos comportamentais, reprodutivos e endócrinos do sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), mantido em cativeiro. Utilizamos 6 casais de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) mantidos cativos e em pares no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres - CRAS, São Paulo. Todos os animais tiveram seus comportamentos sócio-sexuais registrados pelo método de amostragem focal por intervalo de tempo com registros a cada 30 segundos em sessões de 30 minutos, totalizando 60 horas para cada animal. Foram coletadas amostras fecais matinais, seis vezes por semana durante 6 meses, a fim de serem extraídos e dosados os metabólitos fecais de estradiol, progesterona e testosterona pelo método de ensaio imunoenzimático (EIE). O objetivo deste trabalho foi descrever e analisar os comportamentos sócio-sexuais e suas respectivas associações com as concentrações de metabólitos fecais de esteróides sexuais em machos e fêmeas de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), nas diferentes fases do ciclo ovariano. Os resultados mostraram a duração do ciclo ovariano de $24,3 \pm 4,1$ dias e as maiores concentrações de metabólitos fecais de estradiol e testosterona das fêmeas na fase lútea. A ocorrência dos comportamentos sócio-sexuais se mostrou mais frequente na fase peri-ovulatória do que nas fases folicular e lútea. Não houve diferença significativa destes comportamentos entre as fases folicular e lútea. Os metabólitos fecais de testosterona dos machos não apresentaram diferença significativa entre as fases do ciclo ovariano das fêmeas.

Palavras-chave: Sagui-de-tufo-preto. *Callithrix penicillata*. Ciclo ovariano. Comportamento sócio-sexual. Metabólitos fecais.

ABSTRACT

SGAI, M. G. F. G. **Endocrine profile and reproductive behavior in black tufted marmoset (*Callithrix penicillata*)**. [Estudo endócrino-comportamental reprodutivo do sagui-de-tufopreto (*Callithrix penicillata*)] 2012. 71 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The possibility of attaining relevant information through a non-invasive hormonal monitoring allow the detailed study of behavioral, reproductive and endocrine profile of captive black tufted marmoset (*Callithrix penicillata*). Six couples of captive black tufted marmoset (*Callithrix penicillata*) were housed at the Centro de Reabilitação de Animais Silvestres - CRAS, São Paulo. Socio-sexual behaviors of all animals were registered using the method of focal interval sampling with observations performed each 30 seconds in 30 minutes sessions, in a total of 60 hours per animal. Fecal samples were collected during the morning, six times a week, for 6 months, in order to extract and measure fecal metabolites of estradiol, progesterone and testosterone by enzyme immunoassay (EIE). The objective of the present study was to describe and analyze the socio-sexual behaviors and correlate them with the fecal concentrations of sexual steroids metabolites in paired male and female black tufted marmoset (*Callithrix penicillata*) in different moments of the ovarian cycle. Results demonstrated that helengthofovariancycleis $24. \pm 4.1$ days. Also, higher concentrations of fecal metabolites of estradiol and testosterone in females are observed during the luteal phase. The occurrence of socio-sexual behaviors were more frequent during the periovulatory phase when compared to the follicular and luteal phases. No differences were found when comparing the follicular and luteal phases. In the males, fecal metabolites of testosterone were similar throughout the ovarian cycles of the respective females.

Keywords: Black tufted marmoset. *Callithrix penicillata*. Ovarian cycle. Socio-sexual behaviors. Sexual steroids metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa ilustrando distribuição geográfica da área de ocorrência natural do sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>).....	23
Figura 2 - Foto ilustrando os casais estudados	34
Figura 3 - Foto ilustrando as gaiolas onde os animais estavam alocados.....	35
Figura 4 - Foto ilustrando gaiolas recolhidas no final da tarde para dentro do galpão.	36
Figura 5 - Foto ilustrando disposição do galpão e das gaiolas durante o dia	38
Figura 6 - Desenho ilustrando o comportamento “marcação de cheiro”.....	38
Figura 7 - Desenho ilustrando o comportamento “cheirar região genito-anal”.....	38
Figura 8 - Desenho ilustrando “catação”.....	39
Figura 9 - Desenho ilustrando “aglomeração”.....	39
Figura 10 - Desenho ilustrando “apresentação sexual”, lado esquerdo macho e lado direito fêmea	40
Figura 11 - Desenho ilustrando o momento da cópula entre o macho e a fêmea	40
Figura 12 - Desenho ilustrando a proximidade entre os indivíduos	41
Figura 13 - Foto ilustrando saguis-de-tufo-preto (<i>C. penicillata</i>) recebendo suco com corante alimentício via oral	42
Figura 14 - Foto ilustrando liofilizador (Liobras) utilizado no estudo	43
Figura 15 - Foto ilustrando aparelho multivortex utilizado no estudo	44
Figura 16 - Foto ilustrando extrato fecal (duplicata) em <i>eppendorf</i> identificado com o número da amostra.....	44
Figura 17 - Foto ilustrando a “proximidade” entre os animais (distância entre eles menor que 30 cm).....	53
Figura 18 - Foto ilustrando o comportamento “catação” entre o casal de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), São Paulo, 2012.....	54
Figura 19 - Foto ilustrando o comportamento “ aglomeração” entre o casal de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), São Paulo, 2012.....	55
Figura 20 - Foto ilustrando “apresentação sexual” do sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), São Paulo, 2012	55

Figura 21 - Foto ilustrando fêmea prenhe de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrixpenicillata</i>) - Anone, São Paulo, 2012	56
Figura 22 - Foto ilustrando Anone, fêmea sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrixpenicillata</i>) carregando seu filhote, São Paulo, 2012	57

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Relação dos indivíduos estudados	36
---------------------------------------------------	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante o ciclo ovariano de fêmeas de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), São Paulo 2012	49
Gráfico 2 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) –Sussi, CRAS - São Paulo, 2012.....	49
Gráfico 3 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) –Maria, CRAS - São Paulo, 2012.....	50
Gráfico 4 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) –Thaina, CRAS - São Paulo, 2012.....	50
Gráfico 5 – Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante as fases folicular, peri-ovulatória e lútea de saguis-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>).....	51
Gráfico 6 – Média das concentrações de metabólitos fecais de testosterona de macho durante o ciclo ovariano de fêmeas de saguis-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), São Paulo 2012.....	52
Gráfico 7 – Frequência de ocorrência da proximidade entre o macho e a fêmea de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) durante as fases do ciclo ovariano, São Paulo, 2012.....	53
Gráfico 8 - Frequência de ocorrência dos comportamentos sócio-sexuais entre o macho e a fêmea de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) durante as fases do ciclo ovariano, São Paulo, 2012	54
Gráfico 9 - Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante a gestação de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>), Sussi, seguido de dois ciclos ovarianos completos, São Paulo 2012	57
Gráfico 10 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando aciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) – Selvaghina, CRAS - São Paulo, 2012.....	59
Gráfico 11 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando aciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (<i>Callithrix penicillata</i>) – Silvestrinha, CRAS - São Paulo, 2012	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 A família Callitrichidae, o gênero <i>Callithrix</i> e a espécie <i>Callithrix penicillata</i>	22
2.2 O sistema social dos primatas	23
2.3 Caracterizando os sistemas de acasalamento	24
2.4 Callitrichideos e a flexibilidade de um sistema de acasalamento	25
2.5 O ciclo ovariano e os comportamentos sexuais	28
2.6 Monitoramento hormonal não invasivo	30
3 OBJETIVOS GERAIS	33
3.1 Objetivos específicos	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Animais	34
4.2 Coleta de dados comportamentais	37
4.3 Comportamentos sócio-sexuais	37
4.4 Colheita das amostras de fezes	41
4.5 Extração fecal e processamento das amostras	42
4.6 Dosagens e análises hormonais por Enzimaimunoensaio (EIE)	44
4.7 Critérios para determinação das fases do ciclo ovariano	45
4.8 Análise estatística	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Ciclo ovariano	48
5.2 Frequência dos comportamentos sócio-sexuais durante as fases folicular, lutea e peri-ovulatória	52
5.3 Gestação	55

5.4 Aciclicidade	58
6 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca entre as nações mais ricas em biologia, e detém áreas valiosas para a conservação da biodiversidade. No Brasil estão localizados biomas como a floresta amazônica, cerrado, caatinga, pantanal, mata atlântica e pampa (SPAROVEK, 2012). A Mata Atlântica que um dia cobriu 15% do território brasileiro (BRONDIZIO; GURGEL, 1990) começou ter sua área devastada em 1500 e hoje restam menos que 10% da sua área original (CAMARA, 2003; TABARELLI et al., 2005), as quais se encontram dispersas e fragmentadas (MACHADO et al., 2005).

A biodiversidade não está igualmente distribuída ao redor da terra. Estudos recentes apontam que 25 ecossistemas concentram 60% de toda a diversidade de vida do planeta, em apenas 1,4% de sua superfície. Esses ecossistemas chamados de *hot spots* da biodiversidade são as regiões mais ricas e também as mais ameaçadas do mundo (SPAVOREK, 2012).

A Mata Atlântica é considerada um dos maiores repositórios de biodiversidade do planeta e também um dos mais importantes *hot spots* do mundo (MYERS et al., 2000). Da sua área original, restam menos de 8%, os quais se encontram dispersas e fragmentadas (MACHADO et al., 2005). Este bioma é uma das áreas consideradas prioritárias para a conservação.

A última revisão da fauna brasileira ameaçada de extinção indicou uma lista de 633 espécies, sendo 126 criticamente em perigo, ou melhor, com populações extremamente reduzidas e próximas da extinção, se medidas concretas de conservação não forem tomadas (MACHADO et al., 2005). A ameaça da extinção das espécies depende principalmente da conservação dos seus habitats (LINDBURG et al., 1986; FOOSE et al., 1987), e uma das formas para minimizar esta ameaça é assegurar que existam unidades de conservação em número e tamanhos suficientes para a persistência, em longo prazo, de populações dessas espécies (RYLANDS et al., 1994). Por outro lado, a pressão negativa sobre as populações de primatas pode ser amenizada pela reprodução em cativeiro (LINDBURG et al., 1986; FOOSE et al., 1987). A auto-sustentação da população de primatas cativos aumenta os efeitos da conservação (BERCOVITCH; ZIEGLER, 1989). Em alguns casos a reprodução em cativeiro pode ser a única alternativa, tornando-se importante o desenvolvimento de ferramentas

eficientes e apropriadas para auxiliar na obtenção do sucesso reprodutivo (SNOWDON, 1989).

O sucesso reprodutivo depende da cópula e da sobrevivência da prole, em média 25% dos primatas nascidos em cativeiro morrem antes de completarem um mês de vida, e menos da metade das espécies classificadas como ameaçadas reproduziram em zoológicos no período de 1971 a 1980 (LINDBURG et al., 1986). As causas responsáveis pelo insucesso reprodutivo podem ser inúmeras, como por exemplo, doenças, dieta inadequada, desvios de comportamento, e outros. O desempenho reprodutivo de espécies ameaçadas ou não, podem ser melhorados através da colaboração de pesquisadores que estudam animais em vida livre e cativeiro (BERCOVITCH; ZIEGLER, 1989).

A elevada diminuição populacional de algumas espécies da família Callitrichidae e o risco de ameaça de extinção de algumas delas fizeram com que pesquisadores buscassem informações e conhecimentos mais detalhados sobre os Callitrichídeos (BECK et al., 1982; CARROLL, 1982).

Neste contexto, as aplicações e validações de técnicas de mensuração hormonal por métodos não-invasiva vêm crescendo nos últimos anos e o desenvolvimento destes métodos, se deu principalmente, pela necessidade de se complementar análises comportamentais com aspectos hormonais. Recentes estudos que tentam correlacionar medidas comportamentais e hormonais ofertam novas descobertas sobre várias espécies, sobre os custos e benefícios de estratégias comportamentais e suas regulações endócrinas, além de possibilitar um entendimento mais apurado da evolução do comportamento sócio-sexual (MOBERG, 1985; ZIEGLER, 1990; LIPTRAP, 1993).

A avaliação do “status” reprodutivo pode ser feita através do monitoramento das características endócrinas mensuradas no sangue, fezes, urina ou saliva em resposta a mecanismos fisiológicos (LUTZ et al., 2000). Dentre as técnicas mais utilizadas para a mensuração de hormônios ou de seus metabólitos, podemos citar o radioimunoensaio (RIE) e o enzimaensaio (EIE) (HEISTERMANN, 1993; ZIEGLER, 1996; FRENCH, 1996).

As publicações mais consistentes apresentam dados sobre o *Callithrix jacchus* (ABBOTT; HEARN, 1977; CHAMBERS, HEARN, 1979; HEARN; LUNN, 1979). O sagüi-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*) é uma espécie de Callitrichídeo sobre o qual inexitem informações acerca de suas características endócrino-reprodutivas, sendo este conhecimento essencial para a compreensão da evolução da estratégia reprodutiva da espécie e para melhor

adequação do manejo reprodutivo nos cativeiros, assim como a potencial aplicação de técnicas de reprodução assistida como ferramenta auxiliar para o incremento da diversidade genética das populações. Desta forma, torna-se extremamente relevante, que esta espécie nativa de pequeno primata seja estudada e melhor conhecida do ponto de vista endócrino-comportamental.

A elucidação dos fatores que influenciam as estratégias reprodutivas dos indivíduos contribuirá para a conservação de suas populações (BERCOVITCH; ZIEGLER, 1989).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A família Callitrichidae, o gênero *Callithrix* e a espécie *Callithrix penicillata*

Os primatas da família Callitrichidae pertencem à subordem Antropoidea, que é dividida em duas infraordens: Platyrrhinos e Catarrhinos. Os Platyrrhinos são encontrados na América do Sul e Central, são conhecidos como primatas neotropicais ou do Novo Mundo. Os Catarrhinos estão localizados na África e na Ásia e são comumente chamados de primatas do Velho Mundo (ROWE, 1996).

