UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

LEONARDO DUTRA HENRIQUES

Avaliação da visão de cores em primatas do gênero *Alouatta*

São Paulo
2017

LEONARDO DUTRA HENRIQUES

Avaliação da visão de cores em primatas do gênero *Alouatta*

Tese apresentada ao Instituto de
Psicologia da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração:
Neurociência e Comportamento

Orientadora:
Prof^ª. Dr^a Dora Fix Ventura

São Paulo
2017

Nome: Henriques, Leonardo Dutra

Título: Avaliação da visão de cores em primatas do gênero *Alouatta*

Tese apresentada ao Instituto de
Psicologia da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar este trabalho ao Professor Luiz Carlos de Lima Silveira, um dos idealizadores e responsáveis por este projeto, que faleceu este ano. Deixando de participar diretamente da pesquisa, mas que vai nos acompanhar sempre com seu vasto conhecimento e valiosos conselhos que nunca esqueceremos. Na certeza de que junto de DEUS continuará a zelar por nós e pela ciência.

Agradeço à Professora Dora Ventura, minha orientadora, que é um exemplo de pesquisadora, sempre disposta a investir em novos projetos e compartilhar sua grande experiência na área. Que me auxiliou neste tempo com sugestões e leituras minuciosas de todos meus trabalhos.

Agradeço ao Professor Paulo Goulart, que foi a base de todo este projeto e peça fundamental para sua realização. Sua visão da Análise do Comportamento não apenas me serviu de referencial teórico para a modelagem dos sujeitos, mas que me permitiu observar de uma forma diferente a interação entre o organismo e o ambiente na ciência e na vida.

Agradeço, também, ao Professor Olavo Galvão, pelos seus valiosos conselhos sobre o projeto tanto em reuniões formais como em conversas cotidianas, e pela sua mentalidade singular que transparece na EEP.

Agradeço à Professora Ana Leda, que além de uma grande pesquisadora e amiga, me estendeu a mão em um momento de grande dificuldade durante minha permanência no Pará. Muito obrigado.

Agradeço aos colegas Dr Givago, Dr^a Daniela e Dr^a Einat, por todo apoio me ensinando e me ajudando a realizar este projeto.

Agradeço ao Dr. Muniz, um dos idealizadores e incentivador deste projeto. Grande pesquisador e especialista no gênero *Alouatta*. Seu ímpeto em realizar ciência mesmo em situações adversas só é igualado pela sua simpatia e generosidade.

Agradeço ao Dr. Paulo Castro, que sempre nos deu todo apoio logístico no CENP para a realização deste projeto e um grande aliado durante todo o período de coleta.

Agradeço a todos os técnicos responsáveis pelo manejo dos sujeitos experimentais: Luiz, Raimundo Nonato, Eliésio, Carla, Rafael, Marconi, Amauri e Osvaldo. Que em todo o tempo que estive no CENP sempre foram muito cordiais e solícitos!

Agradeço aos meus amigos, tanto do LABVIS como da EEP, professores e alunos, que me aguentaram atrapalhando seus trabalhos, me auxiliaram em diversas etapas do projeto e me acompanharam na cervejinha e no café!

Agradeço às agências de fomento pelos financiamentos que me sustentaram materialmente nesse período: a Bolsa de Doutorado CAPES-DS e ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica Procad 182/2007

Agradeço a minha família, minha mãe Tânia, meu pai Elton e meu irmão Alvaro, por todo apoio durante este período, sempre cuidando de mim. Foram meu rochedo durante toda a vida, e não foi diferente agora. Especialmente a minha mãe, pela cuidadosa leitura e correção desta tese.

Agradeço à Paloma, minha noiva e grande companheira. Apesar de todas as dificuldades deste longo trabalho e do seu próprio doutorado, esteve sempre ao meu lado me ajudando e fazendo meus dias mais felizes. Paloma, eu te amo!

Agradeço aos meus amigos (BSB, SP e PA). Não existe riqueza deste mundo que se compare a amizade de vocês. Obrigado pelas alegrias e pela paciência.

Agradeço a DEUS, que esteve comigo desde o início do trabalho e me amparou até seu término. Comigo caminhou na calma e não me abandonou na turbulência. Criador de todas as coisas, não fechou seus olhos para as minhas dificuldades, e me auxiliou nesta busca pela verdade. “Conhecereis a Verdade e a Verdade vos libertará.” João 8:35

“Directly measuring color vision in nonhuman subjects is a tedious business usually involving extended periods of training and testing.”

(Jacobs, 2008)

RESUMO

Henriques, L. D. (2017). *Avaliação da visão de cores em primatas do gênero Alouatta*. (Tese de Doutorado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A visão de cores apresenta um papel muito importante para a sobrevivência e desenvolvimento de primatas. A capacidade de discriminar, visualmente, o alvo de um fundo apenas pela diferença de matiz pode ser o diferencial tanto para a busca de alimentos, como para a fuga de predadores. Estudos sobre a visão de cores auxiliam a fazer inferências sobre suas bases biológicas e utilidade funcional. O presente estudo buscou avaliar a discriminação de cores em primatas do gênero *Alouatta* (Bugio), por meio de uma adaptação do teste computadorizado *Cambridge Colour Test* (CCT) e do sequenciamento dos genes que codificam as opsinas, uma vez que por estudos anteriores inferia-se que eles pudessem apresentar visão tricromática, diferenciando-os dos outros platirrinos. Para este estudo foram utilizados 6 indivíduos do Centro Nacional de Primatas (CENP, Ananindeua, Pará, Brasil). O experimento comportamental objetivava determinar elipses de discriminação de cor para três fundos de diferentes cromaticidades do diagrama CIE 1976 $u'v'$, as quais serviram de parâmetro para a determinação do fenótipo dos indivíduos. A análise genética buscou identificar as variedades de opsinas. Dois indivíduos concluíram o teste comportamental com sucesso, um macho de *Alouatta caraya* e uma fêmea de *Alouatta seniculus*, ambos apresentando visão de cores tricromática. A análise molecular identificou a presença de dois alelos para comprimentos médios/longos da opsina. O potencial de tricromacia demonstrado na análise genética foi compatível com os resultados da análise comportamental que mostraram capacidade discriminativa tricromática. Neste trabalho abordamos os diversos aspectos desse estudo, tanto na modelagem dos animais quanto na importância desse achado.

Palavras-chave: Discriminação de Cores. *Cambridge Colour Test*. Primatas platirrinos. Tricromacia uniforme.

ABSTRACT

Henriques, L. D. (2017). *Evaluation of color vision in primates of genus *Alouatta**. (Tese de Doutorado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo

Color vision has a very important role in the survival and development of primates. The ability to visually discriminate the target of a background only by hue difference may be the difference for both search of food or escape from predators. Studies on color vision help to make inferences about their biological bases and functional utility. This study sought to evaluate the color discrimination in primates of the genus *Alouatta* (Howler monkey), through an adaptation of the computerized test Cambridge Colour Test (CCT) and the sequencing of the genes coding opsins. Through previous studies have inferred that they could present trichromatic vision, distinguishing them from other platyrrhines. Six subjects from the National Primate Center (CENP, Ananindeua, Pará, Brazil) were tested. The behavioral experiment aimed to determine color discrimination ellipses to three backgrounds of different chromaticity at CIE 1976 u'v' diagram, which served as a parameter for determining the phenotype of individuals and the genetic analysis sought to identify the varieties of opsins. Two individuals completed the test successfully one male and one female, both featuring trichromatic color vision. Two individuals successfully completed the behavioral test, one *Alouatta caraya* male and one *Alouatta seniculus* female, both presenting trichromatic color vision. Molecular analysis identified the presence of two alleles for medium/long lengths of opsin compatible with behavioral analysis. In this work we approach the various aspects of this study, both in the modeling of the animals and in the importance of this finding.