Os primatas neotropicais possuem hábito arborícola e são diurnos, com exceção do gênero *Aotus sp* (KINZEY, 1997; STRIER, 2003). Atualmente os Callitrichideos são divididos em sete gêneros *Callithrix sp* (saguis do leste brasileiro), *Mico sp* (saguis da região amazônica), *Saguinus sp* (micos), *Leontopithecus sp* (micos-leões), *Cebuella sp* (sagui-anão) e *Callimico sp* (Calimico) (RYLANDS et al., 2009 livro “*The smallest anthropoids*”), hoje são reconhecidas 61 espécies e subespécies de Callitrichideos (MITTERMEIER, 2009).

O gênero *Callithrix* é representado por seis espécies, e são conhecidos popularmente por sagüis; *Callithrix aurita*, *Callithrix flaviceps*, *Callithrix geoffroyi*, *Callithrix kuhlii* encontrados na mata atlântica das regiões sudeste e nordeste, o *Callithrix jacchus*, nativo da caatinga e mata atlântica do nordeste e por fim o *Callithrix penicillata*, proveniente do cerrado, na região central e leste do Brasil (RYLANDS, 2009).

O *Callithrix penicillata* também conhecido como sagüi-de-tufo-preto, mico-estrela, “Black pincelled marmoset”, sagüi-do-cerrado (STEVENSON; RYLANDS, 1988; FARIA, 1989) é nativo de florestas e matas de galerias do cerrado e possui ampla distribuição na natureza, com uma área que vai desde os estados do Maranhão e sudeste do Piauí, ao norte de São Paulo, incluindo a maior parte da Bahia, Minas Gerais e Goiás (RYLANDS, 1993)(figura 1). Em decorrência da ação antrópica, tanto o *Callithrix penicillata* quanto o *Callithrix jacchus* podem ser encontrados com frequência em locais distintos de suas áreas de ocorrência natural (CERQUEIRA, 1998; RUIZ-MIRANDA, 2006).

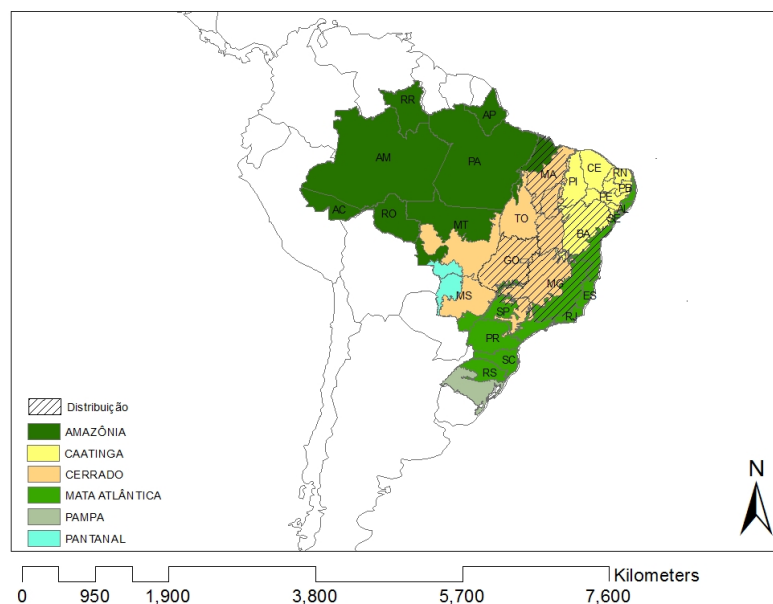


Figura 1 - mapa ilustrando distribuição geográfica da área de ocorrência natural do sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*)

Estes pequenos primatas possuem habito arborícola e diurno, vivem em grupos que variam entre três e nove indivíduos, em áreas equivalentes a 1.25 – 10 hectares (ROWE, 1996) e pesam entre 300 e 450 g (RYLANDS, 2000). A alimentação do *C. penicillata* é baseada em frutos, insetos, néctar (FARIA, 1986, 1989; MIRANDA, 1997) e exsudatos de plantas (FARIA, 1984, 1986, 1989). O exsudato é um importante recurso alimentar, pois é rico em carboidratos e serve como fonte de energia especialmente em épocas de escassez de alimentos (COIMBRA-FILHO; MITTERMIEER, 1977).

2.2 O sistema social dos primatas

A organização social, estrutura social e sistema de acasalamento são componentes distintos

do sistema social dos primatas. A organização social representa o tamanho do grupo, composição por classe de sexo e idade e a coesão espaço-temporal de uma unidade social. O sistema de acasalamento possui um componente social referente ao padrão de acasalamento de uma sociedade e as consequências reprodutivas do padrão de acasalamento. A estrutura social engloba o padrão de interação social entre membros de uma sociedade e os relacionamentos resultantes dessas interações (KAPPELER; VAN SCHAIK, 2002).

2.3 Caracterizando os sistemas de acasalamento

Os conflitos de interesse reprodutivo entre indivíduos resultam na diversidade de sistemas de acasalamento encontrada entre as espécies e sexos (MAXWELL, 1994). Um único macho é capaz de produzir uma grande quantidade de gametas, e assim fertilizar inúmeras fêmeas. A fêmea precisa copular uma ou algumas vezes para ter seu óvulo fertilizado (BATERMAN, 1948).

Os conceitos evolucionários clássicos impõem as diferenças fundamentais esperadas entre os tamanhos dos gametas femininos e masculinos, as fêmeas estão predispostas a empenharem suas tentativas reprodutivas na qualidade da prole (efeito parental), enquanto que o empenho do macho é quantitativo (efeito cópula) (TRIVERS, 1972). Conseqüentemente o potencial reprodutivo do macho é maior (CLUTTON-BROCK; VINCENT, 1991) e estes competem mais intensamente pelas cópulas do que fazem as fêmeas (EMLEN; ORING, 1977). Desta maneira, a poliandria (sociedade onde dois ou mais machos copulam apenas com uma fêmea) deveria ser rara entre os mamíferos, em que a fertilização interna e a longa duração do período gestacional oferecem aos machos outras oportunidades e maiores chances de deserção (HUCK et al., 2005). Dentre a ordem dos primatas, a poliandria foi reportada apenas em algumas sociedades humanas (CROOK; CROOK, 1988) e em algumas espécies dentro da sub-família Callitrichinae (GOLDIZEN, 1987).

A classificação de uma espécie quanto ao sistema de acasalamento não constitui tarefa das mais fáceis. Monogamia, poliandria, poliginia são alguns dos sistemas propostos, de forma potencial, facultativa ou estrita. Os critérios para classificar os grupos em um desses

sistemas não são, de forma alguma, claros e não raros esses critérios se sobrepõem (CRUZ, 1998).

A definição para sistemas de acasalamento depende do número de fêmeas e machos reprodutivos em uma unidade social. O número de machos e fêmeas que se reproduzem em um grupo não é uma característica espécie-específica, podendo variar entre os mesmos grupos dependendo das diferenças no *habitat* e condições demográficas (STRIER, 2000).

A variação entre os diferentes sistemas de acasalamento não indica que estes sejam aleatórios (SUTHERLAND, 1985). A distinção básica entre estes sistemas é o número de cópulas individuais de cada sexo em um período reprodutivo (THORNHILL; ALCOCK, 1983) e como ocorre a formação destes pares (EMLEN; ORING, 1977).

2.4 Callitrichideos e a flexibilidade de um sistema de acasalamento

Tradicionalmente, os Callitrichideos eram considerados obrigatoriamente monogâmicos. Hipótese aceita pelo fato dos Callitrichideos não apresentarem dimorfismo sexual (KLEIMAN, 1977) e algumas características comportamentais (KLEIMAN; MACK, 1980), além de exibirem um alto nível de respostas agressivas frente a intrusos co-específicos e do mesmo sexo (FRENCH; SNOWDON, 1981).

Recentes estudos indicam que os Callitrichideos exibem um sistema de acasalamento flexível, podendo variar entre poliginia, poliandria e monogamia (SUSSMAN; GARBER, 1987; TERBORGH; GOLDIZEN, 1987; SCHAFFNER; FRENCH, 2004;). Esta flexibilidade pode ser explicada pela reprodução gemelar dos Callitrichideos (*Callimico goeldii* é a única espécie de Callitrichideo que gesta apenas 1 filhote ao invés de gêmeos) e o cuidado parental extensivo dos machos (DUNBAR, 1995).

Goldizen (1990), acredita que o sistema de acasalamento dos Callitrichideos evoluiu dentro de uma série de estágios, em que o estágio inicial foi a poliginia com apenas um filhote, seguido pela ligação do casal (monogamia) e cuidado parental do macho, gestações gemelares e cooperação de outros indivíduos do grupo no cuidado com a prole e então a poliandria como um estágio final. Dunbar (1995) estudou as possíveis forças seletivas agindo no sistema de acasalamento dos Callitrichideos e chegou às mesmas conclusões, as quais

foram baseadas nas necessidades biológicas. Para Kleiman (1977), a evolução do sistema monogâmico de muitos grupos de Callitrichideos pode estar relacionada com a necessidade da ajuda do macho. Dois machos podem dividir o acesso a fêmea (poliandria), particularmente no início da história do grupo, a fim de garantir cuidado suficiente para os filhotes (GOLDIZEN, 1987; 1990).

Os Callitrichideos exemplificam o caso em que a monogamia é uma vantagem quando as fêmeas requerem ajuda no cuidado relativamente longo de filhotes (KLEIMAN, 1977; GOLDIZEN, 1987). As fêmeas das espécies *Callithrix* sp. e *Saguinus* sp. têm um potencial reprodutivo alto devido à parição gemelar bianual e ovulação pós-parto. Esta exigência reprodutiva pode ser custosa para praticamente todos os membros do grupo. Para a fêmea reprodutora é ainda maior, já que ela pode estar gestando e amamentando os filhotes gêmeos, com peso e tamanho proporcionalmente elevados em relação a ela (HEARN, 1983; KLEIMAN, 1977).

Com a ovulação pós-parto ocorrendo entre 2 e 4 semanas após o nascimento (ZIEGLER et al., 1987), o interesse do macho pela fêmea aumenta. A hipótese da ovulação silenciosa evoluiu nas fêmeas da família Callitrichidae, obrigando os machos permanecerem por perto durante todo o ciclo (STRIBLEY et al., 1987). Se os machos não podem detectar a ovulação, eles são obrigados a ficar por perto a fim de não perder o período fértil. As fêmeas não menstruam, não exibem sinais visuais do estro e não existem diferenças na citologia vaginal durante o ciclo ovariano (HAMPTON et al., 1966).

As fêmeas podem apresentar diferentes tipos de investimento no relacionamento com o macho: se o investimento parental é essencial para o sucesso da sobrevivência dos gêmeos, é esperado que as fêmeas utilizem estratégias que mantenham os machos por perto, principalmente no momento mais importante para elas (antes do nascimento dos filhotes), para garantir o cuidado suficiente no tempo certo. Resultados indicam que as cópulas podem aumentar antes do parto (EVANS; POOLE, 1984), sugerindo que as fêmeas tornam-se mais atrativas e receptivas neste período, encorajando os machos a permanecerem por perto (PRICE, 1992).

Sob circunstâncias normais, as fêmeas são incapazes de criar os filhotes gêmeos sozinhas (GOLDIZEN, 1987), o que é explicado pelo modo com que o macho reprodutor e outros membros do grupo (incluindo filhotes mais velhos) tornam-se envolvidos no cuidado parental (DUNBAR, 1995b).

Grupos multi-fêmeas são na maior parte das vezes instáveis (HAMPTON et al., 1966), sendo que geralmente apenas uma fêmea se reproduz dentro de um grupo (ABBOTT, 1984), estando as outras fêmeas fisiologicamente suprimidas (ABBOTT, 1984; ZIEGLER, 1987). A ausência de ajudantes para criar os filhotes, a falta de oportunidades para a dispersão, o infanticídio pelas fêmeas dominantes podem contribuir para a ineficiência reprodutiva de fêmeas subordinadas em grupos de sagüis (DIGBY, 1995; RODA; RODA, 1987).

As estratégias usadas por fêmeas de *Callithrix jacchus* dependem do *status* (dominantes ou subordinadas), parentesco e relação social com as outras fêmeas do grupo, existência de possíveis cópulas e a viabilidade de possíveis vagas para a reprodução no grupo (YAMAMOTO, 2005).

A fêmea dominante pode escolher entre: (i) manter exclusividade reprodutiva, permitindo uma monopolização de recursos e ajuda, aumentando a taxa de sobrevivência dos filhotes. Por outro lado, monopolizando a reprodução, a fêmea terá o custo fisiológico e comportamental da supressão das fêmeas subordinadas; (ii) dividir a reprodução com uma segunda fêmea, poderá gerar um benefício se esta segunda fêmea for parente, aumentando o "fitness inclusive". No entanto, a presença de outra fêmea reprodutiva no grupo pode diminuir a sobrevivência dos filhotes da dominante (YAMAMOTO, 2005).

Para a fêmea subordinada as alternativas são: (i) esperar uma vaga para um posto de dominante em um grupo vizinho ou emigrar para um grupo incipiente. Para tanto, é necessário esperar pelas oportunidades, que são raras e imprevisíveis; (ii) reproduzir como segunda fêmea, resultando em uma atividade reprodutiva antecipada, exposição ao assédio da fêmea dominante e aumento do risco de infanticídio; (iii) cópulas extra-grupo, acesso aos machos não aparentados, acesso aos grupos vizinhos e diminuição da exposição à fêmea dominante. Porém, estas estratégias mostram-se eficientes em poucas ocasiões, quando a fêmea torna-se gestante nestas ocasiões, não encontra condições adequadas para a sobrevivência do filhote (YAMAMOTO, 2005).

Para o macho, a decisão é entre ficar com a fêmea em um sistema de acasalamento monogâmico ou deixá-la, sair em busca de outras fêmeas para copular (*roving-male polygamy*) (DUNBAR, 1995b).

A decisão do macho depende principalmente da estratégia utilizada pelos ajudantes. Dunbar (1995b) considera 3 diferentes possibilidades: (i) filhos mais velhos permanecem no grupo natal para cuidar dos filhotes novos, (ii) machos que tornam-se satélites, esperando a

oportunidade de herdar o *status* de dominante, (iii) machos que formam alianças poliandricas com o macho dominante, podendo monopolizar as fêmeas reprodutoras com maior eficiência. Em termos funcionais, o segundo e o terceiro caso diferem principalmente na frequência em que os ajudantes copulam: um macho satélite pode esperar copular somente após o macho dominante deixar o grupo, ao modo que uma aliança proporciona a divisão das cópulas.

Primatas da família Callitrichidae são sensíveis aos efeitos dos ambientes sociais nas funções reprodutivas e comportamentais (EPPLÉ, 1975; ZIEGLER et al., 1990), vivem em grupos, apresentam um sistema de acasalamento flexível, que varia entre a monogamia, poliginia e poliandria (SUSSMAN; GARBER, 1987; TERBORGH; GOLDIZEN, 1987; SCHAFFNER; FRENCH, 2004), a emigração é comum, e os grupos sociais incluem indivíduos não aparentados de ambos os sexos (NEYMAN, 1977; GARBER, 1984; TERBORGH; GOLDIZEN, 1985; SUSSMAN; GARBER, 1987). Apenas uma fêmea produz filhotes viáveis, todos os indivíduos ajudam no cuidado com estes filhotes, já que o custo é muito alto (SUSSMAN; GARBER, 1987). No entanto, os mecanismos proximais responsáveis pela manutenção deste sistema de acasalamento diversificado permanecem obscuros.

2.5 O ciclo ovariano e os comportamentos sexuais

Existem três características comportamentais nas fêmeas primatas que apresentam uma importância particular no que diz respeito à probabilidade de sucesso no comportamento de cópula: atratividade, solicitação e receptividade. A frequência de ocorrência dos comportamentos sexuais varia durante o ciclo ovariano e as mudanças cíclicas (atratividade, solicitação e receptividade) que ocorrem nas fêmeas influenciam a responsividade sexual dos machos (BEACH, 1976). Esta atividade sexual também é dependente de onde os primatas estão localizados e como são organizados, seja em vida livre ou no cativeiro, em grupos sociais ou em pares (KENDRICK; DIXSON, 1982).

Primatas do velho mundo e grandes antropóides observados em situações variadas, copulam em todas as fases do ciclo ovariano das fêmeas, como por exemplo, *Macaca mulatta* (MICHAEL; HERBERT; WELLEGALLA, 1967), *Macaca nemestrina* (TOKUDA; SIMMS; JENSEN, 1968), *Papio ursinus* (SAYAMANN, 1970) e *Pan troglodytes* (TUTIN, 1980); em

espécies como *Macaca arctoides* (SLOB; BAUM; SCHENK, 1978) e *Pongo pygmaeus* (NADLER, 1977) as cópulas com ejaculações são mais frequentes durante a fase folicular e/ou peri-ovulatória e para espécies como *Cercocebus albigenas* (CHALMERS; ROWELL, 1971) e *Gorilla gorilla* (NADLER, 1977) as cópulas são restritas ao período peri-ovulatório.

A grande maioria dos mamíferos machos respondem ao período peri-ovulatório das fêmeas quando recebem um sinal visual ou olfativo (EISENBERG; KLEIMAN, 1972). Um sinalizador bem característico é o intumescimento da região perineal, visto em algumas espécies de primatas do velho mundo e grandes antropoides. Nos chimpanzês (*Pan troglodytes*) a maior frequência de cópula ocorre durante o grau de intumescimento máximo (LEMMON; ALLEN, 1978) e está associado aos níveis séricos de estrógeno e à ovulação (LEMMON; ALLEN, 1978; PIZZUTTO, 2006). Ao contrário do que é visto com os primatas do velho mundo, a exibição dos sinais físicos ou comportamentais da atividade ovariana são raras no primatas do novo mundo (HODGES et al., 1981).

A questão envolvendo o “status” reprodutivo de fêmeas da família Callitrichidae é constantemente debatida no meio científico. Sinalizadores visuais da ovulação, como a coloração da genitália ou intumescimentos são ausentes (ZIEGLER et al., 1993). As cópulas ocorrem durante todas as fases do ciclo ovariano, inclusive no período gestacional (DIXSON, 1998). Alguns estudos indicam um discreto aumento da ocorrência de cópulas em certos períodos do ciclo ovariano da fêmea (KLEIMAN, 1977; DIXSON; LUNN, 1987; DIXSON, 1987). Para os primatas desta família assim como para outros mamíferos monogâmicos a exibição de interações sócio-sexuais entre o par reprodutivo e os sinais observáveis de ovulação são poucos ou inexistentes (KLEIMANN, 1977). A teoria da ovulação silenciosa ou oculta, em que o macho é incapaz de determinar quando a fêmea está ovulando é proposta como uma explicação para os machos monogâmicos permanecerem com suas fêmeas e ajudar no cuidado parental (STRIBLEY et al., 1987; ZIEGLER et al., 1993).

Através do monitoramento endócrino estudos embasados em dados comportamentais e hormonais não encontraram diferenças significativas nos comportamentos sexuais entre machos e fêmeas da espécie *Leontopithecus rosalia* associados com mudanças cíclicas nas concentrações de metabólitos hormonais urinários (STRIBLEY et al., 1987), Kleimann (1977) observou animais da mesma espécie e encontrou aumento da frequência dos comportamentos de cheirar e catação, além do tempo em que os casais permaneciam próximos. Kendrick e Dixson (1993) observaram um aumento no comportamento de expor a língua “tongue-flicking” correlacionado com a ovulação, porém outros comportamentos

sócio-sexuais como catação, marcação de cheiro, inspeção olfativa não se alteraram durante as fases do ciclo. French et al. (1984) e Savage et al. (1988) não encontraram correlação comportamental com a ovulação em *Saguinus oedipus*. Ziegler (1987) estudou animais da mesma espécie e com o monitoramento hormonal e comportamental dos animais percebeu uma taxa de concepção em mais de 85% das ovulações, sugerindo a ocorrência de algum tipo de comunicação do “status” ovulatório. Quando expostos a fêmeas ovulando os machos apresentaram ereções peniana frequentes e aumento na frequência de cópula (ZIEGLER, 1993).

A fase folicular dos primatas é caracterizada por níveis basais de progesterona circulante, elevação dos níveis de estradiol e um pico pré-ovulatório de LH (GILCHRIST et al., 2001). A fase luteal de cada ciclo ovariano é definida à partir do aumento sustentável de progesterona até sua redução a níveis basais. A ovulação é esperada aproximadamente 24 horas antes do aumento da progesterona (KENDRICK; DIXSON, 1983). A fase peri-ovulatória compreende o período de 24 horas antes e 24 horas após o início da fase lútea (CONVERSE et al., 1995).

Em fezes de *Callithrix jacchus*, tanto os metabólitos de progesterona quanto os de estradiol, seguem perfis similares. O início da fase luteal é caracterizado pelo aumento das concentrações de metabólitos de estradiol seguido pelo início do aumento das concentrações de metabólitos de progesterona. Os aumentos sustentáveis de progesterona e estradiol ocorrem de 2 a 4 dias após o pico de LH plasmático (ZIEGLER, et al., 1996). A indicação de ovulação pode ser caracterizada pelo aumento sustentável das concentrações de metabólitos fecais de progesterona. A duração do ciclo ovariano difere entre as diferentes espécies da família Callitrichidae, por exemplo, *Leontopithecus schrysomelas*: $21,5 \pm 2,5$ dias (DE VLEESCHOUWER et al., 2000); *Saguinus fuscicollis*: $25,7 \pm 1,0$ dias (HEISTERMANN; HODGES, 1995).

A gestação pode ser caracterizada pela contagem retroativa do tempo, a partir do momento do parto e através do aumento sustentável de progesterona e estradiol baseando-se no período gestacional de aproximadamente 148 dias (CHAMBERS; HEARN, 1979).

2.6 Monitoramento hormonal não invasivo

As aplicações e validações de técnicas de mensuração hormonal têm aumentado exponencialmente nos últimos 10 anos. Com o desenvolvimento de técnicas não invasivas usadas no monitoramento fisiológico, os endocrinologistas podem examinar a relação entre hormônio e comportamento dos animais em vida livre e em cativeiro (FINCH; ROSE, 1995).

O desenvolvimento destes métodos se deu principalmente pela necessidade de se analisar aspectos comportamentais relacionados às concentrações hormonais. Recentes estudos que tentam correlacionar medidas comportamentais e hormonais apresentam novas descobertas sobre várias espécies, sobre os custos e benefícios de estratégias comportamentais e suas regulações endócrinas, além de possibilitar um entendimento mais apurado da evolução do comportamento sócio-sexual. A investigação hormonal requer atenção ao contexto ecológico normal e social da função endócrina e sua relação com a variação comportamental, história de vida e reprodução. Não surpreende que os estudos no campo da vida livre revelem valores hormonais absolutos diferentes daqueles encontrados nos animais cativos (WINGFIELD et al., 1990). O significado destas diferenças é investigado através do uso de diferentes métodos, como, por exemplo, análises etológicas comparando níveis hormonais antes e após interações sociais, e estimulação experimental de respostas hormonais usando estímulos sociais e ambientais simulados, onde os níveis hormonais são alterados para investigar as consequências reprodutivas (KETTERSON; NOLAN, 1992).

Muitas destas pesquisas focaram estratégias reprodutivas com dosagens em sangue, na qual se fazia necessário o uso de contenções químicas e/ou físicas (WINGFIELD et al., 1990; MOORE, 1991; SAPOLSKY, 1993; PHILLIPS-CONROY et al., 1992; KAPLAN et al., 1995), possibilitando apenas uma avaliação pontual do hormônio a ser analisado. As liberações de alguns esteróides são ações imediatas após o estímulo, porém os efeitos destes hormônios, bem como os efeitos no comportamento, podem ocorrer 24-48 horas após o estímulo hormonal original ter desaparecido na matriz sérica (O'MALLEY; SCHRADER; TSAI, 1986).

O desenvolvimento e validação de novos e não-invasivos métodos de avaliação endócrina utilizando metabólitos de esteróides excretados nas fezes, propiciaram inúmeras pesquisas em diversas espécies de mamíferos (WHITTEN; BROCMAN; STAVISKY, 1998).

Esteróides gonadais e peptídeos da hipófise podem ser mensurados no soro, plasma, urina, saliva (LUTZ et al., 2000) e fezes (apenas para os esteróides) (WHITTEN;

BROCKMAN; STAVISKY, 1998). O monitoramento hormonal não-invasivos têm sido usados para análises de estudos reprodutivos (SHIDELER et al, 1983; CZEKALA et al., 1986; ASA et al., 1994; BELLEN; MONFORT; GOODROWE, 1995; STRIER; ZIEGLER, 1994, 1997; BROWN et al., 1995; BROCKMAN et al., 1995; STAVISKY et al., 1995; BROCKMAN; WHITTEN, 1996;SCHWARZENBERGER et al., 1996;ZIEGLER et al., 1997;). A determinação do “status” reprodutivo através do monitoramento hormonal não invasivo facilita o estudo em diversas áreas do conhecimento, tais como, ecologia comportamental e biologia da conservação. Fornece informações importantes do ciclo ovariana e gestação em uma grande variedade de mamíferos (LASLEY, 1985).

3 OBJETIVOS GERAIS

Descrever e analisar os comportamentos sócio-sexuais e reprodutivos e suas respectivas associações com as concentrações de metabólitos fecais de esteróides sexuais em machos e fêmeas de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), nas diferentes fases do ciclo ovariano.

3.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram: (1) descrever as variações das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona das fêmeas nas diferentes fases do ciclo ovariano; (2) monitorar as variações das concentrações de metabólitos fecais de testosterona dos machos e verificar se há associação destas concentrações com as diferentes fases do ciclo ovariano das fêmeas; (3) comparar as características comportamentais sócio-sexuais e reprodutivas das fêmeas e machos nas diferentes fases do ciclo ovariano; (4) determinar a aplicabilidade do uso desta metodologia para caracterizar o “status” reprodutivo na espécie estudada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram estudados doze indivíduos da espécie sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) (Figura 2), mantidos no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) do Departamento de Parques e Áreas Verdes (DEPAVE III) do município de São Paulo.



Figura 2 - Foto ilustrando os casais estudados

Os animais estavam alocados casais (Quadro1) mantidos em gaiolas com ponto de fuga, rede para descanso e puleiros. As medidas das gaiolas eram: 120cm x 60cm x 60 cm (gaiola superior) e 120cm x 80 cm x 60 cm (gaiola inferior). Os doze animais mantinham contato auditivo, visual e olfativo, porém o contato físico só era possível com o seu respectivo parceiro(a) (Figura 3).



Figura 3 - foto ilustrando as gaiolas onde os animais estavam alocados

Durante a noite e dias chuvosos as gaiolas eram mantidas dentro de um galpão (3m x 6m x 3m) (Figura 4), localizado afastado de recintos de outros animais (Figura 5). Diariamente as gaiolas eram retiradas para o lado de fora do galpão, e os animais ficavam sob condição de iluminação natural até o final da tarde quando eram recolhidos novamente para o galpão.



Figura 4 - foto ilustrando gaiolas recolhidas no final da tarde para dentro do galpão.