Keywords: Color discrimination. Cambridge Colour Test. Platyrrhines primates. Uniform trichromacy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. PICO DE SENSIBILIDADE DAS CURVAS ESPECTRAIS DE TRÊS DIFERENTES TIPOS DE CONES E DOS BASTONETES ENCONTRADOS NA RETINA DE PRIMATAS. VALORES OBTIDOS EM ESTUDO COM HUMANOS	16
FIGURA 2. ESQUEMA ILUSTRATIVO DO SEGMENTO EXTERNO DE UM BASTONETE, EM DETALHE ILUSTRAÇÃO DA RODOPSINA, A OPSINA DOS BASTONETES (RODS EM INGLÊS), PIGMENTO FOTOSSENSÍVEL QUE PERMITE A CONVERSÃO DO SINAL LUMINOSO EM SINAL ELETROQUÍMICO ATRAVÉS DE MUDANÇAS DE CONFIGURAÇÃO DO RETINAL.	18
FIGURA 3. MICROGRAFIA INDICANDO DIFERENÇAS MORFOLÓGICAS ENTRE CONES E BASTONETES EM UMA RETINA HUMANA	19
FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE <i>ALOUATTA BELZEBUL</i> SEGUNDO RELATÓRIO DA IUCN. EM AMARELO REGIÕES ONDE SÃO ENCONTRADOS INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE EM VIDA LIVRE.....	24
FIGURA 5. REPRESENTAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE <i>ALOUATTA CARAYA</i> SEGUNDO RELATÓRIO DA IUCN. EM AMARELO REGIÕES ONDE SÃO ENCONTRADOS INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE EM VIDA LIVRE.....	25
FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES <i>ALOUATTA SENICULUS PURUENSES</i> (A) E <i>ALOUATTA SENICULUS JUARA</i> (B) SEGUNDO RELATÓRIO DA IUCN. EM NOSSO ESTUDO NÃO IDENTIFICAMOS A SUBESPÉCIE DO ANIMAL ESTUDADO DESTA ESPÉCIE. EM AMARELO REGIÕES ONDE SÃO ENCONTRADOS INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE EM VIDA LIVRE.	26
FIGURA 7. CURVA DE SENSIBILIDADE ESPECTRAL DAS OPSINAS DE CONES DE MAMÍFEROS (SWS1 E LWS) E VARIAÇÃO DA FAIXA ESPECTRAL DAS FAMÍLIAS DE OPSINAS DE VERTEBRADOS (SWS1, LWS, RH1, SWS2 E RH2).....	28
FIGURA 8. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA OPSINA DE CONE M/L DE PRIMATAS. OS AMINOÁCIDOS INDICADOS EM CÍRCULOS COLORIDOS TÊM SEU PAPEL NA MUDANÇA DO PICO DE SENSIBILIDADE ESPECTRAL DO CONE CONHECIDO. NO QUADRO EM DESTAQUE AS TRÊS POSIÇÕES CRÍTICAS DE MUDANÇA, A INDICAÇÃO DA SUBSTITUIÇÃO E SEU EFEITO NO DESLOCAMENTO DO PICO DE SENSIBILIDADE ESPECTRAL	30
FIGURA 9 ESQUEMA REPRESENTATIVO DA FILOGENIA DE PRIMATAS. EM VERMELHO A OCORRÊNCIA DE ALTA PROPORÇÃO DE PSEUDOGENES NO RECEPTOR OLFATIVO CARACTERÍSTICA COMUM ÀS ESPÉCIES COM PADRÃO GENÉTICO ASSOCIADO À VISÃO TRICROMÁTICA.....	31
FIGURA 10. DISTRIBUIÇÃO DE CÉLULAS GANGLIONARES E DE CONES NA REGIÃO CENTRAL DA RETINA DE <i>ALOUATTA</i> E <i>CEBUS</i> . A COMPARAÇÃO EVIDENCIA UMA MAIOR CONCENTRAÇÃO DE CONES NA FOVEOLA ÀS CUSTAS DE UMA DIMINUIÇÃO NAS REGIÕES ADJACENTES EM <i>ALOUATTA</i> (A) QUANDO COMPARADA COM A MESMA REGIÃO EM <i>CEBUS</i> (B). NÚMERO CUMULATIVO DE CONES NA RETINA COM O AUMENTO DA EXCENTRICIDADE PARA AS DUAS ESPÉCIES (C) E NÚMERO CUMULATIVO DE CÉLULAS GANGLIONARES NA RETINA COM O AUMENTO DA EXCENTRICIDADE PARA AS DUAS ESPÉCIES (D).	34
FIGURA 11. EFICÁCIA LUMINOSA RELATIVA PARA COMPRIMENTOS DE ONDA DO ESPECTRO VISÍVEL. CONJUNTO DE DADOS DE SISTEMA VISUAL HUMANO.	37
FIGURA 12. EXEMPLO DO ARRANJO DE ESTÍMULOS UTILIZADO ORIGINALMENTE NO TESTE CAMBRIDGE COLOUR TEST (CCT), DEMONSTRANDO UM TESTE PSEUDOISOCROMÁTICO QUE UTILIZA AS ESTRATÉGIAS DE UM ALVO E FUNDO COMPOSTOS POR MATRIZ DE OBJETOS COM BORDAS INDIVIDUAIS E VARIAÇÃO ALEATÓRIA DE BRILHO PROPOSTAS POR STILLING (1877).....	38
FIGURA 13. LINHAS DE CONFUSÃO ESTIMADAS PARA AS FORMAS PROTAN, DEUTAN E TRITAN DE DICROMACIA HUMANA, PLOTADAS EM UM DIAGRAMA DE CROMATICIDADE CIE 1976 u'v'	39
FIGURA 14. DIAGRAMA DE CROMATICIDADE CIE 1976 u'v'. ESPAÇO DE COR QUE DEMONSTRA CORES VISÍVEIS PARA A ESPÉCIE HUMANA, ONDE A BORDA EXTERNA CORRESPONDE A CORES MONOCROMÁTICAS CORRESPONDENTES A UM ÚNICO COMPRIMENTO DE ONDA. AO SE AFASTAR DAS BORDAS, OCORRE MISTURA DE CORES, CHEGANDO ATÉ PONTOS COM COMPONENTES DE TODOS COMPRIMENTOS DE ONDA, ACROMÁTICOS, VISIVELMENTE BRANCOS. O TRIÂNGULO INSCRITO NO DIAGRAMA É UMA REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO LIMITE DE REPRODUÇÃO DE COR DO MONITOR (GAMUT). E OS EIXOS NUMERADOS DE 1 A 20 REPRESENTAM O POSICIONAMENTO DOS VETORES EM RELAÇÃO AO PONTO CENTRAL RELATIVO À CROMATICIDADE DO FUNDO.	40
FIGURA 15. FOTOS DOS SUJEITOS EXPERIMENTAIS DO GÊNERO <i>ALOUATTA</i> EM SEUS RESPECTIVOS RECINTOS, ONDE SE REALIZAVAM AS COLETAS (<i>IN SITU</i>). DA ESQUERDA PARA A DIREITA DE CIMA PARA BAIXO: F2, F1, M1, M2, M3 E M4.	45
FIGURA 16. FOTO DE UM CASAL DE <i>ALOUATTA</i> UTILIZADOS NO EXPERIMENTO, ALOJADO EM GAIOLA-VIVEIRO DO CENP... 47	
FIGURA 17. APARATO PARA AVALIAÇÃO DE VISÃO DE CORES, EMBUTIDO EM ARMÁRIO TIPO RACK MÓVEL E CÂMARA EXPERIMENTAL DE ACRÍLICO COM DOIS COMEDOUROS ONDE CAIAM AS PELOTAS UTILIZADAS COMO RECOMPENSA E, NA ABERTURA ERA POSICIONADO O MONITOR SENSÍVEL AO TOQUE	48

FIGURA 18. DIAGRAMA DA CONFIGURAÇÃO DO APARATO NECESSÁRIO À REALIZAÇÃO DAS SESSÕES EXPERIMENTAIS. O COMPUTADOR É UTILIZADO PARA DEFINIR OS PARÂMETROS DA SESSÃO, COMO COR DO ALVO E DO FUNDO, SATURAÇÃO MÁXIMA E INTERVALO ENTRE TENTATIVAS. O VISAGE É UM GERADOR DE ESTÍMULOS DA <i>CAMBRIDGE RESEARCH SYSTEM</i> , QUE COMANDA O MONITOR CRT ONDE OS ESTÍMULOS SÃO APRESENTADOS PARA O SUJEITO EXPERIMENTAL. TOQUES NA TELA SÃO IDENTIFICADOS POR UM RETÍCULO DE LEDs INFRAVERMELHOS QUE ENVIAM A INFORMAÇÃO AO COMPUTADOR QUE COMPARA A ÁREA TOCADA COM O ESTÍMULO PROGRAMADO. SE O TOQUE OCORRER NA REGIÃO ALVO, O COMPUTADOR ATIVA UM DISPENSADOR AUTOMÁTICO DE REFORÇO, DISPONIBILIZANDO O REFORÇO PARA O SUJEITO EXPERIMENTAL.....	49
FIGURA 19. VISTA DO APARATO EXPERIMENTAL JUSTAPOSTO À JANELA DE COMUNICAÇÃO, POSICIONAMENTO EM QUE SE REALIZAVAM A COLETA DE DADOS. VISÃO DO EXPERIMENTADOR, DE DENTRO DO RECINTO (A) E PONTO DE VISTA EXTERNO DO CORREDOR CENTRAL (B).	50
FIGURA 20. EXEMPLO DO ARRANJO DE ESTÍMULO UTILIZADO NO TESTE ADAPTADO POR GOULART E COLABORADORES (2008). ESTÍMULO SOBRE FUNDO COM A MESMA LUMINÂNCIA MÉDIA. A SUBSTITUIÇÃO DO ALVO DA ABERTURA DO C DE LANDOLT UTILIZADO NO TESTE ORIGINAL (<i>CAMBRIDGE COLOUR TEST</i>) PARA UM CONJUNTO DE CÍRCULOS EM UM FORMATO APROXIMADO DE QUADRADO QUE PODE SER APRESENTADO EM NOVE LOCAIS DA TELA SENSÍVEL. ESTA MODIFICAÇÃO PERMITE A UTILIZAÇÃO DO TESTE COM INDIVÍDUOS NÃO-VERBAIS.....	52
FIGURA 21. RESULTADOS DE UMA SESSÃO EXPERIMENTAL DO SUJEITO M2 (SCAR). VALOR DA DISTÂNCIA ALVO-FUNDO (EM UNIDADES $U'V'$) PARA CADA UM DOS QUATRO VETORES TESTADOS NESTA SESSÃO. ACERTOS NA DISCRIMINAÇÃO DO ALVO EM RELAÇÃO AO FUNDO, LEVAVAM A UMA MUDANÇA DA CROMATICIDADE DO ALVO, DIMINUINDO A DISTÂNCIA DA CROMATICIDADE ENTRE ALVO E FUNDO NO DIAGRAMA CIE 1976 $U'V'$, TORNANDO-O MAIS SEMELHANTE AO FUNDO. FALHAS NA DISCRIMINAÇÃO DO ALVO EM RELAÇÃO AO FUNDO, LEVAVAM A UM AUMENTO DA DISTÂNCIA, TORNANDO O ALVO MAIS DISTINGUÍVEL EM RELAÇÃO AO FUNDO.	60
FIGURA 22. RESULTADOS EXPERIMENTAIS DO SUJEITO M2 (SCAR). VALORES DE LIMIAR (EM UNIDADES $U'V' \times 10^{-4}$ DO DIAGRAMA CIE 1976 $U'V'$) PARA CADA VETOR SEGUIDO DA ELIPSE PLOTADA A PARTIR DESSES VALORES PARA OS PONTOS CENTRAIS 1,2 E 3 RESPECTIVAMENTE.....	62
FIGURA 23. RESULTADOS EXPERIMENTAIS DO SUJEITO F1 (SENI). VALORES DE LIMIAR (EM UNIDADES $U'V' \times 10^{-4}$ DO DIAGRAMA CIE 1976 $U'V'$) PARA CADA VETOR SEGUIDO DA ELIPSE PLOTADA A PARTIR DESSES VALORES PARA OS PONTOS CENTRAIS 1,2 E 3 RESPECTIVAMENTE.....	64
FIGURA 24. CROMATOGRAMA, MOSTRANDO AS TRÊS POSIÇÕES QUE CAUSAM MAIOR DESLOCAMENTO DA CURVA DE ABSORÇÃO ESPECTRAL DA OPSINA, DE UM MACHO DE <i>A. CARAYA</i> (M2) REPRESENTATIVO DA SEQUÊNCIA OBSERVADA NOS TRÊS SUJEITOS ANALISADOS. FORAM ENCONTRADOS ALELOS EM HETEROZIGOSE PARA TODAS AS POSIÇÕES. NA POSIÇÃO 180 TEMOS UMA ALANINA (A) E UMA SERINA (S), NA 277 UMA FENILALANINA (F) E UMA TIROSINA (Y) E NA 285 UMA ALANINA (A) E UMA TREONINA (T).....	65
FIGURA 25. CURVAS DE SENSIBILIDADE ESPECTRAL CONSTRUÍDAS A PARTIR DOS VALORES DO PICO DE SENSIBILIDADE MÁXIMA DAS OPSINAS PARA COMPRIMENTOS DE ONDA MÉDIOS E LONGOS PREDITOS PELO ARRANJO GENÓTIPO/FENÓTIPO DOS SUJEITOS AVALIADOS NESTE ESTUDO. PARA AMBOS SUJEITOS INFERE-SE A PRESENÇA DE UMA OPSINA PARA COMPRIMENTO DE ONDA MÉDIO COM PICO DE ABSORÇÃO APROXIMADAMENTE EM 532(nm) E PARA COMPRIMENTO DE ONDA LONGO COM PICO DE ABSORÇÃO APROXIMADAMENTE EM 560-563(nm).	66
FIGURA 26. VALORES DE SUJEITOS DE OUTRA ESPÉCIE DE PRIMATA DO NOVO MUNDO PARA COMPARAÇÃO. RESULTADOS EXPERIMENTAIS DE SUJEITOS, UM TRICROMATA (<i>SAPAJUS F1</i>) E UM DICROMATA (<i>SAPAJUS M7</i>), DESCRITOS NO TRABALHO DE GOULART E COLABORADORES (2013). VALORES DE LIMIAR (EM UNIDADES $U'V' \times 10^{-4}$ DO DIAGRAMA CIE 1976 $U'V'$) PARA CADA VETOR SEGUIDO DA ELIPSE PLOTADA A PARTIR DESSES VALORES PARA OS PONTOS CENTRAIS 1,2 E 3 RESPECTIVAMENTE.	69