Figura 5 - foto ilustrando disposição do galpão e das gaiolas durante o dia

O manejo alimentar foi o padronizado pela instituição mantenedora, composto basicamente de frutas da estação, ração para primatas (MegaZoo®, MG., Brasil), tenébrios, grilos e ovos, sendo a água *ad libitum*.

INDIVÍDUO	SEXO	CASAL	IDADE	COMENTÁRIOS
Anone	Fêmea	Casal 1	Adulto	Nasceu no CRAS
Muriá	Macho	Casal 1	Adulto	Nasceu no CRAS
Sussi	Fêmea/Laqueada	Casal 2	Adulto	Nasceu no CRAS
Clovis	Macho	Casal 2	Adulto	Origem incerta
Thainá	Fêmea/Laqueada	Casal 3	Adulto	Nasceu no CRAS
Mogli	Macho	Casal 3	Adulto	Origem incerta
Maria	Fêmea/Laqueada	Casal 4	Adulto	Origem incerta
Trakinas	Macho	Casal 4	Adulto	Origem incerta
Selvaginha	Fêmea	Casal 5	subadulto/adulto	Vida livre
Tigon	Macho	Casal 5	Adulto	Nasceu no CRAS
Silvestrinha	Fêmea	Casal 6	subadulto/adulto	Vida Livre
Lion	Macho	Casal 6	Adulto	Nasceu no CRAS

CRAS – Centro de Reabilitação de Animais Silvestres

Quadro 1- Relação dos indivíduos estudados

Os critérios para determinar o estágio do desenvolvimento seguiram aqueles propostos por Yamamoto (1993), onde: infante (0-5 meses), juvenil (5-10 meses), subadulto (10-15

meses) e adultos (>15 meses). As fêmeas procedentes da vida livre tiveram sua idade estimada, e foram classificadas na transição entre as categorias subadulto e adulto.

No total das seis fêmeas que fizeram parte deste estudo, três eram laqueadas e três não.

4.2 Coleta de dados comportamentais

Os dados dos animais foram coletados ao longo de 6 meses, entre maio e novembro de 2010. As observações comportamentais foram conduzidas pelo método de “amostragem focal por intervalo de tempo” (BOINSKI et al., 1999; FEKETE et al., 2000), com registros de 30 minutos em intervalos de 30 segundos.

As observações foram feitas no período da manhã e tinham a duração de 60 minutos, poderiam ocorrer entre 8:00 e 10:00 horas da manhã dependendo da duração do manejo (limpeza das gaiolas, colheita das fezes e fornecimento da alimentação) e aconteceram 5 vezes por semana, totalizando 120 horas para cada animal em 14.400 registros. Antes de cada período de observação, foi permitido aos animais 20 minutos para aclimatarem-se com a presença dos observadores. As interações entre os machos e as fêmeas foram registradas a fim de quantificar e qualificar comportamentos sócio-sexuais (DE VLEESCHOUWER, et al., 2000), a proximidade entre o par também foi registrada com o objetivo de avaliar o estabelecimento e a manutenção social (EVANS; POOLE, 1983).

Durante o período do estudo, os registros do comportamento foram realizados por 4 observadores. Anteriormente ao início do experimento, os observadores foram treinados coletando dados simultaneamente dos mesmos animais, seguindo os protocolos estipulados para a coleta. Ao término das sessões de treinamento, os resultados eram confrontados e discutidos de forma a se obter uma padronização dos critérios para o reconhecimento e a tabulação dos diferentes aspectos comportamentais.

4.3 Comportamentos sócio-sexuais

Dentre os comportamentos sócio-sexuais observados durante os meses deste estudo, sete categorias foram selecionadas como marcadores comportamentais para o estabelecimento

e manutenção do relacionamento social (EVANS; POOLE, 1983; DE VLEESCHOUVER et al., 2000).

O repertório sócio-sexual selecionado encontra-se descrito a seguir:

(1) “marcação por cheiro” (Figura 6): esfregar região genito-anal em um substrato (KLEIMAN, 1997);

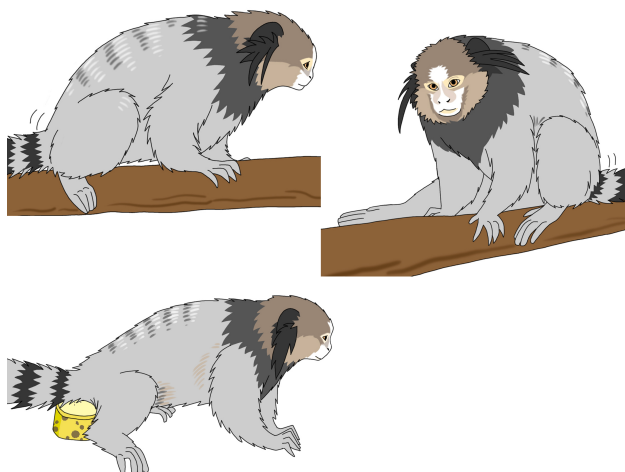


Figura 6 - desenho ilustrando o comportamento “marcação de cheiro”.

(2) “cheirar região ano-genital” (Figura 7): encostar ou aproximar o nariz na região ano-genital do outro indivíduo (HOAGE, 1982). A inspeção olfatória da fêmea no macho tem a função proceptiva (KLEIMAN et al., 1988) e a do macho na fêmea tem a função de avaliar a atratividades e o *status* reprodutivo (KLEIMAN, 1977; DIXON, 1998);



Figura 7 - desenho ilustrando o comportamento “cheirar região genito-anal”

(3) “catação” (Figura 8): mordidas ou pegadas de partes do pêlo para realização de limpeza e fortalecimento de interações sociais;



Figura 8 - desenho ilustrando “catação”.

(4) “aglomerar-se” (Figura 9): dois indivíduos descansarem juntos com grande superfície do corpo em contato (KLEIMAN et al., 1988);



Figura 9- desenho ilustrando “aglomeração”.

(5) “apresentação sexual” (Figura10): fêmea ou macho posicionam-se de maneira quadrupedal, direcionam-se e levantam suavemente a base da cauda para o parceiro (a);



Figura 10 - desenho ilustrando “apresentação sexual”, lado esquerdo macho e lado direito fêmea.

(6) “tentativa de monta”: macho tenta segurar a fêmea posicionada de maneira quadrupedal mas a mesma não aceita.

(7) “monta do macho” (Figura 11): fêmea posicionada de maneira quadrupedal enquanto o macho a segura até a finalização do momento da cópula (KLEIMAN et al., 1988).



Figura 11 - desenho ilustrando o momento da cópula entre o macho e a fêmea.

Selecionamos entre os registros comportamentais, para uma análise em separado, a variável “proximidade entre os animais” (Figura 12), considerando o casal como “próximo”

quando estavam a uma distância de 30 cm ou menos e distantes quando esta distância era maior que 30 cm. A variável “proximidade” foi considerada apenas uma localização do animal dentro da gaiola em relação ao seu parceiro, não sendo considerada um comportamento demonstrado.

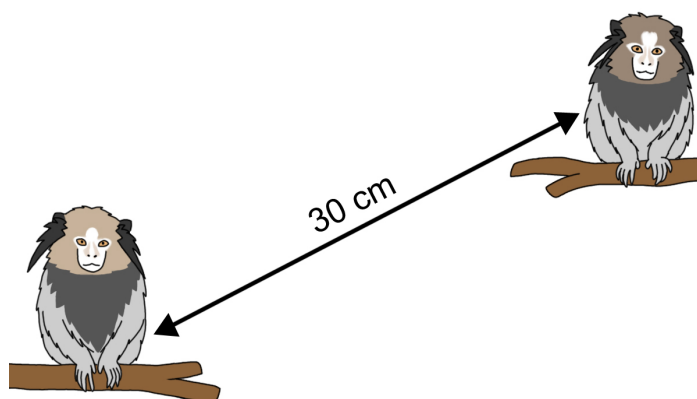


Figura 12 - desenho ilustrando a proximidade entre os indivíduos.

4.4 Colheita das amostras de fezes

As amostras de fezes de todos os casais foram colhidas seis vezes por semana no período da manhã, entre 8:00 e 9:00 horas ao longo de seis meses, totalizando 1560 amostras.

As primeiras amostras da manhã são consideradas ideais na maioria dos trabalhos, pois representam o acúmulo excretado durante muitas horas do dia e longos períodos de inatividade noturna, representando desta forma a soma das variações circadianas de alguns hormônios (COLLINS et al., 1979).

Para identificação das amostras fecais de machos e fêmeas, os animais receberam todos os dias no período da tarde um suco de frutas com corante alimentício (Figura 13), utilizamos as cores verde ou azul para machos e cor rosa para as fêmeas. As amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em criotubos identificados com o nome do animal e a data. Todas as amostras foram mantidas em freezer -20° até o processamento no Laboratório de

Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (LDH-VRA-FMVZ/USP).



Figura 13 - foto ilustrando saguis-de-tufo-preto (*C. Penicillata*) recebendo suco com corante alimentício via oral.

4.5 Extração fecal e processamento das amostras

As extrações dos metabólitos foram realizadas segundo técnica preconizada por ZIEGLER et al. (1996) adaptada pelo LDH-FMVZ/USP, como segue:

- 0,2g de fezes secas (liofilizadas) (figura 14) foram pesadas e transferidas para tubo de ensaio devidamente identificado;
- Foram acrescentados 5ml de etanol (Synth) com concentração 80% (80% de etanol e 20% de água tipo I);
- Os tubos foram colocados em aparelho multivortex (*VWRScientificProducts*, VX-2500) (figura 16) por 10 minutos, para homogeneização;
- Em seguida, foram centrifugados por 15 minutos a 1500 rpm (Universal 320 – HettichZentrifugen);

- 1,5ml do sobrenadante (extrato fecal) foi pipetado e transferido para tubo plástico cônico com volume de 2,0ml (*eppendorf*), identificado com o número da amostra (figura 17);

- O extrato fecal foi armazenado em freezer -20°.

As amostras foram diluídas em tampão gelatina pH 7,0 [NaPO₄ (13,8g), NaCL (9,0g), azida sódica (1,0g), gelatina (1,0g) e água destilada (1000ml)] antes das análises por enzimaímunoensaio (EIE).



Figura 14 - foto ilustrando liofilizador (Liobras) utilizado no estudo



Figura 15 - foto ilustrando aparelho multivortex utilizado no estudo

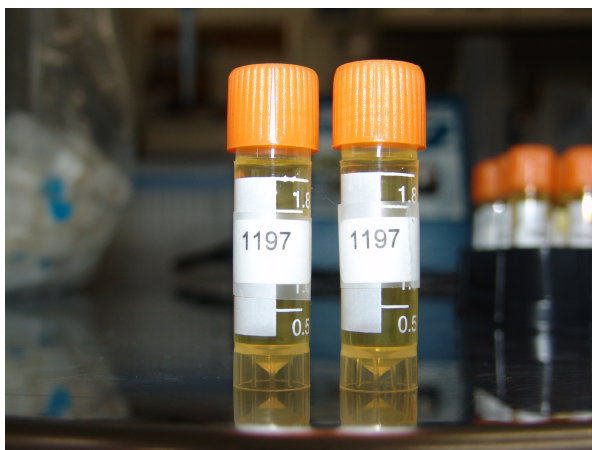


Figura 16 - foto ilustrando extrato fecal (duplicata) em *eppendorf* identificado com o número da amostra

4.6 Dosagens e análises hormonais por Enzimaimunoensaio (EIE)

Os metabólitos fecais dos esteroides foram quantificados pela metodologia de enzimaimunoensaio (EIE) baseando-se nos procedimentos descritos para outros mamíferos.

Utilizamos os anticorpos monoclonais anti-progesterona CL425 (C. Munro, UC Davis, CA, EUA), HRP progesterona conjugada 3-0-carboxymetiloxime, estradiol, testosterona R 156/7, e microplacas de polietireno de 96 poços de alta absorção (MaxiSorp, Nunc, Rochester, NY, EUA) as quais foram seladas com um adesivo de acetato.

As microplacas foram marcadas (50 μ l/poço) com anticorpo diluído em solução de marcação (Na_2CO_3 : 1,59g/L; NaHCO_3 : 2,93g/L; pH 9,6) e incubadas a 4°C por 16hs. Após a incubação, as placas foram submetidas a um ciclo de três lavagens com solução de lavagem (NaCl : 87,66g/L; Tween-20: 0,5%).

150 μ l de cada extrato fecal foi colocado em tubos de vidro de 15 mL e deixados em temperatura ambiente para evaporação do álcool. Após a secagem, o material foi ressuspenso com uma solução de hormônio conjugado com enzima (HRP: horseradishperoxidase) diluído em solução tampão ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 5,421 g/L; Na_2HPO_4 : 8,662 g/L; NaCl : 8,7g/L; Albumina sérica bovina: 1,0 g/L; pH 7,0).

Foi adicionado 50µl de solução tampão em cada poço e posteriormente 50µl de cada padrão da curva (0,1 – 10.000pg/mL), dos controles ou da solução de amostra com HRP. As microplacas foram seladas e incubadas por 2 horas em temperatura ambiente.

Após a incubação, as microplacas foram lavadas, secas e posteriormente adicionado 100µl/poço de substrato cromógeno (TMB substrato, Neogen do Brasil). A reação cromógena foi parada com 100µl de solução *STOP* (H₂SO₄ 96%: 10%).

A densidade óptica foi medida em uma leitora automática (DTX 800 Multimode Detector, BeckmanCoulter, Brea, CA, EUA) utilizando o filtro de 450nm.

Todas as amostras, controles e padrões foram analisados em duplicata.

As diluições utilizadas foram de 1:8.000, 1:10.000 e 1:10.000 para os anticorpos CL425, R0008 e R156/7, respectivamente. Já para os HRPs, foram de 1:160.000, 1:160.000 e 1:40.000 para os hormônios progesterona, estradiol e testosterona, respectivamente. Os coeficientes de variação inter e intra-ensaios de todas as dosagens hormonais foram menores que 15,02%. As sensibilidades médias dos ensaios de progesterona, estradiol e testosterona a 90% de ligação foram 1,50pg/ml, 1,52pg/ml e 1,02pg/ml respectivamente.