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Descrição da nomenclatura das discromatopsias segundo tipo de cone afetado e forma do prejuízo: ausência total ou alteração na composição, causando deslocamento da curva de sensibilidade espectral em relação à média. 20
- Tabela 2. Indicação dos aminoácidos presentes nas opsinas nas principais posições envolvidas na determinação do pico de sensibilidade espectral de cone m/l em gêneros de primatas do novo mundo. 29
- Tabela 3. Lista de sujeitos experimentais do gênero *alouatta* , com informação de origem, idade, e dados de rastreo do indivíduo. 46
- Tabela 4. Coordenadas do diagrama cie 1976 u'v' referentes à cromaticidade dos parâmetros para a realização do teste. Cromaticidade da matriz que compõe o ruído de fundo e das distâncias máximas dos vetores utilizados como alvo no teste de discriminação de cores. 53
- Tabela 5. Duração aproximada das etapas descritas no procedimento para os sujeitos experimentais. Reforço padrão consiste em pelotas sabor banana, e os reforços alternativos consistiam de amendoim, castanha-do-pará, uvas passas e por fim uvas verdes sem semente. Tempo transcorrido com treinos 5 vezes por semana para o sujeito do gênero *sapajus* e 3 vezes por semana para o gênero *alouatta*. O símbolo do asterisco(*) indica que a etapa para o sujeito em questão não foi concluída. 59
- Tabela 6. Valor do limiar de discriminação de cores para o sujeito m2 (scar) para os 20 vetores testados em cada uma das três elipses de discriminação de cor. .. 61
- Tabela 7. Valor do limiar de discriminação de cores para o sujeito f1 (seni) para os 20 vetores testados em cada uma das três elipses de discriminação de cor. .. 63

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Teorias de visão de cores	15
1.2 Fotorreceptores e pigmentos visuais	17
1.3 Nomenclatura e defeitos na visão de cores	20
1.4 A ordem Primatas e o gênero Alouatta	22
1.5 Pigmentos visuais de primatas	27
1.6 Estudos anteriores com Alouatta.....	33
1.7 Importância evolutiva da tricromacia.....	35
1.8 Testes de visão de cores.....	36
1.9 Justificativa.....	41
1.10 Objetivo	42
2. MÉTODOS	44
2.1 Sujeitos	44
2.2 Comitê de ética	45
2.3 Aparato	48
2.4 Estímulo.....	51
2.5 Procedimento.....	54
2.6 Coleta de sangue	56
2.7 Análise genética.....	57
3. RESULTADOS.....	59
3.1 Modelagem experimental	59
3.2 Discriminação de cores.....	60
3.3 Avaliação genética	65
4. DISCUSSÃO	68
5. CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
GLOSSÁRIO	81
APÊNDICE A	85

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Teorias de visão de cores

A luz é composta por fótons, partículas com energia que descrevem um padrão ondulatório característico, o qual pode ser descrito em termos de comprimento de onda (distância entre dois vales). Ao incidir em um objeto, a luz é em parte absorvida e em parte refletida; essas propriedades dependem de características do objeto, como absorbância e textura. A sensação de cor resulta da interpretação pelo sistema visual da luz refletida pelo objeto. A cor não é, portanto, uma propriedade do objeto e sim o produto da reflexão da luz no objeto e da correspondente interpretação feita pelo sistema visual (Levine, 2000). Todavia, a discriminação de cores depende de existir no organismo um sistema adaptado para converter a energia luminosa em sinal eletroquímico e sua posterior interpretação.

O termo cor é, normalmente, associado com a capacidade de diferenciar objetos em termos do comprimento de onda que eles refletem, por exemplo, vermelho (700nm) e azul (450nm). No entanto, a esta propriedade diretamente ligada à diferenciação de comprimentos de onda, dá-se o nome de matiz. Segundo a Comissão Internacional de Iluminação (CIE)¹, a cor percebida é a característica da percepção visual que pode ser descrita pelos seus atributos de matiz, brilho e saturação. O matiz está relacionado ao comprimento de onda da luz refletida; a saturação relaciona-se com a pureza da cor, ou seja, com a variedade de comprimentos de onda que compõem a luz; e o brilho relaciona-se com a intensidade da luz.

O estudo das cores e da forma como os indivíduos as percebem era tema já presente desde os pensadores gregos, e teve um marco importante na descoberta de Isaac Newton sobre a natureza da luz, com a demonstração da decomposição da luz branca em cores espectrais, por meio do uso de prismas (Santana, 2005). Baseado em estudo sobre a natureza da luz, Thomas Young (1773-1829) propôs uma teoria para a visão de cores, segundo a qual o indivíduo precisaria perceber apenas três tipos de cores primárias para diferenciar todas as cores espectrais. Posteriormente, Von Helmholtz (1821-1894) fez experimentos de mistura de cores que evidenciaram a teoria de Young, a qual passou a ser conhecida como a Teoria de Young-Helmholtz (Gouras, 1991).

¹ cf. GLOSSÁRIO

O sistema visual possui células fotossensíveis que são capazes de converter o estímulo luminoso em estímulos químicos e, subsequentemente, elétricos. O sistema nervoso transmite estas informações pelos neurônios, sob a forma de impulsos elétricos, que não transmitem informações qualitativas sobre o estímulo. No caso do sistema visual, quando um fóton incide sobre um fotorreceptor e é absorvido, a única informação transmitida é um impulso relativo a essa captura sem guardar informação do comprimento de onda originalmente absorvido. Por isto existe a necessidade de mais de um tipo de fotorreceptor para a percepção dos diferentes matizes, uma vez que, com um único fotorreceptor, perde-se a informação sobre o comprimento de onda, mantendo-se apenas a informação da quantidade de fótons absorvidos. Este fenômeno, descrito por William Rushton, é chamado “Princípio da Univariância” (Rushton, 1972). Portanto, para obter a informação de comprimento de onda, é necessário que o sistema visual tenha cones com curvas de absorção espectral diferentes sensíveis a faixas distintas do espectro visível (Figura 1), além de um substrato neural que permita comparar a informação de quantidade de fótons absorvidos nos diferentes tipos de cones e, assim, determinar o comprimento de onda observado.

Figura 1. Pico de sensibilidade das curvas espectrais de três diferentes tipos de cones e dos bastonetes encontrados na retina de primatas. Valores obtidos em estudo com humanos

Fonte: adaptado de Dowling (1987), extraído de <http://webvision.med.utah.edu/imageswv/spectra.jpeg>

1.2 Fotorreceptores e pigmentos visuais

Para a captação da luz é necessária a presença de células fotossensíveis, os fotorreceptores cones e bastonetes. As opsinas, uma família de proteínas presente no segmento externo dos fotorreceptores, são capazes de converter o sinal luminoso em sinal eletroquímico em um processo chamado fototransdução (Figura 2). A primeira etapa da visão é a absorção de um fóton pela opsina, o que causa uma mudança de conformação do tipo cis-trans-isomerização do cromóforo 11-cis-retinal para sua forma ativa. Outra molécula que tem papel fundamental nesse processo é o segundo mensageiro monofosfato cíclico de guanosina (cGMP). O processo de sinalização visual depende do balanço de síntese e degradação desse mensageiro no citoplasma do segmento externo dos fotorreceptores (Shichida & Matsuyama, 2009). Na presença de luz ocorre a mudança de conformação do retinal que causa um declínio da concentração do cGMP. Isto leva a uma cadeia de mudanças da qual resulta o fechamento de canais na célula ocasionando uma hiperpolarização e redução da liberação de neurotransmissores no terminal sináptico sinalizando a presença de luz para os neurônios secundários na retina. Analogamente, na ausência de luz o gradiente de cGMP aumenta, levando a uma cascata de eventos reversa que aumenta a liberação de neurotransmissores no terminal sináptico. Uma grande vantagem do uso de segundos mensageiros e canais dependentes da concentração de cGMP é a amplificação de sinal que esta cascata possibilita, em que a captação de um único fóton leva à alteração da liberação de centenas de neurotransmissores e consequentemente à alta sensibilidade do sistema visual mesmo a um único fóton (Baylor et al., 1979).

Na retina de primatas, encontram-se três tipos diferentes de fotorreceptores: os bastonetes e cones (Figura 3) na retina externa e as células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis na retina interna (ipRGC), na camada de células ganglionares. Os cones e bastonetes constituem o primeiro nível do sistema visual formador de imagem, enquanto as ipRGCs originam o sistema não formador de imagem, que regula o ritmo circadiano e o reflexo pupilar à luz.

Os bastonetes são altamente sensíveis à luz, de resposta lenta e constituem a maioria dos fotorreceptores na retina de primatas, mas não se apresentam na fóvea. Em contraposição, os cones são menos sensíveis à luz, de resposta rápida e ocorrem em toda a retina, e em alta densidade na fóvea. Os bastonetes atuam em situações de baixa luminosidade (escotópica), condição em que os cones não estão sendo sensibilizados

ou apresentam respostas muito baixas. Devido ao fato de atuarem sozinhos, diz-se que não contribuem para a visão de cores. Entretanto, em situações de iluminação média (mesópica), atribui-se à participação dos bastonetes um aumento na percepção do azul em relação ao amarelo (Buck, Knight, Fowler, & Hunt, 1998). Em situações de alta luminosidade (fotópica) os bastonetes já se encontram saturados e não têm variedade na resposta, portanto nessa situação a descrição visual da cena deriva da ativação dos diferentes tipos de cones. O sistema nervoso transmite informações pelos neurônios, de forma codificada, utilizando-se da frequência e da duração da atividade elétrica.

Figura 2. Esquema ilustrativo do segmento externo de um bastonete, em detalhe ilustração da rodopsina, a opsina dos bastonetes (rods em inglês), pigmento fotossensível que permite a conversão do sinal luminoso em sinal eletroquímico através de mudanças de configuração do retinal.

Fonte: adaptado de <http://webvision.med.utah.edu/index.html>

Como dito anteriormente, devido ao Princípio da Univariância a capacidade de discriminação visual de cores requer a comparação de informações de mais de um tipo de cone na retina, assim como da existência de interações neurais entre os canais cromáticos iniciados em cada um desses tipos de cones, permitindo a troca de

informação entre estes canais. A diferença entre os tipos de cones da retina está na opsina que eles contêm. Diferentes opsinas caracterizam-se por terem curvas espectrais com capacidade máxima de absorção de luz em diferentes comprimentos de onda do espectro luminoso (Jacobs, 1996) .

Figura 3. Micrografia indicando diferenças morfológicas entre cones e bastonetes em uma retina humana

Fonte: adaptado de <http://webvision.med.utah.edu/index.html>

1.3 Nomenclatura e defeitos na visão de cores

Em humanos ocorrem deficiências congênitas de visão de cores, que podem ser desde acromatopsia, condição na qual o sujeito possui apenas uma ou nenhuma opsina, e nenhuma visão de cores, até discromatopsia ou daltonismo, condição em que o sujeito possui visão de cores, contudo confunde cores que seriam diferenciáveis para sujeitos com visão tricromática. As discromatopsias são denominadas segundo o tipo de cone afetado e o tipo de defeito - ausência do cone ou da opsina; ou uma alteração genética que causa apenas o deslocamento da curva espectral (Tabela 1). Se o defeito afeta o cone L, ele recebe o prefixo "Protan", caso não haja expressão dessa variedade de opsina, configura-se uma Protanopia, ou uma Protanomalia em caso de variação na expressão da opsina causando deslocamento da curva espectral deste tipo de cone, recebendo o sufixo "anomalia"; por outro lado se o defeito afeta o cone M recebe o prefixo "Deutan", caso seja uma perda completa da curva de absorção, configura-se como Deuteranopia ou Deuteranomalia em caso de deslocamento; e se o defeito for no cone S recebe o prefixo "Tritan", caso seja uma perda completa da curva, configura-se como Tritanopia ou Tritanomalia em caso de deslocamento (Birch, 2001).

Tabela 1. Descrição da nomenclatura das Discromatopsias segundo tipo de cone afetado e forma do prejuízo: ausência total ou alteração na composição, causando deslocamento da curva de sensibilidade espectral em relação à média.

Tipo de Defeito	Cone S	Cone M	Cone L
Ausência	Tritanopia	Deuteranopia	Protanopia
Deslocamento	Tritanomalia	Deuteranomalia	Protanomalia

O conjunto de estímulos cromáticos que, quando controlada a intensidade luminosa, são indistinguíveis para indivíduos dicromatas, podem ser representadas como linhas de confusão, em diagramas de cromaticidade como o CIE $u'v'$ 1976. As linhas de confusão são específicas para cada tipo de defeito de visão de cores e permitem a seleção adequada de estímulos cromáticos para a avaliação dos defeitos de visão de cores. Outras características serão abordadas no item 1.8 Testes de visão de cores.

Estas anomalias são, em geral, causadas por mutações nos genes que codificam as opsinas, podendo ser herdadas caso esses genes passem para os descendentes. Além dessas, há anomalias que podem ser adquiridas ao longo da vida como, por exemplo,

no caso de pessoas com glaucoma (Castelo-Branco, Faria, Forjaz, Kozak, & Azevedo, 2004), com neuropatia óptica hereditária de Leber (Dora Fix Ventura et al., 2007) ou expostas a substâncias neurotóxicas como o mercúrio (Canto-Pereira et al., 2005; D. F. Ventura et al., 2005) ou solventes (Costa et al., 2012) . As deficiências adquiridas não apresentam caráter hereditário e podem sofrer alterações com o passar do tempo (Schwartz, 2009).

Devido à grande importância dos estudos voltados à busca por maior compreensão dos defeitos de visão de cores, torna-se relevante o estudo em espécies próximas, como os primatas. Para isso utilizam-se os testes de visão de cores, que além de atestarem a presença de visão de cores, a fim de determinar suas dimensões e precisão, auxiliam a fazer inferências sobre suas bases biológicas e utilidade funcional.

1.4 A ordem Primatas e o gênero *Alouatta*

A Ordem Primatas, que abriga o gênero *Alouatta*, compreende os humanos e primatas não humanos, e é dividida em 16 famílias, 77 gêneros, 488 espécies e 690 subespécies (Rylands & Mittermeier, 2014). Catarrhini é uma Parvordem na qual estão localizados os primatas do Velho Mundo, de ocorrência nos continentes Asiático e Africano. Por sua vez, a Parvordem Platyrrhini contém o grupo de primatas do Novo Mundo, também conhecidos como primatas neotropicais, os quais ocorrem no México, na América Central e na América do Sul (Groves, 2005). Ainda hoje temos duas teorias distintas sobre a divergência entre os primatas do Velho e do Novo Mundo. Kay e colaboradores (2015) em sua recente revisão do paleoclima e filogenética de primatas do Novo Mundo sustentam a teoria vigente de uma origem dos primatas neotropicais oriunda da África pelo oceano Atlântico, enquanto Kiesling e colaboradores (2015) defendem uma visão de que os primatas neotropicais tiveram origem em uma dispersão casual de proto-primatas asiáticos pelo oceano pacífico.

Dentre os primatas não humanos, 31% são de ocorrência Neotropical e compreendem 5 famílias, 19 gêneros e 199 espécies e subespécies (Rylands & Mittermeier, 2009).

Os primatas neotropicais estão divididos nas Famílias Cebidae, Aotidae, Pitheciidae e Atelidae (Groves, 2001). Pertencente à Família Atelidae, o gênero *Alouatta* é formado pelas seguintes espécies: *A. arctoidea*, *A. belzebul*, *A. caraya*, *A. discolor*, *A. guariba*, *A. macconnelli*, *A. nigerrima*, *A. palliata*, *A. pigra*, *A. sara*, *A. seniculus* e *A. ululata*. (Liliana Cortés-Ortiz, Rylands, & Mittermeier, 2015). Cabe ressaltar que a taxonomia não é definitiva, e que frequentemente ocorrem mudanças com o surgimento de novos estudos na área.

Dentro da Família *Atelidae* o gênero *Alouatta* foi o primeiro a separar, por volta de 16 milhões de anos atrás (Ma) seguido por *Ateles* (11,5 Ma) e por último *Brachyteles* e *Lagothrix* (9.5 Ma) (Schneider & Sampaio, 2015). E, embora seja um gênero relativamente antigo com as primeiras especiações por volta de 6.8 Ma, o gênero continuou a se especiar até recentemente (L. Cortés-Ortiz et al., 2003). Apesar de ainda não se ter certeza da relação entre os outros gêneros, todas as hipóteses filogenéticas distinguem *Alouatta* dos outros primatas neotropicais, atribuindo-lhe uma radiação anterior e características morfocomportamentais distintas dos outros (Youlatos, Couette, & Halenar, 2015).

Alouatta é o gênero que possui a maior distribuição geográfica nos Neotrópicos, ocorre desde o sul do estado de Veracruz, no México, até o norte da Argentina (Liliana Cortés-Ortiz et al., 2015). Dentre suas principais características morfológicas, destacam-se a cauda preênsil com palma, capaz de suportar o peso do próprio corpo, dentição com tubérculos baixos, próprios para herbivoria, e intestinos de grande volume, adaptado à sua preferência alimentar por folhas e pecíolos. Apresentam ainda o osso hioide bastante desenvolvido, maior nos machos, o qual funciona como um ressonador de sua vocalização, e que pode possuir um volume interno de até 50 cm³ (Rosenberger & Strier, 1989). Sua dieta é classificada como folívoro-frugívora, mas também inclui flores, caules, cascas e líquens. Esta dieta pobre em energia pode ter levado esses animais à adaptações comportamentais com a finalidade de estoque de energia, dentre elas um deslocamento direcional para as fontes de alimento, grande período de descanso, pouca realização de movimentos bruscos e o uso de posturas corporais que podem auxiliar na conservação de calor (J C Bicca-Marques & Calegari-Marques, 1995; Júlio César Bicca-Marques & Calegari-Marques, 1998).

Podemos ressaltar coincidência temporal da dispersão recente de *A. caraya* e *A. seniculus*, ambas se dispersaram de suas regiões de origem aproximadamente há 4 milhões de anos. *A. caraya* expandiu seu território em direção a regiões mais secas do cerrado e caatinga brasileiras afastando-se da bacia do Amazonas ocupada por *A. belzebul*, enquanto *A. seniculus* expandiu em direção ao lado oposto da cordilheira dos Andes se afastando da floresta Atlântica, ocupada por *A. guariba*. A dispersão de *A. seniculus* ocorreu em um período mais recente do que as espécies ocupantes da América Central, possivelmente contornando a cordilheira em contraste com as anteriores que migraram antes da formação dos Andes. Estas dispersões recentes e associadas a mudanças do clima reforçam o paradigma de que estas espécies sofrem uma grande pressão evolutiva em virtude de variáveis ambientais e estão constantemente evoluindo para se adaptar ao habitat (Lynch Alfaro, Cortés-Ortiz, Di Fiore, & Boubli, 2015).

Dentro do gênero *Alouatta* foram estudadas, em nosso experimento três espécies distintas: *Alouatta belzebul*, *Alouatta caraya* e *Alouatta seniculus*.

A espécie *Alouatta belzebul* (Linnaeus, 1766), conhecida popularmente como bugio-de-mãos-ruivas ou *Red-handed Howler*, ocorre ao sul do rio Amazonas, a oeste do rio Tapajós, ao leste para as ilhas do Marajó e Mexiana, no estado do Pará, e ao longo da Costa Atlântica brasileira até cerca de 40°W (Fonte: Veiga e colaboradores).

Apresentam pelagem preta com as mãos, pés e ponta da cauda avermelhadas, ocasionalmente se espalhando para todo o corpo (Liliana Cortés-Ortiz et al., 2015; Groves, 2001). *A. belzebul* está classificado como vulnerável na lista vermelha das espécies ameaçadas da IUCN (Veiga, Kierluff, & De Oliveira, 2008).

Figura 4. Representação da distribuição geográfica da espécie *Alouatta belzebul* segundo relatório da IUCN. Em amarelo regiões onde são encontrados indivíduos da espécie em vida livre.

Fonte: Veiga e colaboradores (2008)

A espécie *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812), conhecida popularmente como bugio-preto ou *Black Howler*, possui ampla distribuição, desde o norte da Argentina, Paraguai e Bolívia, até o Pantanal e partes do Cerrado e da Caatinga, no Brasil (Liliana Cortés-Ortiz et al., 2015)(Fonte: Fernandez-duque e colaboradores). Apresentam dicromatismo sexual, com pelagem preta nos machos e pelos amarelados ou rajados de amarelo acastanhado nas fêmeas. Animais juvenis se parecem com as fêmeas adultas; nos machos, os pelos claros desaparecem com o avançar da idade. Esta espécie possui um número diploide de $2n=52$, o qual não varia em espécimes de localidades distintas (Groves, 2001; Groves, 2005). *A. caraya* está classificado como pouco preocupante na lista vermelha das espécies ameaçadas da *International Union for Conservation of Nature* – IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza) (Fernandez-duque, Wallace, & Rylands, 2008).

Figura 5. Representação da distribuição geográfica da espécie *Alouatta caraya* segundo relatório da IUCN. Em amarelo regiões onde são encontrados indivíduos da espécie em vida livre.

Fonte: Fernandez-duque e colaboradores (2008)

A espécie *Alouatta seniculus* (Linnaeus, 1766), conhecida popularmente como bugio ruivo ou *Venezuelan Red Howler*, ocorre desde o baixo rio Truando, na Colômbia, estendendo-se ao sul e leste da Venezuela e noroeste do Brasil (Fonte: Boubli e colaboradores). Apresentam coloração de tonalidade dourada no corpo, contrastando com cabeça, ombros, membros, e parte proximal da cauda de coloração marrom (Groves, 2001; Groves, 2005). Córtes-Ortiz et al. (Liliana Cortés-Ortiz et al., 2015) consideram haver a possibilidade de existirem três subespécies de *A. seniculus*: *A. s. seniculus*, *A. s. juara* e *A. s. puruensis*. *A. s. juara* e *A. s. puruensis* estão classificadas como pouco preocupantes na lista vermelha das espécies ameaçadas da IUCN (Boubli, Di Fiore, Rylands, & Mittermeier, 2015a, 2015b).

Figura 6. Representação da distribuição geográfica das espécies *Alouatta seniculus puruenses* (A) e *Alouatta seniculus juara* (B) segundo relatório da IUCN. Em nosso estudo não identificamos a subespécie do animal estudado desta espécie. Em amarelo regiões onde são encontrados indivíduos da espécie em vida livre.

Fonte: Boubli e colaboradores (2015a, 2015b)

1.5 Pigmentos visuais de primatas

A existência de duas cópias de um mesmo gene permite que uma das cópias acumule mutações e eventualmente resulte em um novo gene, com nova função, enquanto que a outra cópia mantém a função antiga (Ohno, Kiyohara, & Simpson, 1970). Em vertebrados vemos diferentes classes de cones que evoluíram a partir de duplicações de um gene de uma opsina ancestral (Yokoyama & Shi, 2000). Assim, as duplicações de genes, seguidas por substituições de nucleotídeos são a base para a diferenciação funcional dos cinco grupos principais de opsinas encontrados nas retinas de diferentes espécies de vertebrados atuais (Fonte: Adaptado de Jacobs) (Hiramatsu, Radlwimmer, Yokoyama, & Kawamura, 2004; Yokoyama, 1997).