4.7 Critérios para determinação das fases do ciclo ovariano

Para a caracterização das fases do ciclo ovariano foram utilizados os resultados das mensurações de metabólitos fecais de progesterona. Utilizando-se do critério de cálculo de média acrescida de dois (ou um e meio) desvios-padrão para determinar valores de pico, estes valores foram sendo retirados, e repetidamente recalculadas as médias e desvios-padrão dos valores restantes, até que se chegasse a determinação dos valores basais. Para efeito da determinação do fim de uma fase folicular (valores basais) e início de uma fase lútea, a ocorrência de dois ou mais valores acima dos níveis basais e que se mantivessem de forma sustentada até que voltassem a atingir dois ou mais valores basais, caracterizando o fim da fase lútea e início de nova fase folicular. O ciclo conceptivo foi definido baseado na elevação da concentração sustentada de progesterona por períodos superiores aos de uma fase lútea não gestacional, assim como para outras espécies da família Callitrichidae (EASTMAN et al., 1984; HEISTERMANN; HODGES, 1995; ZIEGLER et al., 1990).

Para poder analisar as características comportamentais e hormonais no período Peri-ovulatório, este foi definido como sendo o período de 24 horas antes e 24 horas após o início da fase lútea (CONVERSE et al., 1995).

4.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados através do programa SAS System for Windows (SAS, 2000).

Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (distribuição normal) e homogeneidade das variâncias. Caso não obedecessem a estas premissas, foram transformados (logaritmo na base 10 - $\log_{10}X$; Raiz quadrada - \sqrt{X} ; Quadrado - X^2) e se a normalidade não fosse obtida, empregava-se, então, o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica. Na comparação entre as fases Folicular e Lútea foram utilizados os testes t de Student e o teste de Mann-Whitney para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente. Quando se consideravam três fases do ciclo (i.e., Folicular, Lútea e Peri-ovulatória), foi utilizado o teste LeastSignificantDifferences (LSD) e a comparação dois a dois com o teste Mann-Whitney para variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente.

Para descrição dos resultados, foram empregadas as médias e seus respectivos erros padrões (média \pm erro padrão da média) dos dados originais e os níveis de significância (p) dos dados originais, quando obedecessem às premissas; dos dados transformados, quando necessária a transformação; e dos dados analisados através da análise não paramétrica, quando não obedecessem às premissas e não houvessem transformações possíveis.

O nível de significância utilizado para rejeitar H_0 (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, considerou-se que ocorreram diferenças estatísticas entre as diferentes fases do ciclo ovariano (Fase Folicular vs. Fase Lútea; Fase Folicular vs. Fase Lútea vs. Fase Peri-ovulatória).

As correlações de Pearson e Spearman (PROC CORR) foram utilizadas para calcular a relação entre as variáveis paramétricas e não paramétricas, respectivamente, sendo os

resultados expressos através do coeficiente de correlação (r) e respectivo nível de significância (p).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados e discutidos a seguir.

5.1 Ciclo ovariano

A análise das variações das concentrações de metabólitos fecais de progesterona indicou a ocorrência de 23 ciclos ovarianos completos (Gráfico 1) durante o total de 1.440 horas de observações comportamentais realizadas em 6 casais no período de 6 meses. A duração média do ciclo ovariano das 4 fêmeas (Sussi Gráfico 2, Maria Gráfico 3, Thainá Gráfico 4, e Anone) que tiveram ciclicidade regular foi de $24,3 \pm 4,1$ dias, sendo que a fase folicular durou $13,04 \pm 4,8$ dias e a fase lutea $11,2 \pm 4,2$ dias. Na literatura os achados para outras espécies da família Callitrichidae são: (*Cebuella pygmae*: $36,5 \pm 0,71$ dias (CONVERSE et al., 1995); *Callithrix jacchus*: 27,7 dias (KENDRICK; DIXSON, 1982); *Saguinus oedipus*: $22,7 \pm 1,7$ dias (BRAND, 1991); *Callimico goeldi*: $23,9 \pm 0,4$ dias (PRYCE et al., 1993), 24 dias (CARROL et al., 1990); *Leontopithecus schryomelas*: $21,5 \pm 2,5$ dias (DE VLEESCHOUWER et al., 2000); *Saguinus fuscicollis*: $25,7 \pm 1,0$ dias (HEISTERMANN; HODGES, 1995). Com a exceção do *Cebuella pygmae*, os demais valores encontram-se muito próximos dos encontrados para o *C. penicillata*.

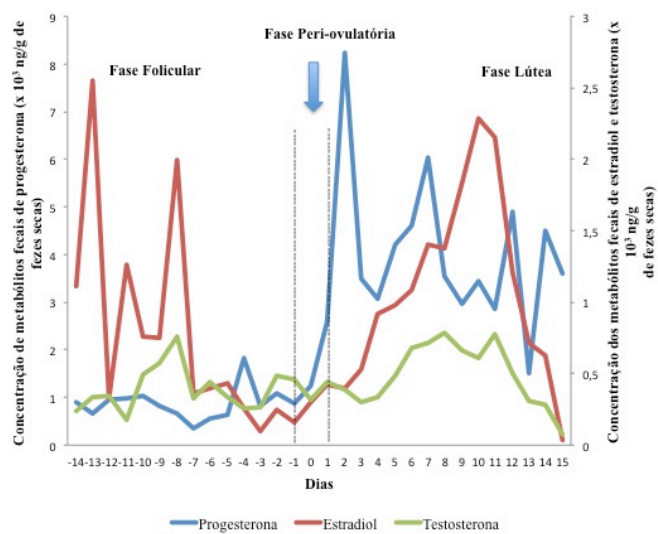


Gráfico 1 – Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante o ciclo ovariano de fêmeas de saguis-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), São Paulo 2012

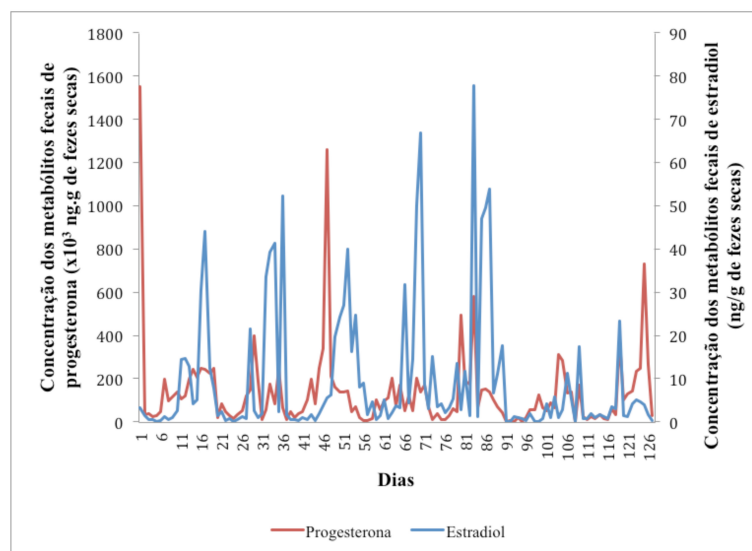


Gráfico 2 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) –Sussi, CRAS - São Paulo, 2012

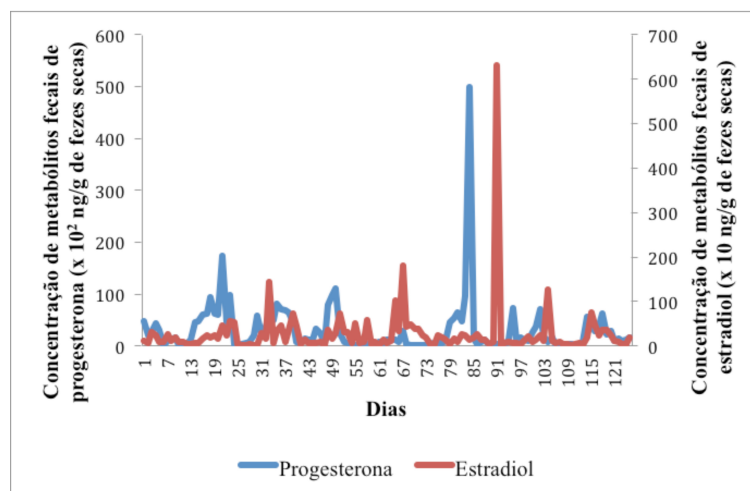


Gráfico 3 – perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) –Maria, CRAS - São Paulo, 2012

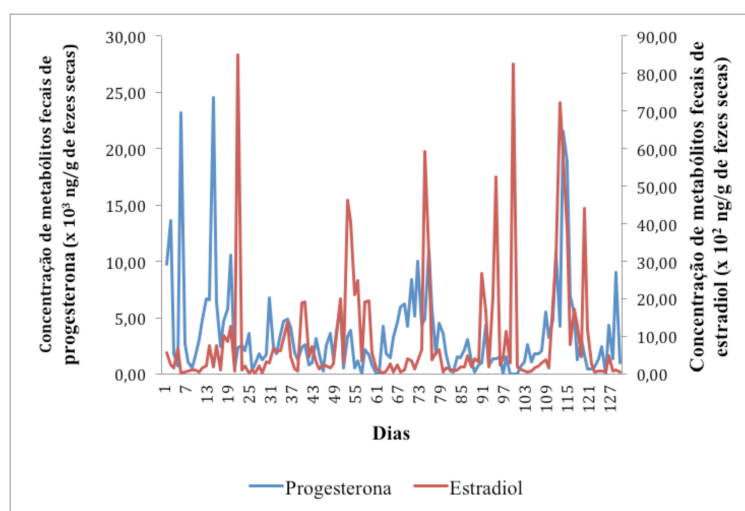


Gráfico 4 – perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando ciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) –Thaina, CRAS - São Paulo, 2012

O Gráfico 5 ilustra as médias das concentrações dos metabólitos fecais de progesterona (MFP), metabólitos fecais de estradiol (MFE) e metabólitos fecais de testosterona (MFT) durante o ciclo ovariano das fêmeas (Thainá, Sussi, Maria e Anone). Nas

diferentes fases do ciclo ovariano (fase folicular, lútea e peri-ovulatória) foram observadas variações nas concentrações dos metabólitos fecais dos hormônios estudados. Os MFP apresentaram concentrações que variaram de $1873 \pm 327,57$, $4808,15 \pm 1136,90$ e $17177,63 \pm 1717,18$ para a fase folicular, peri-ovulatória e lútea respectivamente. Na fase peri-ovulatória (dias -1, 0 e 1) o início de um aumento significativo e sustentado do MFP sinalizou uma provável ovulação da fêmea, conforme (CONVERSE et al., 1995; BRAND, 1981; CARROL et al., 1990; HEISTERMANN; HODGES, 1995; KENDRICK; DIXSON, 1983). Nesta fase existem correlações positivas, de intensidade média, entre concentrações de MFP e MFT ($r = 0,5$ $p = 0,02$) e entre as concentrações de MFE com MFT ($r = 0,64$ e $p = 0,001$). Ao término da fase peri-ovulatória, já dentro da fase lútea foram notadas elevações das concentrações de MFP de maneira sustentada até que ocorreu uma redução aos níveis basais, caracterizando o fim desta fase e o início da fase folicular do ciclo ovulatório subsequente. As concentrações de MFE e MFT encontraram-se aumentadas na fase lútea e apresentaram correlação positiva de média a alta ($r = 0,70$; $p = 0,0004$). Na fase folicular as concentrações de MFP oscilaram dentro de valores basais, apresentando correlação média a baixa e positiva com MFT ($r = 0,44$ $p = 0,05$) e com MFE ($r = 0,55$ $p = 0,01$).

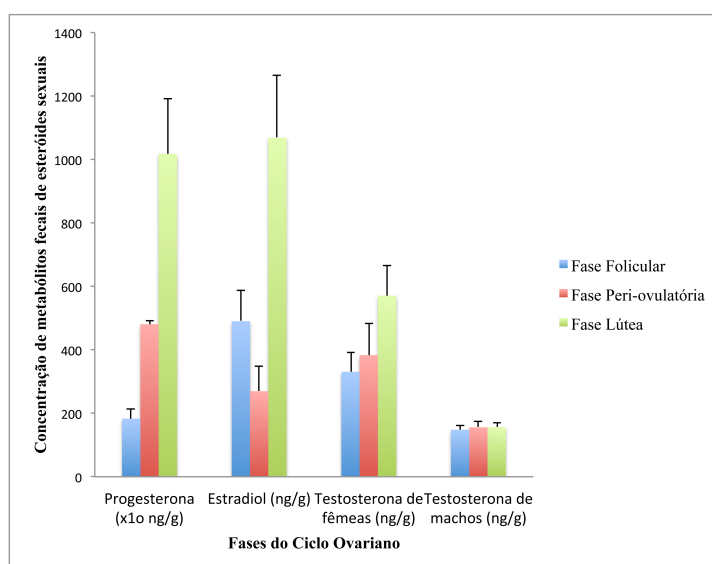


Gráfico 5 – Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante as fases folicular, peri-ovulatória e lútea de saguis-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*)

As concentrações médias de MFT dos machos não apresentaram diferenças significativas nos períodos correspondentes às diferentes fases do ciclo ovariano observado nas fêmeas (KENDRICK; DIXSON, 1982) (Gráfico 6).