O conjunto dos pigmentos visuais dos vertebrados evoluiu há 500 milhões de anos e deriva de cinco classes de opsinas (Fonte: Adaptado de Jacobs) - quatro correspondentes a cones (Rh2, SWS1, SWS2, LMS) e uma de bastonete (Rh1). Dentro da classe Mammalia que evoluiu de um mesmo ancestral comum entre 150-200 milhões de anos atrás, incluindo Eutheria (placentados, como primatas), Metatheria (marsupiais) e Prototheria (monotremados), o padrão geral é de indivíduos dicromatas que possuem apenas duas famílias de cones (SWS1 e LMS) e uma de bastonete (Rh1) (Gerald H. Jacobs, 1993). Acreditava-se que a perda de duas famílias de opsinas em relação aos outros vertebrados (Rh2 e SWS2) dever-se-ia ao fato deste ancestral comum ter tido uma fase noturna em que a visão de cores seria severamente limitada. Dados mais recentes com ramos mais ancestrais de mamíferos mostram, porém, que alguns marsupiais australianos são tricromatas (Arrese, Hart, Thomas, Beazley, & Shand, 2002) e alguns monotremados herdaram um conjunto distinto de classes de opsinas do ancestral de vertebrados (Davies et al., 2007). Estes relatos trazem dúvidas acerca da evolução oriunda de um ancestral dicromata ou se o padrão dicromata surgiu em um ramo divergente dos monotremados.

Entre as exceções à regra geral de dicromacia nos mamíferos estão os mamíferos terrestres noturnos e os cetáceos, nestes dois grupos polifiléticos ocorreu uma perda funcional da classe de pigmento de cone SWS1 (Peichl, 2005). Este evento ocorreu em grupos distintos filogeneticamente e ocorreu mais de uma vez, caracterizado pela substituição ou deleção de um aminoácido, no gene que codifica a opsina, que torna a expressão proteica deste gene não-funcional (Bowmaker, 2008). Tan e colaboradores (Tan, Yoder, Yamashita, & Li, 2005) afirmam que animais sujeitos a variações, como o hábito noturno, teriam um relaxamento na pressão

seletiva sobre as opsinas para comprimentos de onda curto (S) e médio-longo (M/L) que facilitaria para que se tornassem não-funcionais.

Figura 7. Curva de sensibilidade espectral das opsinas de cones de mamíferos (SWS1 e LWS) e variação da faixa espectral das famílias de opsinas de vertebrados (SWS1, LWS, Rh1, SWS2 e Rh2)

Fonte: Adaptado de Jacobs (2009).

Embora em mamíferos a forma mais comum de visão de cores seja a dicromacia uniforme entre machos e fêmeas (G H Jacobs, 1996), em primatas encontramos dois grandes grupos com padrões de visão de cores diferentes. Os primatas do Velho Mundo (Catharrini), incluindo humanos, possuem visão tricromática, uniforme, com cones com pico de sensibilidade para comprimentos de onda curtos (S), e cones com sensibilidade máxima em comprimentos de onda médios (M) e longos (L). No caso dos cones S, a opsina é formada por 348 aminoácidos com peso molecular de 39135 Da (Nathans, Piantanida, Eddy, Shows, & Hogness, 1986; Shimmin, Miller, Tran, & Li, 1998) e o gene responsável pela opsina correspondente localiza-se no cromossomo autossômico 7, no locus 7q31.3-q32 (Nathans et al., 1986; Shimmin et al., 1998). Os dois outros tipos de cones, M e L, são codificados por dois genes distintos e ambos se localizam no braço longo do cromossomo X no locus Xq28 (Nathans et al., 1986). O gene LWS expressa o pigmento do cone L composto por 364 aminoácidos e peso molecular de 40572 Da (Nathans et al., 1986). O gene MWS expressa o pigmento do cone M composto por 364 aminoácidos e peso molecular de 40584 Da (Applebury & Hargrave, 1986; Nathans et al., 1986). Os primatas do Novo Mundo (Plathyrrini), em

geral possuem apenas um gene codificador de opsina no cromossomo X, porém apresentam uma grande variedade de alelos para este gene. Resultando em machos obrigatoriamente dicromatas e fêmeas que podem ser di ou tricromatas, dependendo da variedade de alelos para o cone para comprimentos longos presentes em cada um dos cromossomos X.

Em primatas, as mutações hoje observadas, provavelmente ocorreram após a segregação em primatas do Novo Mundo e primatas do Velho Mundo, há cerca de 40 milhões de anos, levando a mutações distintas entre os grupos (Hunt et al., 1998). Especula-se que em primatas do Velho Mundo houve uma duplicação do gene LWS, antes da radiação das espécies, levando à tricromacia uniforme entre machos e fêmeas, e nos primatas do Novo Mundo a hipótese é de que houve sequências de mutações, originando uma gama de alelos possíveis e o polimorfismo entre machos e fêmeas (Tabela 2)

Tabela 2. Indicação dos aminoácidos presentes nas opsinas nas principais posições envolvidas na determinação do pico de sensibilidade espectral de cone M/L em gêneros de primatas do Novo Mundo

Pico de Absorção (nm)	Gênero	Posição 180	Posição 277	Posição 285
562	<i>Cebus, Saimiri, Callithrix, Saguinus, Alouatta</i>	Serina	Tirosina	Treonina
556	<i>Cebus, Callithrix, Saguinus, Aotus</i>	Alanina	Tirosina	Treonina
550	<i>Cebus, Saimiri</i>	Alanina	Fenilalanina	Treonina
543	<i>Cebus, Callithrix, Saguinus</i>	Alanina	Tirosina	Alanina
535	<i>Cebus, Saimiri, Alouatta</i>	Alanina	Fenilalanina	Alanina

Fonte: Jacobs (2008).

Entre as opsinas M e L de primatas do velho mundo, existe uma identidade de 96% nas sequências de aminoácidos, as quais são, portanto, muito semelhantes entre si. Entretanto as opsinas M/L são menos similares às do cone S, possuindo apenas 46% de semelhança entre si (Nathans et al., 1986). A mudança no pico de sensibilidade espectral dos cones M e L é causada pela mudança de poucos aminoácidos, dos quais três aminoácidos responsáveis pela maior parte da diferença

são expressos pelos éxons 3 e 5, localizados nos sítios 180 (Ser - serina ou Ala - alanina), 277 (Tyr - tirosina ou Phe - fenilalanina) e 285 (Thr - treonina ou Ala - alanina) (Hiramatsu et al., 2004; Kawamura, Hirai, Takenaka, Radlwimmer, & Yokoyama, 2001; Neitz, Neitz, & Jacobs, 1991; A. Saito et al., 2005; Williams, Hunt, Bowmaker, & Mollon, 1992; Yokoyama & Radlwimmer, 1999) (Fonte: Adaptado de Jacobs). O efeito de cada substituição já é bem conhecido e é possível inferir a curva de absorbância do fotopigmento por meio da combinação desses três aminoácidos nessas posições (Asenjo, Rim, & Oprian, 1994; D. M. Hunt, Williams, Bowmaker, & Mollon, 1993; Neitz et al., 1991).

Figura 8. Representação esquemática de uma opsina de cone M/L de primatas. Os aminoácidos indicados em círculos coloridos têm seu papel na mudança do pico de sensibilidade espectral do cone conhecido. No quadro em destaque as três posições críticas de mudança, a indicação da substituição e seu efeito no deslocamento do pico de sensibilidade espectral

Fonte: Adaptado de Jacobs (2008).

Apesar de o padrão polimórfico de machos dicromatas e fêmeas com potencial para di- ou tricromacia ser majoritário entre os primatas do Novo Mundo, dois gêneros apresentam padrões únicos. Um deles é o *Aotus* (macaco-da-noite), único gênero de primatas com hábitos noturnos, que não apresenta cone S viável (Wikler & Rakic, 1990), tendo apenas um cone M/L (pico 530nm), causado por uma mutação no gene da opsina do cone S que impede a expressão da proteína, semelhante a outros

mamíferos noturnos (G H Jacobs, 1996). O outro é o gênero *Alouatta*, que possui dois genes diferentes codificadores de opsina no seu cromossomo-X semelhante aos primatas do Velho Mundo (Gerald H. Jacobs, Neitz, Deegan, & Neitz, 1996) (Fonte: adaptado de Gilad, Wiebe, Przeworki, Lancet e Pääbo). Todavia, em primatas do Velho Mundo ocorre uma única região de controle de locus (LCR) anterior ao par de alelos e que se supõe ser responsável por determinar qual gene será expresso; em *Alouatta*, uma região de controle de locus está presente anteriormente a cada um dos genes, sugerindo que tanto a opsina quanto a região promotora estão duplicadas neste gênero, e que a tricromacia teria uma etiologia diferente comparada com primatas do Velho Mundo (Dulai, Von Dornum, Mollon, & Hunt, 1999; Hunt et al., 1998).

Figura 9 Esquema representativo da filogenia de primatas. Em vermelho a ocorrência de alta proporção de pseudogenes no receptor olfativo característica comum às espécies com padrão genético associado à visão tricromática.

Fonte: adaptado de Gilad, Wiebe, Przeworki, Lancet e Pääbo (2004).

É importante ressaltar que a visão de cores depende de um processamento em vários estágios, no qual os fotorreceptores correspondem a um “primeiro estágio” (De Valois & De Valois, 1993). Portanto, para que a visão de cores de um indivíduo seja funcional, é necessária uma integração dos vários estágios do processamento visual. Acerca desse processamento podemos ressaltar que ele já começa na própria retina (Polyak, 1941) e entre as diversas estruturas que o compõem, o sistema midget-parvocelular é responsável por transmitir sinais responsáveis pela visão no eixo verde-

vermelho, dependente de dois ou mais cones sensíveis a comprimentos de onda médios/longos, típica de indivíduos tricromatas (Barry B. Lee, Martin, & Grünert, 2010).

Na retina de primatas, cada cone da região central faz contato com uma única célula on-bipolar e uma única off-bipolar e cada uma dessas bipolares faz, majoritariamente, contato com uma única célula ganglionar do tipo midget. Portanto, neste sistema existe uma especificidade da informação passada para a camada de células ganglionares proveniente, majoritariamente, ou de um cone M ou de um cone L. Esta informação é enviada da retina para o cérebro pelo sistema parvocelular, responsável por mediar a oponência verde-vermelho (Barry B. Lee et al., 2010). Tanto primatas do Velho Mundo (tricromatas) quanto primatas do Novo Mundo (machos dicromatas) apresentam a estrutura um para um de contato de cones com as células bipolares do tipo midget (Chan, Martin, Clunas, & Grünert, 2001; L. C. Silveira, Lee, Yamada, Kremers, & Hunt, 1998) assim como os mecanismos pós-receptoriais necessários para a tricromacia (Kremers et al., 1999; B B Lee et al., 2000; Yamada, Marshak, Silveira, & Casagrande, 1998). Diversos outros estudos comparando primatas do Velho Mundo com primatas do Novo Mundo têm mostrado uma preservação da densidade e estrutura dos componentes da retina, reforçando a teoria de que a estrutura da retina não é afetada pelo padrão de expressão de opsinas M/L nos cones (Finlay et al., 2008; Ghosh, Goodchild, Sefton, & Martin, 1996; Jusuf, 2006; Wilder, Grünert, Lee, & Martin, 1996). Mancuso e colaboradores (2009) aplicaram técnicas de terapia gênica em um macho de mico-de-cheiro (*Saimiri* sp.), uma espécie de primata neotropical e mostraram que este passou a exibir visão tricromática. Evidenciando que, possivelmente, todas espécies de primatas neotropicais têm o aparato pós-receptoral para a tricromacia, sendo limitados apenas pela expressão gênica de dois ou três genes codificadores de opsinas.