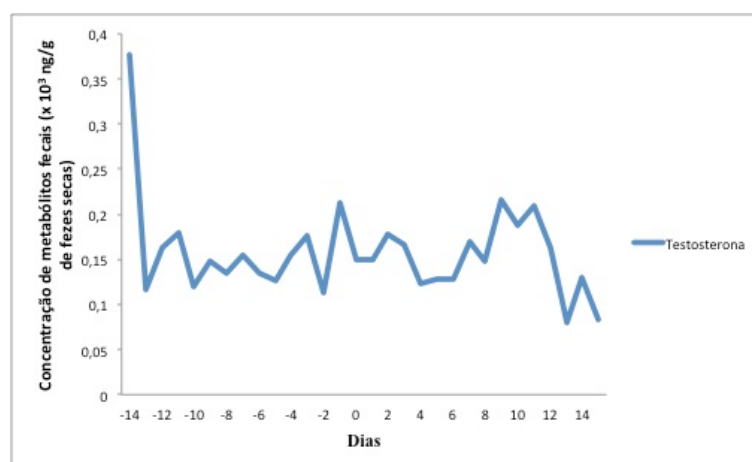


Gráfico 6 – Média das concentrações de metabólitos fecais de testosterona de macho durante o ciclo ovariano de fêmeas de saguis-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), São Paulo 2012

5.2 Frequência dos comportamentos sócio-sexuais durante as fases folicular, lútea e peri-ovulatória

O Gráfico 7 ilustra que a variável comportamental “proximidade” (Figura 17) entre o macho e a fêmea que formam um casal, não apresentou diferença significativa entre as fases folicular e lútea. No entanto, durante fase peri-ovulatória, a proximidade mostrou-se mais freqüente de maneira altamente significativa ($87,39\% \pm 1,10$), assim como nos achados de De Vleeschouwer et al., 2000.

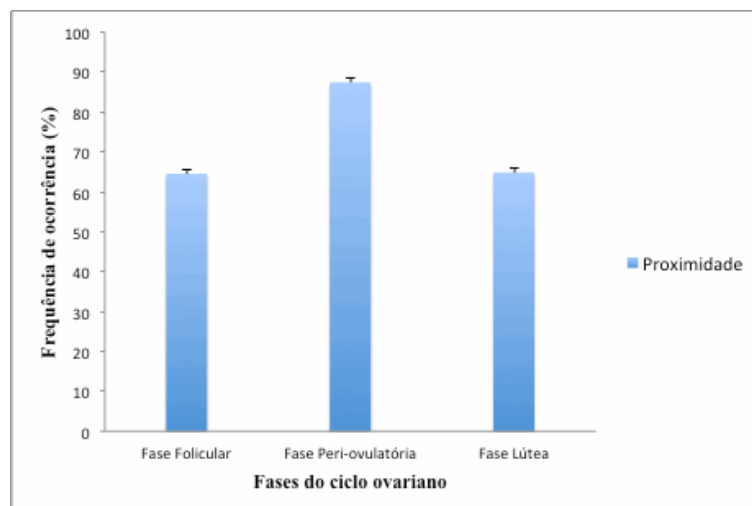


Gráfico 7 – Frequência de ocorrência da proximidade entre o macho e a fêmea de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) durante as fases do ciclo ovariano, São Paulo, 2012



Figura 17 – foto ilustrando a “proximidade” entre os animais (distância entre eles menor que 30 cm)

Todos as ocorrências de comportamentos sócio-sexuais (marcação por cheiro, cheirar região ano-genital, catação (Figura 18), aglomeração (Figura 19), apresentação sexual da fêmea (Figura 20), tentativa de cópula, e cópula) casais foram significativamente maiores na fase peri-ovulatória do que nas fases folicular e lútea, conforme descrito por Kendrick; Dixson, 1983.

Assim como os trabalhos de De Vleeschouwer et al., 2000 e Kendrick; Dixson, 1983 nossos resultados também não demonstraram diferença significativa na ocorrência de comportamentos sócio-sexuais entre as fases folicular e lútea (Gráfico 8). O aumento da proceptividade durante a fase peri-ovulatória do ciclo ovariano pode ser influenciado pelos mecanismos hormonais (KENDRICK; DIXSON, 1982).

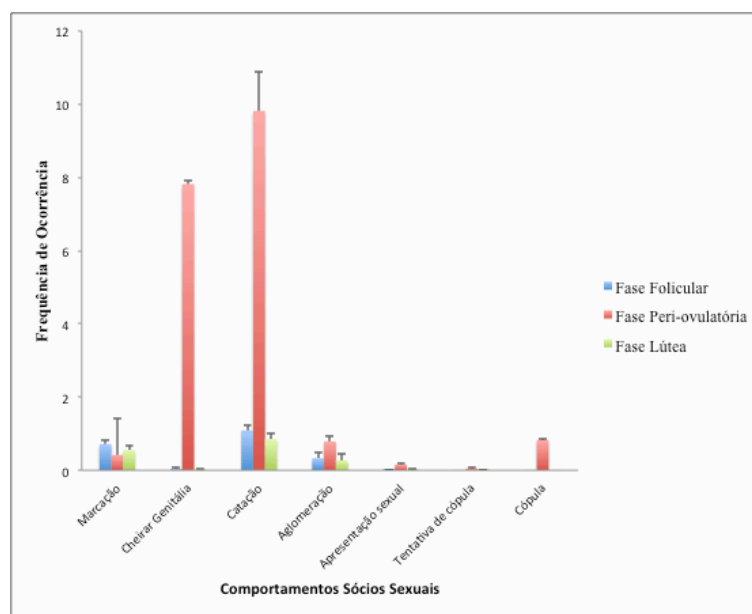


Gráfico 8 - Frequência de ocorrência dos comportamentos sócio-sexuais entre o macho e a fêmea de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) durante as fases do ciclo ovariano, São Paulo, 2012



Figura 18 – foto ilustrando o comportamento “catação” entre o casal de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), São Paulo, 2012



Figura 19 – Foto ilustrando o comportamento “ aglomeração” entre o casal de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), São Paulo, 2012



Figura 20 – Foto ilustrando “apresentação sexual” do sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), São Paulo, 2012

5.3 Gestação

A fêmea Anone (Figura 21) estava no início da gestação quando as primeiras amostras de fezes foram colhidas. O cálculo do período gestacional foi feito pela contagem retroativa

do tempo, a partir do momento do parto e acompanhando o aumento sustentável de progesterona e estradiol, levando-se em conta que o período gestacional descrito para *Callithrix kuhli* é de aproximadamente 143 dias (FRENCH et al., 1996). Até o nascimento dos 3 filhotes foram 130 dias corridos, estima-se que a fêmea Anone encontrava-se no primeiro terço gestacional, quando do início das colheitas de fezes.



Figura 21 – Foto ilustrando fêmea prenhe de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) - Anone, São Paulo, 2012

French et al. (1996) consideraram que a concepção ocorreu 20 semanas antes do parto. Em uma gestação com duração de aproximadamente 143 dias, o perfil das concentrações de metabólitos de estradiol foi caracteristicamente baixo até a semana -20 antes do parto, ocorrendo a partir de então um aumento durante as 6 primeiras semanas de gestação. O pico da concentração de metabólitos de estradiol ocorreu entre as semanas -13 e -6. A redução dramática destas concentrações ocorreu na semana -6 e continuou diminuindo até o momento do parto. O perfil das concentrações dos mesmos metabólitos encontrados na fêmea Anone (Gráfico 9) mostrou padrão semelhante. Após o parto ocorreram dois ciclos ovarianos (25,5

dias) completos com tempo de duração das fases folicular ($14,5 \pm 3,5$ dias) e lutea ($11 \pm 2,82$ dias) semelhantes aos encontrado nas outras fêmeas com ciclicidade regular (gráfico 9).



Figura 22– Foto ilustrando Anone, fêmea sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) carregando seu filhote, São Paulo, 2012

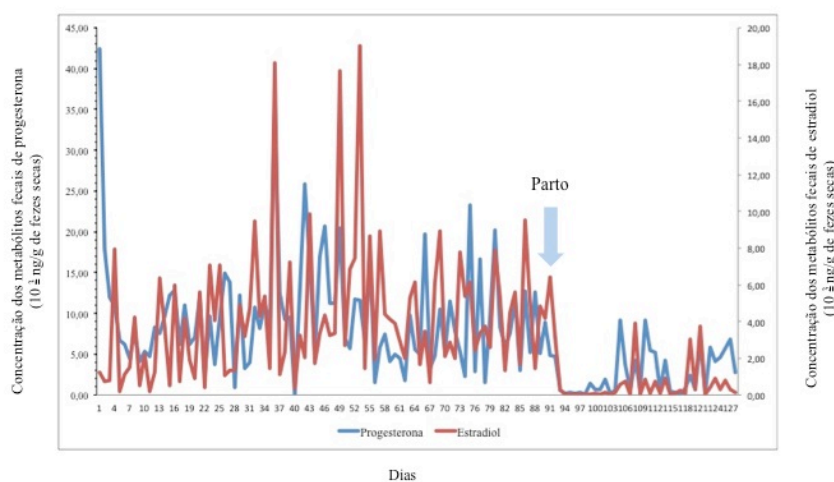


Gráfico 9 - Média das concentrações de metabólitos fecais de progesterona, estradiol e testosterona durante a gestação de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*), Sussi, seguido de dois ciclos ovarianos completos, São Paulo 2012

5.4 Aciclicidade

As fêmeas Silvestrinha e Selvaginha provenientes de vida livre apresentaram comportamentos de fuga durante quase todo o projeto. Sabemos que o impacto fisiológico e comportamental de um agente estressor é altamente dependente da percepção e do tipo de resposta comportamental do indivíduo (NATELSON et al., 1987), o que justifica os comportamentos demonstrados em decorrência do grande estresse que as gaiolas proporcionaram para estes animais. A proximidade destes dois casais (Lion e Tigon respectivamente) foi a mais alta de todos os outros (96,54% e 97,32%), pois passavam grande parte do dia escondidas em pontos de fuga no interior de suas gaiolas. Este fato dificultou muito a observação dos comportamentos sócio-sexuais e até mesmo a obtenção de amostras fecais.

O perfil hormonal das fêmeas mostra sinais de aciclicidade ovariana, identificada pelos baixos níveis de metabólitos fecais de progesterona por longos períodos (Gráficos 10 e 11). Talvez este fato possa ser explicado pela ação que o estresse crônico ou intermitente pode exercer, em termos de altos custos biológicos, como a diminuição da função reprodutiva (ENGEL, 1967; BARNETT et al, 1984. A reprodução animal pode ser suprimida ou estimulada pelo estresse, dependendo da intensidade, duração e da habilidade do animal de interagir com o agente estressor (SHEPHERDSON, 1994).

O estresse prolongado ou crônico pode ser o agente indutor de alterações no eixo hipotálamo-pituitário-gonadal, acarretando a redução dos níveis de hormônios esteroideanos, levando a uma redução da libido, atividade sexual ou supressão fisiológica reprodutiva com conseqüente comprometimento reprodutivo (CARLSTEAD; SHEPHERDSON, 1994).

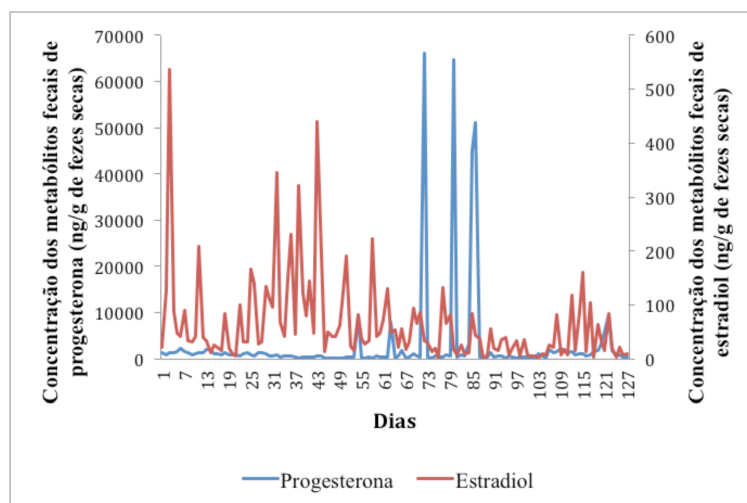


Gráfico 10 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando aciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) –Selvaginha, CRAS - São Paulo, 2012

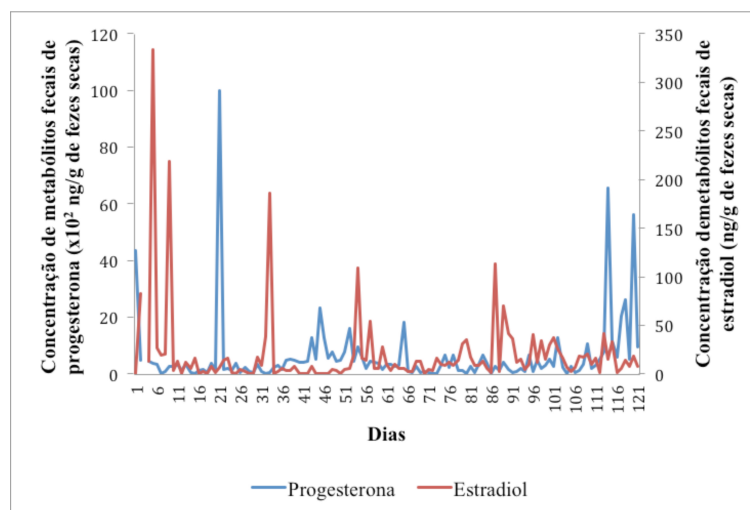


Gráfico 11 – Perfil dos níveis de metabólitos fecais de progesterona (ng/g) e de estradiol (ng/g) mostrando aciclicidade ovariana de sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) –Silvestrinha, CRAS - São Paulo, 2012

Este estudo possibilitou a validação biológica dos ensaios de progesterona, e estradiol, uma vez que uma vez que acompanhamos e descrevemos a ciclicidade ovariana para quatro

fêmeas, aciclia ovariana para duas fêmeas e uma gestação. Sendo uma ferramenta importante para estudos endócrino-reprodutivos não invasivos para primatas da família Callitrichidae.