1.6 Estudos anteriores com *Alouatta*

Jacobs e colaboradores (1996) foram os primeiros a encontrar evidências da tricromacia uniforme no gênero *Alouatta*, através de eletrorretinogramas (ERG) e a análise genética de uma fêmea *A. seniculus* e uma *A. caraya*, dois machos *A. seniculus* e quatro machos *A. caraya*. Eles observaram a presença de genes para duas variações de opsinas de comprimento de onda médio-longos com pico de absorção em 530 e 562nm.

Esse conjunto de fatores despertou um grande interesse no estudo do gênero *Alouatta*, que poderia indicar o aparecimento de uma tricromacia funcional no ramo de primatas do Novo Mundo. Em uma revisão dos estudos feitos nesse gênero encontramos análises eletrofisiológicas, indicando uma oponência verde-vermelho nas células ganglionares (Saito et al., 2004), uma análise morfológica da retina em que a única diferença foi uma alta densidade de cones na fóvea (L. L. Silveira, Zurawski, Parsons, & Finlay, 2004), e uma análise mais recente na qual se identificou que o número de cones, bipolares e ganglionares na retina de *Alouatta* é semelhante ao de outros primatas, e revelou que o aumento de cones na região central da retina é oriundo de um deslocamento de cones de regiões próximas, causando essa maior densidade central e uma diminuição da densidade na região adjacente (Finlay et al., 2008; Muniz et al., 2014) (Figura 10). Silveira e colaboradores (L. C. L. Silveira et al., 2014) evidenciaram que as vias visuais, incluindo a via parvocelular, de *Alouatta* são similares à de outros primatas do Novo e do Velho Mundo, sugerindo que esta organização funcional estivesse presente antes da divisão desses dois grupos há 40 milhões de anos. Através de microespectrofotometria Silveira e colaboradores (L. C. L. Silveira et al., 2014) observaram em dois machos de *A. caraya* picos de absorção espectral para comprimentos de onda médios 530 nm e para comprimentos de onda longos em 558 nm compatíveis com os encontrados por Jacobs e colaboradores (Gerald H. Jacobs et al., 1996).

Araújo Jr. e colaboradores (2008) avaliaram três machos e uma fêmea de *A. caraya* com um experimento comportamental baseado em pares de confusão e observaram tricromacia uniforme em machos e fêmeas. Matsushita e colaboradores (2014) estudaram outras duas espécies, *A. palliata* e *A. pigra*, observaram machos e fêmeas tricromatas na população, mas encontram a presença de genes híbridos de M/L e por reconstituição da opsina estimaram picos de absorção intermediários de 554 ou 547 nm para híbridos de *A. palliata* e 546 nm em *A. pigra*. Estes estudos demonstram a

capacidade de visão tricromática de *Alouatta* e sua variabilidade, tornando necessárias avaliações quantitativas da visão de cores no gênero associadas a estudos genéticos para ajudar a elucidar a história filogenética e fazer inferências sobre a evolução da visão tricromática no gênero.

Figura 10. Distribuição de células ganglionares e de cones na região central da retina de *Alouatta* e *Cebus*. A comparação evidencia uma maior concentração de cones na foveola às custas de uma diminuição nas regiões adjacentes em *Alouatta* (A) quando comparada com a mesma região em *Cebus* (B). Número cumulativo de cones na retina com o aumento da excentricidade para as duas espécies (C) e Número cumulativo de células ganglionares na retina com o aumento da excentricidade para as duas espécies (D).

Fonte: adaptado de Muniz e colaboradores (2014).

1.7 Importância evolutiva da tricromacia

Especula-se que os ancestrais de mamíferos eram animais noturnos e sofreram pressões evolutivas que os regrediram à dicromacia, apresentando apenas cones S e Cones L, característica comum à maioria dos mamíferos. Diferentemente desse padrão, em primatas do Velho Mundo e *Alouatta* houve o surgimento de tricromacia uniforme, já em primatas do Novo Mundo pode-se encontrar tricromacia alélica (em que apenas algumas fêmeas são tricromatas) (Surridge, 2003).

Diversas hipóteses são levantadas, ainda sem consenso, para a causa do surgimento da tricromacia em primatas e suas consequências. As teorias mais aceitas se baseiam na afirmação de que o ganho representado pela tricromacia auxilia no forrageio, ao permitir uma discriminação do alimento pelo matiz. Por um lado, defende-se a hipótese da frugivoria, na qual a necessidade de discriminação de frutas entre as folhagens verdes das árvores teria favorecido a seleção da tricromacia (Osorio & Vorobyev, 1996; B. C. Regan et al., 2001; Smith, 2003; A. K. Surridge & Mundy, 2002), por outro lado existe a hipótese da folivoria, na qual a tricromacia seria selecionada pela necessidade da discriminação de folhas mais novas e de coloração mais avermelhada entre a folhagem verde (N J Dominy & Lucas, 2001; Nathaniel J. Dominy, Garber, Bicca-Marques, & de O. Azevedo-Lopes, 2003). Stoner e colaboradores (2005) analisaram a dieta de Atelinae, grupo simpátrico de primatas do Novo Mundo que contém o gênero *Alouatta*, com visão tricromática e *Ateles* com visão dicromática, e não evidenciaram diferença na escolha de frutos pelo matiz, mas um maior consumo por parte de *Alouatta* de folhas mais jovens e mais avermelhadas, que são mais proteicas que as de tons esverdeados; demonstrando uma possível utilidade fisiológica para a discriminação de folhas pelo matiz. Gilad e colaboradores (2004) demonstram que o surgimento da tricromacia está ligada à deterioração do repertório olfativo, sugerindo que a aquisição da tricromacia diminui a necessidade da utilização de pistas olfativas. Outra possibilidade que não pode ser descartada é que seja apenas um evento de baixa probabilidade (Gerald H. Jacobs et al., 1996) e assim como as outras hipóteses, uma vez que a tricromacia tenha surgido em primatas, ela pode ter sido recrutada por outras finalidades que não estivessem inicialmente ligadas com as pressões evolutivas que levaram a manutenção da característica (Allen, 1879), como, por exemplo, sinalização intraespecífica (e.g. display, fertilidade, dominância entre outros).

1.8 Testes de visão de cores

Apesar de os estudos genéticos e morfofisiológicos oferecerem uma base a respeito da visão de cores dos indivíduos, os testes comportamentais, nos quais o indivíduo seja “forçado” a escolher com base apenas em pistas visuais, evidenciam a capacidade dele de discriminar os estímulos apresentados, demonstrando de forma comparável o funcionamento de todo o conjunto genético/fisiológico (Gerald H. Jacobs, 1993). Recentemente, estudos comportamentais com *Alouatta caraya* realizados por Araújo Jr. e colaboradores (2008) com três machos e uma fêmea, observaram, por meio de uma versão adaptada do teste de Munsell, um desempenho dos machos superior ao de machos de outros gêneros e semelhante a fêmeas de *Alouatta*. Uma característica crítica no delineamento de testes de visão de cores é que sejam eliminadas todas outras formas de pistas, de forma que o desempenho dos sujeitos fique sob controle restrito das variações de comprimento de onda.

Uma característica muito importante a ser controlada em testes de discriminação de cores é o brilho, mesmo que se apresentem alvos com a mesma intensidade luminosa, o sistema visual tem uma eficácia de captura dos fótons distinta para cada comprimento de onda (Figura 11) (Dain, 2004). E, também, devido a limitações intrínsecas aos métodos de reprodução de matizes planejados, há a formação de uma fronteira virtual (artefato de borda) entre o alvo e o fundo que demarca o alvo, independentemente de sua composição espectral.

Figura 11. Eficácia luminosa relativa para comprimentos de onda do espectro visível. Conjunto de dados de sistema visual humano.

Fonte: adaptado de: www.handprint.com/HP/WCL/color1.html

Estes artefatos podem ser minimizados e até são corrigidos ao se utilizar um alvo e fundo compostos por partes, cada uma com seu contorno e variação aleatória de brilho (Stilling, 1877). Posto que a área a ser distinguida não possui uma forma sólida e sim um conjunto de objetos com suas próprias bordas assim como o fundo, elimina-se o artefato de borda. Com uma variação aleatória de brilho para cada objeto da matriz do alvo e do fundo, a variação da eficácia luminosa para cada comprimento de onda se confunde com a variação global de brilho. Estas características foram incorporadas nos testes pseudoisocromáticos, como o *Cambridge Colour Test (CCT)*, (Figura 12) versão disponibilizada comercialmente pela *Cambridge Research Systems* (Rochester, UK) do teste de discriminação de cor de Mollon-Reffin (Mollon & Reffin, 1989, 2000; Regan, Reffin & Mollon, 1994).

Figura 12. Exemplo do arranjo de estímulos utilizado originalmente no teste Cambridge Colour Test (CCT), demonstrando um teste pseudoisocromático que utiliza as estratégias de um alvo e fundo compostos por matriz de objetos com bordas individuais e variação aleatória de brilho propostas por Stilling (1877).

Fonte: *Handbook of Cambridge Colour Test* (2000)

Além das variáveis a serem controladas já descritas, a variável com a qual se deve ter o maior controle para o teste é o matiz. Dain (2004) em sua revisão sobre teste de visão de cores, ressalta que, para que o teste de visão de cores seja eficaz, é importante que os matizes a serem comparados estejam próximos das linhas de confusão previstas para a espécie. A adaptação do CCT feita por Goulart e colaboradores (2008) faz uso das mesmas linhas de confusão do diagrama CIE 1976 u'v' (Figura 13). Ainda que este tenha sido planejado para humanos, a adoção do diagrama CIE com esses animais é justificada pela grande semelhança entre as sensibilidades espectrais de seus fotopigmentos M/L e os de primatas do Novo Mundo como macacos-de-cheiro (Gerald H Jacobs & Deegan, 2003; Mancuso, Neitz, & Neitz, 2006) e macacos-prego (Goulart, Bonci, Galvão, Silveira, & Ventura, 2013).

Figura 13. Linhas de confusão estimadas para as formas Protan, Deutan e Tritan de dicromacia humana, plotadas em um diagrama de cromaticidade CIE 1976 $u'v'$

Fonte: Dain (2004).

O diagrama de cromaticidade CIE 1976 $u'v'$ (Figura 14) é um espaço de cor que foi aprimorado ao longo do tempo e conta com algumas características que o tornam ideal para este tipo de estudo: os pontos do contorno da figura representam luzes monocromáticas com saturação máxima e correspondem a apenas um comprimento de onda, tomando-se um destes pontos do contorno como origem, os pontos entre este e o centro do diagrama apresentam valores decrescentes de saturação. Este estudo utilizou três pontos ($u'=0,1977$; $v'=0,4689$, $u'=0,1925$; $v'=0,5092$ e $u'=0,2044$; $v'=0,4160$) como matiz correspondente ao fundo. Para alvo utilizou 20 vetores igualmente espaçados, distando 18° entre si, de forma que seu conjunto forma uma circunferência com 360° em torno do ponto acromático. Dessa forma cada vetor em sua distância máxima representa um comprimento de onda altamente saturado e, em sua distância mínima, aproxima-se do ponto central até que se torne indistinguível do ponto de fundo. Se o vetor coincidir ou se aproximar da linha de confusão para o sujeito experimental, este deve cometer erros em alvos altamente saturados, mesmo distantes do ponto do fundo; caso não esteja próximo de uma linha de confusão prevista para a espécie ou o sujeito seja tricromata (não ocorrem linhas de confusão para tricromatas no diagrama CIE 1976 $u'v'$), os erros devem ocorrer próximos do ponto do fundo.