6 CONCLUSÕES

- Foi possível descrever e caracterizar endócrinamente os ciclos ovarianos de *C. penicillata* com o uso de extração e dosagem de metabólitos fecais de esteróides sexuais.
- A análise conjunta das concentrações de metabólitos de esteróides sexuais e dos comportamentos sócio-sexuais possibilitou a caracterização endócrina-sexual e reprodutiva do *C. penicillata*.
- O *C. Penicillata* apresenta características endócrinas e comportamentais sócio-sexuais semelhantes às outras espécies de Callitrichideos.
- A metodologia utilizada mostrou-se eficiente e aplicável para a verificação do "status" reprodutivo da espécie *C. penicillata*, uma vez que os três estados, prenhes, cíclica e acíclica foram caracterizados.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, D.H. Behavioral and physiological suppression of fertility in subordinated marmoset monkeys. **American Journal of Primatology**, v. 6, p. 169-186, 1984.
- ASA, C. S.; FISCHER, F.; CARRASCO, E.; PURICELLI, C. Correlation between urinary pregnanediol glucuronide and basal body temperature in female orangutans, *Pongopygmaeus*. **American Journal of Primatology**, v. 34, p. 275-281, 1994.
- BALDWIN, J. , BALDWIN, J. THE ecology and behavior of squirrel monkeys (**Saimirioerstedii**) in a Natural Forest in Western Panama. **Folia Primatologica**, v. 18, p. 161-184, 1972.
- BARNETT, J. L.; CRONIN, G. M.; WINFIELD, C. G.; DEWAR, A. M. The welfare of adult pigs: effects of 5 housing treatments on behavior, plasma corticosteroids, and injuries. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 12, p. 209-232, 1984.
- BATEMAN, A. J. Intra-sexual selection in *Drosophila*. **Heredity**, v. 2, p. 349-368, 1948.
- BEACH, F.A. Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mamal. **Hormones and Behaviour**. V. 7, p. 105-138, 1976.
- BELLEN, A. C.; MONFORT, S. L.; GOODROWE, K. L. Monitoring reproductive development, menstrual cyclicity, and pregnancy in the lowland gorilla (*Gorilla gorilla*) by enzyme immunoassay. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 26, p. 24-31, 1995.
- BERCOVITCH, F.B.; ZIEGLER, T.E. Reproductive strategies and Primate Conservative. **Zoo Biology Suppl.**, v.1, p. 163 – 169, 1989.
- BROCKMAN, D. K.; WHITTEN, P. L. Reproduction in free-ranging *Propithecus verreauxi*: estrus and the relationship between multiple partner matings and fertilization. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 100, p. 57-69, 1996.
- BROCKMAN, D. K.; WHITTEN, P. L.; RUSSEL, E.; RICHARD, A. F.; IZARD, M. K. Application of fecal steroid techniques to the reproductive endocrinology of female Verreaux's sifakas (*Propithecus verreauxi*). **American Journal of Primatology**, v. 36, p. 313-325, 1995.
- BRONDIZIO, E. S.; GURGEL, P. C. Atlas dos Remanescentes Florestais do Dominio Mata Atlantica. **Fundacao SOS Mata Atlantica, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais**, v. 560, P.736-741, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, São José dos Campos, S.P. 1990.
- BROWN, J. L.; WILDT, D. E.; GRAHAM, L. H.; BYERS, A. P.; COLLINS, L.; BARRETT, S.; HOWARD, J. Natural versus chorionic gonadotropin-induced ovarian responses in the

clouded leopard (*Neofelisnebulosa*) assessed by fecal steroid analysis. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 93-102, 1995.

CAMARA, I. G. Brief history of conservation in the Atlantic forest. In: C. Galindo-Leal & I.G. Câmara (eds.). *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*. pp. 31-42. **Center for Applied Biodiversity Science e Island Press**, Washington, D.C. 2003.

CARLSTEAD, K.; SHEPHERDSON, D. Effects of environmental enrichment on reproduction. **Zoo Biology**, v. 13, p. 447-458, 1994.

CERQUEIRA, R.; MARROIG, G.; FINDER, L. Marmosets and Lion-tamarins distribution (Callitrichidae, Primates) in Rio de Janeiro State, South-eastern Brazil, **Mammalia**, v. 62, p. 213-226 1998.

CHAMBERS, P. L.; HEARN, J. P. Peripheral plasma levels of progesterone, oestradiol-17~oestrone, testosterone, androstenedione and chorionic gonadotrophin during pregnancy in the marmoset monkey, *Callithrixjacchus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 56, p. 23-32, 1979.

CLUTTON-BROCK, T.H.; VINCENT, A.C.J. Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. **Nature**, v. 351, p. 59-60, 1991.

COIMBRA-FILHO, A.F.; MITTERMAYER, R.A. Exsudate-eating and tree-gouging in marmosets. **Nature**, p. 262-260, 1977.

CONVERSE, L. J.; CARLSON, A.; ZIEGLER, T. E.; SNOWDON, C. T. Communication of ovulatory state to mates by female pygmy marmosets, *Cebuella pygmaea*. **Animal Behavior**, v.49, p. 615-621, 1995.

CRUZ, M.A.O.M. **Dinâmica reprodutiva de uma população de sagüis-do-nordeste (*Callithrixjacchus*) na estação Ecológica do Tapacurá, PE**. 1998. 191 p. Tese (Doutorado – Programa de Pós-graduação em Psicologia Experimental), Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

CZEKALA, N. M.; GALLUSSER, S.; MEIER, J. E.; LASLEY, B. L. The development and application of an enzyme immunoassay for urinary estrone conjugates. **Zoo Biology**, v. 5, p. 1-6, 1986.

DE VLEESCHOUWER, K.; VAN ELSACKER, L.; LEUS, K. Multiple breeding females in captive groups of golden-headed lion tamarins (*Leontopithecuschrysomelas*): causes and consequences. *Folia Primatol.*, v. 72, p. 1-10, 2001.

DIGBY, L.J. Infant care, infanticide, and female reproductive strategies in polygynous groups of common marmosets (*Callithrixjacchus*). **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v. 37, p. 51-61, 1995.

DIXSON, A. F. Effects of adrenalectomy upon proceptivity, receptivity and sexual attractiveness in ovariectomized marmosets (*Callithrixpenicillata*). **PhysiolBehav.**, v. 39, n. 4, p. 495-499, 1987.

DIXSON, A. F. *Primate Sexuality* Oxford University Press, New York, 1998.

DIXSON, A. F.; LUNN, S. F. Post-partum changes in hormones and sexual behaviour in captive groups of marmosets (*Callithrix jacchus*). **PhysiolBehav.**, v. 41, n. 6, p. 577-583, 1987.

DUNBAR, R.I.M. The mating system of callitrichid primates: I Conditions for the coevolution of pair bonding and twinning. **Animal Behaviour**, v. 50, p. 1057-1070, 1995.

DUNBAR, R.I.M. The mating system of callitrichid primates: II. The impact of helpers. **Animal Behaviour**, v. 50, p. 1071-1089, 1995.

Eisenberg, J. F., Muckenhirn, N. A., and Rudran, R. The relation between ecology and social structure in primates. **Science** 176: 863–874. (1972).

EMLEN, S.T.; ORING, L.W. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. **Science**, v. 197, p. 215-223, 1977.

ENGEL, G. L. A psychological setting of somatic disease: the giving up-given up complex. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 60, p. 553-555, 1967.

EPPLE, R. Pregnancy in spite of multiple factors of infertility in both marital partners. **GeburtshilfeFrauenheilkd**, v. 35, n.2, p.138-40, 1975.

EVANS, S.; POOLE, T. B. Pair-bond formation and breeding success in the common marmoset *Callithrix jacchus jacchus*. **International Journal of Primatology**, v. 4, n.1, p. 83-97, 1983.

EVANS, S.; POOLE, T.B. Long-term changes and maintenance of the pair-bond in common marmosets *Callithrix jacchus jacchus*. **Folia Primatol.**, v. 42, p. 33-41, 1984.

FARIA, D.S. Aspectos gerais do comportamento de *Callithrix penicillata* em mata ciliar do cerrado. In: MELLO, M. T. **A Primatologia do Brasil**. Brasília: Sociedade Brasileira de Primatologia. 1984. p. 55-65.

FARIA, D.S. O estudo de campo do “mico-estrela” *Callithrix penicillata* do planalto central brasileiro. In: ADES, C. **Etologia de Animais e de homens**. São Paulo: EDICON-EDUSP. 1986. p. 109-121.

FARIA, D.S. **O grupo social em *Callithrix penicillata*, o mico-estrela do Planalto Central Brasileiro**: Estudo realizado na floresta de galeria do córrego Capetinga, Brasília. 1989. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

FINCH, C.E.; ROSE, M. R. **Hormones and the Physiological Architecture of Life History Evolution**. *The Quarterly Review of Biology*, v. 70, n. 1, p. 1-52, 1995.

FOOSE, T. J.; LANDE, N. R.; RABB, G.; READ, B. Propagation plans. **Zoo Biology**, v. 5, p. 139-146, 1986.

FRENCH, J. A.; ABBOTT, D. H.; SNOWDON, C. T. The effect of social environment on estrogen excretion, scent marking, and sociosexual behavior in tamarins (*Saguinus oedipus*). **American Journal of Primatology**, v.6, p. 155–167, 1984.

FRENCH, J. A.; STRIBLEY, J. A. Synchronization of ovarian cycles within and between social groups in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **American Journal of Primatology**, v. 12, p. 469-478, 1987.

FRENCH, J.A.; SNOWDON, C.T. Sexual dimorphism in response to unfamiliar intruders in the tamarin, *Saguinus oedipus*. **Animal Behaviour**, v. 29, p. 822-829, 1981.

GARBER, P. A. the ecology of exsudate feeding and the importance of plant exudate in the diet of the panamanian tamarin. **International Journal of Primatology**, v. 5, p. 1-15, 1984.

GILCHRIST, R. B.; RITTER, L. J.; ARMSTRONG, D. T. Mouse oocyte mitogenic activity is developmentally coordinated throughout folliculogenesis and meiotic maturation. **Dev. Biol.**, v. 240, p. 289-298, 2001.

GOLDIZEN, A. A comparative perspective on the evolution of tamarin and marmoset social systems. **International Journal of Primatology**, v. 11, p. 63-83, 1990.

GOLDIZEN, A. W. Tamarin and marmoset mating systems: unusual flexibility. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 36-40, 1988.

HAMPTON, J.K; HAMPTON, S.H.; LANDWEHR, B.T. Observations on a successful breeding colony of the marmoset, *Oedipomidas oedipus*. **Folia Primatol.**, v. 4, p. 265-287, 1966.

HEARN, J.P. The common marmoset (*Callithrix jacchus*). In: HEARN, J.P. (ed). **Reproduction in New World Primates**. MTP Press, Lancaster, p. 183-215, 1983.

HUCK, M.; LÖTTKER, P.; BÖHLE, U.R.; HEYMANN, E..W. Paternity and kinship patterns in polyandrous moustached tamarins (*Saguinus mystax*). **American Journal of Physical Anthropology**, v. 127, p. 449-464, 2005.

KAPLAN, J. R.; FONTENOT, M. B.; BERARD, J.; MANUCK, S. B.; MANN, J. J. Delayed dispersal and elevated monoaminergic activity Reg. in free ranging monkeys. **American Journal of Primatology**, v. 35, p. 229-234, 1995.

KAPPELER, P. M.; VAN SCHAIK, C. P. Evolution of Primate Social Systems. **International Journal of Primatology**, v. 23, n.4, p. 707-740, 2002.

KENDRICK, K. M.; DIXSON, A. F. The effect of the ovarian cycle on the sexual behaviour of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Physiology and Behavior**, v. 30, p. 735-742, 1983.

KETTERSON, E. D.; NOLAN JR., V. Hormones and life histories: an integrative approach. **American Naturalist**, v. 140, p. 33-62, 1992.

KINZEY, W. G. Saimiri. In **New World Primates: Ecology, Evolution, and Behavior**. ed. Warren G. Kinzey, Aldine de Gruyter, New York. 1997.

KINZEY, W. G. Synopsis of New World primates (16 genera). In: KINZEY, W. G. **New World primates: ecology, evolution and behavior**. New York: Aldine de Gruyler, 1997. p. 169-324.

KLEIMAN, D. Monogamy in mammals. **Q. Rev. Biol.**, v. 52, p. 39-69, 1977.

KLEIMAN, D.; MACK, D.S. Effects of age, sex, and reproductive status on scent marking frequencies in the golden lion tamarin *Leontopithecus rosalia*. **Folia Primatol.**, v. 33, p. 1-14, 1980.

LASLEY, B. L. Endocrinology and reproduction in exotic species. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, p. 209-228, ed. C. E. Cornelius, Academic Press, Orlando, 1985.

LEMMON, W. B.; ALLEN, M. L. Continual sexual receptivity in the female chimpanzee (*Pan troglodytes*). **Folia Primatol. (Basel)** v. 30, n.1, p. 80-88, 1978.

LINDBURG, D. G.; BECKSON, J. AND NIGHTENHELSER, L. The contributions of zoos to primate conservation. In: Else, J.G. and Lee, P.C.(eds). **Primate ecology and conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 295-300, 1986.

LUTZ, C. K.; TIEFENBACHER, S.; JORGENSEN, M. J.; MEYER, J. S.; NOVAK, M. A. Techniques for collecting saliva from awake, unrestrained, adult monkeys for cortisol assay. **American Journal of Primatology**, v. 52, p. 93-99, 2000.

MACHADO, A.B.M.; MARTINS, C.S; DRUMMOND, G.M. **Lista da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, 160p. 2005.