Figura 14. Diagrama de cromaticidade CIE 1976 $u'v'$. Espaço de cor que demonstra cores visíveis para a espécie humana, onde a borda externa corresponde a cores monocromáticas correspondentes a um único comprimento de onda. Ao se afastar das bordas, ocorre mistura de cores, chegando até pontos com componentes de todos comprimentos de onda, acromáticos, visivelmente brancos. O triângulo inscrito no diagrama é uma representação esquemática do limite de reprodução de cor do monitor (gamut). E os eixos numerados de 1 a 20 representam o posicionamento dos vetores em relação ao ponto central relativo à cromaticidade do fundo.

Fonte: Adaptado do diagrama de cromaticidade CIE 1976 $u'v'$

1.9 Justificativa

Este trabalho apresenta uma grande relevância científica, visto que ainda existe uma literatura incompleta acerca da visão de cores de primatas do Novo Mundo. Apesar de evidências recentes apontarem para diferenças exclusivas ao gênero *Alouatta* dentre os primatas do Novo Mundo (Araújo et al., 2008; Gerald H. Jacobs et al., 1996; Matsushita et al., 2014; Muniz et al., 2014; L. L. Silveira et al., 2004) ainda carecem de estudos que envolvam várias espécies do gênero e associem uma análise comportamental quantitativa à análise genética. Pode-se ressaltar, também, que a proximidade com a espécie humana torna os primatas um grupo de interesse para estudos clínicos. Este estudo foi realizado por meio de uma versão modificada do teste computadorizado *Cambridge Colour Test* (CCT), previamente utilizado em humanos adultos, o qual foi adaptado para eliminar a necessidade de instruções, em estudo com crianças (Goulart et al., 2008) e utilizado com sucesso em primatas do Novo Mundo (Paulo Roney Kilpp Goulart et al., 2013). Este teste oferece uma medida quantitativa da visão de cores ao determinar limiares de discriminação da diferença cromática entre alvo e fundo definidos em matizes potencialmente indiferenciáveis para indivíduos dicromatas (Mollon & Reffin, 1989, 2000; B. Regan et al., 1994) permitindo a composição de elipses de discriminação. E uma análise genética através do sequenciamento dos genes que codificam as opsinas e a identificação dos aminoácidos em posições críticas, que causam maior deslocamento da curva de absorção espectral, para assim inferir as curvas espectrais para os cones para comprimentos de onda médios/longos.(Bonci, 2011). Buscamos neste estudo estabelecer um procedimento comportamental capaz de modelar a resposta de indivíduos mais arredios e menos engajados na tarefa proposta, para assim ampliar a identificação das formas de visão de cores presentes em indivíduos de outras espécies de primatas do Novo Mundo ainda não estudadas ou que apresentem arranjos genótipo/fenótipo para a visão de cores diferentes do padrão geral de primatas do Novo Mundo.

1.10 Objetivos

O presente estudo buscou avaliar a discriminação de cores em primatas do gênero *Alouatta* (Bugio), utilizando-se duas metodologias de diferentes abordagens.

O experimento comportamental consistia em uma adaptação do teste computadorizado *Cambridge Colour Test* (CCT) e objetivava determinar elipses de discriminação de cor para três fundos de diferentes cromaticidades do diagrama CIE 1976 $u'v'$,

A análise genética foi feita através do sequenciamento dos genes que codificam as opsinas, a qual serviu de parâmetro para a determinação do arranjo genótipo/fenótipo dos indivíduos e permitiu a construção das curvas de absorção espectral previstas para o gênero.

MÉTODOS

2. MÉTODOS

2.1 Sujeitos

Para a avaliação da visão de cores do gênero *Alouatta* foram estudados seis indivíduos experimentalmente ingênuos (Figura 15), identificados com mais detalhes na Tabela 3. Durante os experimentos os sujeitos permaneceram no local onde se encontram alojados, o Centro Nacional de Primatas (CENP) em Ananindeua, Pará. Neste local, ficavam alojados individualmente ou em grupos familiares de até quatro indivíduos em recintos de 2,5m de largura por 4m de profundidade por 2,3m de altura, conectados por uma janela de comunicação a um outro recinto idêntico que pode ser aberta por fora (Figura 16). Cada recinto era lavado diariamente, e durante este período os animais eram transferidos para o recinto anexo. A dieta dos animais era composta de ração e água à vontade, que eram renovadas duas vezes ao dia, enriquecida com uma variedade de frutas (*e.g.* banana, laranja, melancia) e folhas (*e.g.* couve) servidas diariamente. Duas vezes por semana era oferecido suco ou leite e uma vez por semana era entregue um conjunto de folhas de embaúba para os *Alouatta*, sendo esta folha parte da dieta natural desses indivíduos. Os galpões onde se localizavam os recintos possuíam iluminação natural atenuada por um telhado opaco, oferecendo um ciclo de aproximadamente 12h/12h de claro e escuro, variando, naturalmente, ao longo do ano. Os testes foram realizados *in situ*. O equipamento de coleta era adaptado na gaiola-geminada vazia e quando pronto transferiam-se os sujeitos um de cada vez para realizar a coleta de dados, retornando-os para seu recinto de origem, após o fim da sessão.

2.2 Comitê de ética

Todos os testes foram aprovados pelo comitê de ética e uso animal (CEPAN n°33/2011) do CENP em Ananindeua, Pará,

Figura 15. Fotos dos sujeitos experimentais do gênero *Alouatta* em seus respectivos recintos, onde se realizavam as coletas (*in situ*). Da esquerda para a direita de cima para baixo: F2, F1, M1, M2, M3 e M4.

Fonte: Leonardo D.Henriques

Tabela 3. Lista de Sujeitos experimentais do Gênero *Alouatta*, com informação de origem, idade, e dados de rastreo do indivíduo.

Sujeito	Espécie	Primata	Nº Chip	Origem	Recinto	Dt Nasc.	Sexo	Faixa	Nome
M1	<i>A. caraya</i>	BAB	039.287.041	CENP	24	25/05/2005	M	Adulto	Tim
M2	<i>A. caraya</i>	BAE	977.200.005.647.805	PCH Anhanguera-SP	23	1/3/2006	M	Adulto	Scar
M3	<i>A. caraya</i>	BAA	039.364.064	CENP	17*18	4/2/2002	M	Adulto	Cesar
F2	<i>A. belzebul</i>	AQ-03	039.529.596	IBAMA - PA	15*16	1/5/2011	M	Juvenil	Xorão
F1	<i>A. seniculus</i>	AAA(S)	039.263.376	doação particular	15*16	2/2/2000	F	Adulto	Seni
M4	<i>A. belzebul</i>	AAA	039.339.060	IBAMA - PA	09*10	18/02/2005	M	Adulto	Amigo

Figura 16. Foto de um casal de *Alouatta* utilizados no experimento, alojado em gaiola-viveiro do CENP.

Fonte: Leonardo D. Henriques

2.3 Aparato

O aparato experimental (Figura 17) consiste num computador embutido em um rack móvel que permitia seu deslocamento para o local de coleta. O teste utilizado consiste em uma adaptação para sujeitos não-verbais do *Cambridge Colour Test* (CCT v2.0 – Cambridge Research Systems, Rochester, UK) já validada por Goulart e colaboradores (2008). A geração de estímulos é feita por meio do sistema ViSaGe (*Cambridge Research Systems*), que permite resolução de cor de 16-bits e controle de luminância. As tentativas são apresentadas em um monitor CRT Diamond Pro 2070SB (Mitsubishi) que recebe comandos de toque graças a uma tela CarrolTouch Infrared (Elo TouchSystems) afixada à frente do mesmo. O toque foi identificado por meio de um retículo de LEDs infravermelhos, sem a necessidade de uma superfície sensível sobreposta ao monitor (Figura 8). Desse modo, a interface de toque não impõe qualquer alteração à imagem apresentada na tela. Durante os experimentos, ele era justaposto à janela de comunicação do recinto do indivíduo testado (Figura 9).

Figura 17. Aparato para avaliação de visão de cores, embutido em armário tipo rack móvel e câmara experimental de acrílico com dois comedouros onde caíam as pelotas utilizadas como recompensa e, na abertura era posicionado o monitor sensível ao toque .

Fonte: Leonardo D. Henriques

Figura 18. Diagrama da configuração do aparato necessário à realização das sessões experimentais. O computador é utilizado para definir os parâmetros da sessão, como cor do alvo e do fundo, saturação máxima e intervalo entre tentativas. O Visage é um gerador de estímulos da *Cambridge Research System*, que comanda o monitor CRT onde os estímulos são apresentados para o sujeito experimental. Toques na tela são identificados por um retículo de LEDs infravermelhos que enviam a informação ao computador que compara a área tocada com o estímulo programado. Se o toque ocorrer na região alvo, o computador ativa um dispensador automático de reforço, disponibilizando o reforço para o sujeito experimental.

Figura 19. Vista do aparato experimental justaposto à janela de comunicação, posicionamento em que se realizavam a coleta de dados. Visão do experimentador, de dentro do recinto (A) e ponto de vista externo do corredor central (B).

Fonte Leonardo D. Henriques

2.4 Estímulo

Utilizou-se neste estudo uma avaliação comportamental da visão de cores baseada no *Cambridge Colour Test* em versão adaptada por Goulart e colaboradores (2013). Esta versão consiste em um teste pseudoisocromático, composto por um fundo formado por uma matriz de círculos de tamanhos variáveis e brilho variando entre seis valores no intervalo entre 7 cd/m^2 e 15 cd/m^2 e um alvo composto da mesma maneira, na forma aproximada de um quadrado de 5cm de lado, com um valor de cromaticidade diferente do fundo (Figura 20). Este arranjo permite que o sujeito experimental discrimine o alvo do fundo, baseado apenas na diferença de matiz entre eles, sem que haja pistas de luminância ou de contorno.

O matiz do fundo era definido inicialmente em um ponto do diagrama CIE 1976 $u'v'$ e o matiz do alvo era determinado por vinte vetores predefinidos que passavam pela cor do fundo. Cada vetor corresponde a um matiz no diagrama CIE 1976 $u'v'$ (Tabela 4). Inicialmente a cromaticidade do alvo encontrava-se o mais distante possível do fundo ($d=0,110$) no ponto que corresponde à saturação máxima do matiz. À medida que o indivíduo progredia no teste, acertando a localização do alvo, essa distância ia sendo reduzida até o valor mínimo ($d=0,020$), diminuindo assim a saturação do matiz, aproximando o alvo do fundo acromático. Quando o sujeito dava uma resposta errada a cromaticidade do alvo era afastada da cromaticidade do fundo. .

Figura 20. Exemplo do arranjo de estímulo utilizado no teste adaptado por Goulart e colaboradores (2008). Estímulo sobre fundo com a mesma luminância média. A substituição do alvo da abertura do C de Landolt utilizado no teste original (*Cambridge Colour Test*) para um conjunto de círculos em um formato aproximado de quadrado que pode ser apresentado em nove locais da tela sensível. Esta modificação permite a utilização do teste com indivíduos não-verbais.