MICHAEL, R. P.; HERBERT, J.; WELLEGALLA, J. Ovarian hormones and the sexual behavior of the male rhesus monkey under laboratory conditions. **Journal Endocrinology**, v. 39, p. 81-98, 1967.

MOORE, M. C. Application of organization activation theory to alternative male reproductive strategies: a review. **Hormones and Behavior**, v. 25, p. 154-179, 1991.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, p. 853-858, 2000.

NADLER, R.D. Walter Heape and the issue of estrus in primates. **American Journal of Primatology**, v.33, p. 83-87, 1994.

NATELSON, B. H.; CREIGHTON, D.; MC CARTY, R.; TAPP, W. N.; PITMAN, D.; OTTENWEILER, J. E. Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. **Physiology and Behavior**, v. 39, p. 117-125, 1987.

NEYMAN, P. F.; Aspects of the ecology and social organization of free-ranging cotton-top tamarins *Saguinus oedipus* and the conservation status of the species. In: KLEIMAN, D. G. **The Biology and Conservation of Callitrichidae**. Washington, D.C.: Smithsonian institute Press. 1977. p. 39-71.

NISHIDA, T.; HIRAIWA-HASEGAWA, M. Chimpanzees and Bonobos : cooperative relationships among males. In : **Primate Societies**, eds. Barbara B. Smuts et al., The University of Chicago Press, Chicago, pp. 165-177, 1987.

NISHIMURA, A.; FONSECA, G. A. B.; MITTERMEIER, R. A.; YOUNG, A. L.; STRIER, K. B.; VALLE, C. M. C. The miquiqui, genus *Brachyteles*. In: **Ecology and Behavior of Neotropical Primates**, v.2, p. 577-610, 1988. R. A. Mittermeier, A. B. Rylands, A. F. Coimbra-Filho and G. A. B da Fonseca (eds.), World Wildlife Fund, Washington, DC. 1988.

O'MALLEY, B. W.; SCHRADER, W. T.; TSAI, M. J. Molecular actions of steroid hormones. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 196, p. 1-10, 1986.

PHILLIPS-CONROY, J. E.; JOLLY, C. J.; NYSTROM, P.; HEMMALIN, H. A. Migration of male hamadryas baboons into anubis groups in the Awash National Park, Ethiopia. **International Journal of Primatology**, v. 13, p. 455-476, 1992.

PIZZUTO, C. S. **Estudo sobre a influência de técnicas de enriquecimento ambiental nos parâmetros endócrinos-comportamentais de antropóides não-humanos mantidos em cativeiro**. 2006.172p. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2006.

PRICE, E.C. Sex and helping: reproductive strategies of breeding male and female cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*. **Animal Behaviour**, v.43, p. 717-728, 1992.

PRICE, T.; SCHLUTER, D.; HECKMAN, N. E. Sexual selection when the female directly benefits. **Biol. J. Linn. Soc.**, v.48, p. 187-211, 1993.

RODA, S.A.; RODA, S. Infanticide in a natural group of *Callithrix jacchus* (Callitrichidae-primates). **International Journal of Primatology**, v. 8, p. 497, 1987.

RODMAN, P. S.; MITANI, J. C. . Orangutans: sexual dimorphism in a solitary species. In **Primate Societies**. edited by B. Smuts, D. Cheney, R. Seyfarth, R. Wrangham and T. Struhsaker. pp. 145-154. Chicago: University of Chicago Press. 1987

ROWE, N. **The pictorial Guide to the Living Primates**. Charlestown, Rhode Island: Pogonias press. p. 66, 1996.

RUIZ-MIRANDA, C. R.; AFFONSO, A. G.; DE MORAES, M. M.; VERONA, C. E; MARTINS, A.; BECK, B. B. Behavioral and ecological interactions between reintroduced golden Lion tamarins (*Leontopithecus rosalia* Linnaeus, 1766) and introduced marmosets (*Callithrix* spp, Linnaeus, 1758) in Brazil's atlantic coast forest fragments, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 99-109, 2006.

RYLANDS, A. B. et al. An assessment of the diversity of new world primates. **Neotropical Primates**, Washington, v. 8, n. 2, p. 61-93, 2000.

RYLANDS, A. B. Habitat and the evolution of social and reproductive behavior in callitrichidae. **American Journal of Primatology**, v. 38, p. 5-18, 1986.

RYLANDS, A. B.; COIMBRA-FILHO, A. F.; MITTERMEIER, R. A. Systematics, geographic distribution, and some notes on the conservation status of the Callitrichidae. In: A.

B. Rylands (ed.), **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology**. Oxford University Press, Oxford, pp. 11-77. 1993.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. The Diversity of the NewWorld Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. In: GARBER, P. A.; ESTRADA, A.; CÉSAR, J.; MARQUES, B.; HEYMANN, E. W.; STRIER, K. B. **South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation**. New York: Springer, 2009, p. 23-54.

RYLANDS, A. B.; MITTERMEIER, R. A. The Diversity of the NewWorld Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. In: GARBER, P. A.; ESTRADA, A.; CÉSAR, J.; MARQUES, B.; HEYMANN, E. W.; STRIER, K. B. **South American Primates: Comparative Perspectives in the Study of Behavior, Ecology, and Conservation**. New York: Springer, p. 23-54, 2009.

SAAYMAN, G. S. The menstrual cycle and sexual behavior in a troop of free-ranging chacma baboons (*Papio ursinus*). *Folia Primatologia*, v. 12, p. 81–110, 1970.

SAPOLSKY, R. M. Endocrinology alfresco: psychoneuroendocrine studies of wild baboons. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 48, p. 437-465, 1993.

SAVAGE, A.; ZIEGLER, T. E.; SNOWDON, C. T. Sociosexual development, pair bond formation, and mechanisms of fertility suppression in female cotton top tamarins (*Saguinus oedipus oedipus*). **American Journal of Primatology**, v.14, p. 345–359, 1988.

SCHAFFNER, C.M.; FRENCH, J.A. Behavioral and endocrine responses in male marmosets to the establishment of multimale breeding groups: Evidence for nonmonopolizing facultative polyandry. **International Journal of Primatology**, v. 25, p. 709-732, 2004.

SCHWARZENBERGER, F.; MÖSTL, E.; PALME, R.; BAMBERG, E. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 515-526, 1996.

SHEPHERDSON, D. J. The role of environmental enrichment in captive breeding and reintroduction of endangered species. In: MACE, G; OLNEY, P.; FEISTNER, A. **Creative conservation: interactive management of wild and captive animals**. London: Chapman and Hall, 1994. p. 167-177.

SHIDELER, S. E.; CZEKALA, N. M.; KASMAN, L. H.; LINDBURG, D. G.; LASLEY, B. L. Monitoring ovulation and implantation in the lion-tailed macaque (*Macaca silenus*) through urinary estrone conjugate evaluations. **Biology of Reproduction**, v. 29, n. 4, p. 905-911, 1983.

SLOB, A. K.; BAUM, M. J.; SCHENCK, P. E. Effects of the menstrual cycle, social grouping, and exogenous progesterone on heterosexual interaction in laboratory housed stump-tail macaques (*M. arctoides*). **Physiol Behav.**, v. 21, n. 6, p. 915-921, 1978.

SPAROVEK, G.; BERNDES, G.; BARRETO, A. G. O. P.; KLUG, I. L. F. The revision of the Brazilian Forest Act: increased deforestation or a historic step towards balancing agricultural development and nature conservation? **Environmental Science & Policy**, v. 16, p. 65-72, 2012.

- STAVISKY, R. C.; RUSSELL, E.; STALLINGS, J.; SMITH, E. O.; WORTHMAN, C. M.; WHITTEN, P. L. Fecal steroid analysis of ovarian cycles in free ranging baboons. **American Journal of Primatology**, v. 36, p. 285-297, 1995.
- STEVENSON, M. F.; RYLANDS, A. B. The marmosets, genus *Callithrix*. In: MITTERMIER, A. B.; RYLANDS, A. F.; COIMBRA-FILHO; FONSECA, G. A. B. **Ecology and Behavior of Neotropical Primates**, v.2. Washington: World Wildlife Fund. 1998. p. 131-222.
- STEWART, K. J.; HARCOURT, A. H. Gorillas: variation in female relationships. In: **Primate Societies**, SMUTS, B. B.; CHENEY, D. L.; SEYFARTH, R. M.; WRANGHAM, R. W.; STRUHSACKER, T. T. (eds.), Univ. of Chicago Press, Chicago, pp. 155–164. 1987
- STRIBLEY, J.A.; FRENCH, J.A.; INGLENT, B.J. Mating patterns in the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*): continuous receptivity and concealed estrus. **Folia Primatol.**, v. 49, p. 137-150, 1987.
- STRIBLEY, J.A.; FRENCH, J.A.; INGLETT, B.J. Mating patterns in the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*): continuous receptivity and concealed estrus. **Folia Primatologica**, v. 49, n. 3-4, p. 137-50, 1987.
- STRIER, K. B. Traits, trends, and taxonomy. In: STRIER, K. B. **Primate behavioral ecology**. University of Wisconsin-Madison: Allyn and Bacon, 2003, p. 36-66.
- STRIER, K. B.; FONSECA, A., B. .Population viabilities and conservation implications for Muriquis (*Brachyteles arachnoides*) in Brazil's Atlantic Forest. **Biotropica**, v.32, n.4, p. 903-913, 2000.
- STRIER, K. B.; ZIEGLER, T. E. Insights into ovarian function in wild muriqui monkeys (*Brachyteles arachnoides*). **American Journal of Primatology**, v. 32, p. 31-40, 1994.
- SUSSMAN, R. W., GARBER, P. A. A new interpretation of the social organization and mating system of the Callitrichidae. **International Journal of Primatology**, v. 8, p. 73-92, 1987.
- SUSSMAN, R. W.; GARBER, P. A. A new interpretation of the social organization and mating system of the Callitrichidae. **International Journal of Primatology**, v. 8, p. 73-92, 1987.
- SUTHERLAND, W. J. Chance can produce a sex difference in variance in mating success and explain Bateman's data. **Animal Behavior**, v. 33, p. 1349-1352, 1985.
- TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M.; HIROTA, M. M.; BED, L. C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, p. 133-138, 2005.
- TERBORGH, J.; GOLDIZEN, A.W. On the mating system of the cooperatively breeding saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*). **Behav. Ecol. Sociobiol.**, v. 16, p. 293-299, 1987.

TERBORGH, L.; GOLDIZEN, A. On the mating systems of the cooperatively breeding saddlebacked tamarin (*Saguinus fuscicollis*). **Behavioural Ecology and Sociobiology**, v. 16, p. 293-299, 1985.

THORNHILL, R.; ALCOCK, J. The Evolution of Insect Mating Systems. **Harvard University Press**. Cambridge, Massachusetts . 1983.

TOKUDA, K.; SIMMS, R. C.; JENSEN, J. D. Sexual behavior in a captive group of pigtail monkeys (*Macaca nemestrina*). **Primates**, v. 9, p. 283-294, 1968.

TRIVERS, R.L. Parental investment and sexual selection. **Sexual selection and the descent of man**. In: Campbell, B. (ed). Chicago: Aldine. P. 136-179, 1972.

TUTIN, C. E. Reproductive behaviour of wild chimpanzees in the Gombe National Park, Tanzania. *J Reprod Fertil Suppl.*, v. 28, p. 43-57, 1980.

WHITTEN, P. L.; BROCMAN, D. K.; STAVISKY, R. C. Recent advances in noninvasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. **Yearbook of Physical anthropology**, v. 41, p. 1-23, 1998.

WINGFIELD, J. C.; HEGNER, R. E.; DUFTY, A. M. J.; BALL, G. F. The “challenge hypothesis”: Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. **The American Naturalist**, v. 136, p. 829-846, 1990.

YAMAMOTO, M. E. From dependence to sexual maturity: the behavioral ontogeny of Callitrichidae. In: **A. B. Rylands (ed.), Marmosets and Tamarins: Systematics, Behaviour and Ecology**, Oxford University Press, Oxford, 1993.

YAMAMOTO, M. E. Infant care in Callitrichids: cooperation and competition. **Annual Review of Biomedical Sciences**, p. 149-160, 2005.

ZIEGLER, T. E.; EPPLE, G.; SNOWDON, C. T.; PORTER, T. A.; BELCHER, A. M.; KÜDERLING, I. Detection of the chemical signals of ovulation in the cotton top tamarin, *Saguinus Oedipus*. **Animal Behaviour**, v.45, p. 313–322, 1993.

ZIEGLER, T. E.; MATTERI, R. L.; WEGNER, F. H. Detection of urinary gonadotropins in callitrichid monkeys with a sensitive immunoassay based upon a unique monoclonal antibody. **American Journal of Primatology**, v. 31, p. 181–188, 1993.

ZIEGLER, T. E.; SANTOS, C. V.; PISSINATI, A.; STRIER, K. B. Steroid excretion during the ovarian cycle in captive and wild marmoset (*Brachyteles arachnoides*). **American Journal of Primatology**, v. 42, p. 311-321, 1997.

ZIEGLER, T. E.; SAVAGE, A.; SCHEFFLER, G.; SNOWDON, C. T. The endocrinology of puberty and reproductive functioning in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) under varying social conditions. **Bio. Reprod.**, v.37, p. 618-627, 1987.

ZIEGLER, T. E.; SCHEFFLER, G.; WITTEW, D. J.; SCHULTZ-DARKEN, N.; SNOWDON, C. T.; ABBOTT, D. H. Metabolism of reproductive steroids during the ovarian

cycle in two species of Callitrichids, *Saguinus Oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 91-99, 1996.

ZIEGLER, T. E.; WIDOWSKI, T. M.; LARSON, M. L.; SNOWDON, C. T. Nursing does affect the duration of the post-partum to ovulation interval in cotton-top tamarins (*saguinoedipus*). **Journal of Reproduction of Fertility.**, v. 90, p.