Fonte: Goulart e colaboradores (2013)

Tabela 4. Coordenadas do diagrama CIE 1976 $u'v'$ referentes à cromaticidade dos parâmetros para a realização do teste. Cromaticidade da matriz que compõe o ruído de fundo e das distâncias máximas dos vetores utilizados como alvo no teste de discriminação de cores.

	Elipse 1		Elipse 2		Elipse 3	
	u'	v'	u'	v'	u'	v'
Fundo	0.198	0.469	0.193	0.509	0.204	0.416
1	0.208	0.472	0.196	0.51	0.211	0.418
2	0.204	0.474	0.198	0.513	0.208	0.418
3	0.204	0.478	0.195	0.513	0.208	0.421
4	0.199	0.474	0.196	0.521	0.207	0.423
5	0.198	0.477	0.193	0.52	0.204	0.43
6	0.195	0.478	0.19	0.518	0.2	0.43
7	0.192	0.477	0.186	0.519	0.196	0.427
8	0.19	0.474	0.189	0.512	0.197	0.422
9	0.185	0.473	0.184	0.512	0.198	0.418
10	0.192	0.469	0.179	0.509	0.199	0.416
11	0.181	0.464	0.183	0.506	0.199	0.414
12	0.19	0.464	0.183	0.502	0.197	0.411
13	0.192	0.46	0.187	0.502	0.198	0.407
14	0.194	0.458	0.19	0.502	0.203	0.41
15	0.198	0.457	0.193	0.497	0.204	0.399
16	0.201	0.459	0.195	0.502	0.211	0.396
17	0.202	0.464	0.198	0.502	0.222	0.392
18	0.201	0.466	0.207	0.498	0.215	0.409
19	0.204	0.467	0.197	0.508	0.212	0.414
20	0.205	0.469	0.199	0.509	0.211	0.416

2.5 Procedimento

Realizaram-se sessões experimentais diariamente com duração de aproximadamente uma hora, dependendo do desempenho dos indivíduos. O teste podia ser encerrado após 100 tentativas. As sessões ocorreram entre as 10 e 15 horas. Para que os sujeitos experimentais realizassem o teste, eles tiveram que passar por uma extensa modelagem comportamental composta das seguintes etapas:

2.5.1 Adaptação inicial

Nesta fase os sujeitos, inicialmente arredios, deviam entrar em contato com o experimentador e com a recompensa utilizada no estudo (pelotas de 190 mg sabor banana). As pelotas eram liberadas por um dispensador automático de pelotas dentro de um comedouro fixo à câmara experimental. O sujeito passava para a próxima fase, uma vez que o som das pelotas caindo no comedouro, fosse estímulo suficiente para fazer com que ele se deslocasse até o comedouro para buscar a pelota.

2.5.2 Adaptação ao toque na tela

Uma vez adaptado a buscar pelotas, o sujeito recebia pelotas, inicialmente, por se posicionar na abertura do monitor e olhar diretamente para a tela, modelando aos poucos até que ele recebesse pelotas por tocar na tela sensível.

2.5.3 Refinamento do toque

Nesta etapa eram apresentados alvos com um matiz considerado fácil, ou seja, fora das linhas de confusão previstas para humanos, com luminância fixa de 13cd/m^2 e com saturação máxima em um fundo preto. Partindo de uma situação em que o sujeito encontrava-se tocando indiscriminadamente na tela, a liberação do reforço era extinta nas áreas mais distantes do alvo. À medida que o indivíduo, consistentemente, evitasse toques em áreas da tela que não desencadeavam o reforço, diminuía-se a região de tolerância em que ocorria a liberação do reforço. O sujeito só passava para a próxima etapa quando os toques ocorressem somente sobre o alvo.

2.5.4 Treino de discriminação de matiz

Nesta etapa alteravam-se uma a uma as características do estímulo até que o sujeito estivesse adaptado a um estímulo semelhante ao utilizado no teste. Inicialmente, com o toque ocorrendo sobre o alvo no fundo preto, aos poucos se incrementava a luminância da matriz de

círculos do fundo até que ficasse igual à do alvo (13cd/m^2), tornando-o discriminável apenas pela diferença de matiz. Ainda com matizes de fácil discriminação em relação ao fundo, a dificuldade da tarefa era aumentada, gradualmente, à medida que o sujeito encerrava com sucesso a sessão, até que a saturação do alvo fosse sendo progressivamente alterada de uma distância alvo-fundo máxima $d=0,11$ até a mínima $d=0,020$, nas primeiras sessões. A distância mínima era gradativamente reduzida até $d=0,002$, caso o indivíduo discriminasse o alvo do fundo no valor mínimo. Uma vez que o sujeito encerrasse a sessão na distância alvo-fundo mínima nos vetores de treino, por duas sessões consecutivas, encerrava-se a diminuição da distância mínima alvo-fundo e submetia-se o sujeito a uma sessão de simulação de teste, em que se utilizavam os critérios do teste apenas com vetores fáceis. Em caso de conclusão da simulação, o sujeito era considerado apto para a fase de teste.

2.5.5 Teste de visão de cores

O teste consistia na avaliação do limiar em que o indivíduo conseguia discriminar o alvo do fundo em vinte vetores definidos, ao dividir igualmente a circunferência a partir do ponto central. Os limiares para cada vetor eram obtidos através de um método de escada, no qual erros aumentavam a diferença alvo-fundo e acertos diminuía a mesma. Erros seguidos de acerto e acertos seguidos de erro levavam à "reversão" do sentido do teste. Cada vetor era encerrado após onze reversões, e a média das sete últimas reversões era tomada como valor aproximado do limiar de discriminação de matiz para aquele vetor. Em cada sessão avaliava-se um subconjunto de vetores, dependendo da capacidade de cada indivíduo ater-se à tarefa. Durante o teste, o software apresentava os vetores alternadamente, mantendo uma escada para o vetor, variando aleatoriamente a posição do alvo em relação ao fundo em uma das quatro posições predefinidas e variando a saturação do alvo de acordo com cada etapa da escada. Ao final do teste, o software gerava um relatório com todas as tentativas e com os limiares para cada vetor.

2.6 Coleta de sangue

Para a coleta de sangue, os animais foram sedados com a combinação de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam (10mg/Kg). O sangue foi coletado da veia femoral com uma agulha 22G hipodérmica acoplada a um tubo de vácuo, contendo citrato de sódio. Após a coleta de sangue, o animal era recolocado no chão em um recinto vazio até que se recuperasse completamente e só então era devolvido ao recinto de origem.

2.7 Análise genética

A análise genética foi realizada no laboratório de Psicofisiologia Sensorial do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo em parceria com o Instituto Israelense de Ensino e Pesquisa Albert Eistein. O DNA das amostras foi purificado com o Gentra Puregene Blood kit (Gentra Systems, Inc., Minneapolis, Minn., USA). Os primers utilizados para amplificação dos éxons 3 e 5 foram os mesmos descritos por Mancuso et al. (2006). Para o éxon 3, os pares foram: 5'GGATCACGGGTCTCTGGTC (forward) e 5'CTGCTCCAACCAAAGATGG (reverse); e para o éxon 5 os pares foram 5'GTGGCAAAGCAGCAGAAAG (forward) e 5'CTGCCGGTTCATAAAGACATAG (reverse). As condições de PCR utilizadas para os éxons 3 e 5 foram idênticas com exceção da temperatura de anelamento (TA) de 61° para o éxon 3 e 59° para o éxon 5. Os ciclos de temperatura foram de 95° por 9 min, 37 ciclos de 94° por 45 seg, TA por 45 seg, 72° por 45 min e por último uma temperatura de extensão de 72° por 7 min. Após a reação de PCR, foi realizada uma eletroforese do produto da reação em gel de agarose a 2%. As amostras amplificadas foram mantidas a 4°C até o momento do sequenciamento. O produto da PCR foi sequenciado diretamente em ambos os sentidos no Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Eistein com o BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Inc.) e o 3500 Applied Biosystems Sequencer. A sequência de nucleotídeos foi analisada no BioEdit v7.0.9.0 (Hall, 1999), usando o método de alinhamento ClustalW.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1 Modelagem experimental

A coleta com os *Alouatta* teve início em maio de 2012 e foi finalizada em julho de 2015. Seis indivíduos foram testados (quatro machos e duas fêmeas). Todos passaram pela etapa de familiarização com as condições de coletas, cinco se apresentaram responsivos ao reforço (pelota de banana ou uva). Dois indivíduos concluíram os testes no período do experimento. Dos outros quatro indivíduos do proposto grupo experimental, três não alcançaram o critério de teste e um iniciou os testes, contudo não concluiu. Segue uma tabela (Tabela 5) que resume o histórico do grupo experimental e um apêndice (APÊNDICE A) com uma descrição do histórico de modelagem comportamental para cada indivíduo.

Tabela 5. Duração Aproximada das etapas descritas no procedimento para os Sujeitos experimentais. Reforço padrão consiste em pelotas sabor banana, e os reforços alternativos consistiam de amendoim, castanha-do-pará, uvas passas e por fim uvas verdes sem semente. Tempo transcorrido com treinos 5 vezes por semana para o sujeito do gênero *Sapajus* e 3 vezes por semana para o gênero *Alouatta*. O símbolo do Asterisco(*) indica que a etapa para o sujeito em questão não foi concluída.

Sujeito	Duração da Etapa						
	Adaptação inicial	Adaptação ao toque na tela	Adaptação inicial com reforços alternativos	Adaptação ao toque na tela com reforço alternativo	Refinamento do toque	Treino de discriminação de matiz	Teste de visão de cores
<i>Alouatta belzebul</i> F2	3 meses	3 meses	N/A	N/A	6 meses	6 meses*	
<i>Alouatta seniculus</i> F1	3 meses	3 meses	N/A	N/A	6 meses	10 meses	2 meses
<i>Alouatta caraya</i> M1	3 meses	5 meses	2 meses	1 mês	3 meses	9 meses	1 mês*
<i>Alouatta caraya</i> M2	3 meses	5 meses	2 meses	1 mês	3 meses	10 meses	2 meses
<i>Alouatta caraya</i> M3	3 meses	5 meses	2 meses	3 meses*			
<i>Alouatta belzebul</i> M4	3 meses	5 meses	3 meses	N/A	11 meses*		

3.2 Discriminação de cores

Dos seis sujeitos testados, apenas três conseguiram alcançar o critério para realizar o teste. E destes apenas dois sujeitos, um macho *A. caraya* (M2) e uma fêmea *A. seniculus* (F1) conseguiram concluir um número suficiente de vetores para a elaboração da elipse de discriminação para o sujeito. Estes dois sujeitos concluíram os vinte vetores para as três diferentes cores de fundo sugeridas no teste.

Na Figura 21, observa-se o resultado de uma sessão, mostrando todas as tentativas da mesma, pode-se notar que os vetores não duravam o mesmo número de tentativas e existe uma grande variabilidade de resposta entre os vetores no mesmo dia.

Figura 21. Resultados de uma sessão experimental do sujeito M2 (Scar). Valor da distância alvo-fundo (em unidades $u'v'$) para cada um dos quatro vetores testados nesta sessão. Acertos na discriminação do alvo em relação ao fundo, levavam a uma mudança da cromaticidade do alvo, diminuindo a distância da cromaticidade entre alvo e fundo no diagrama CIE 1976 $u'v'$, tornando-o mais semelhante ao fundo. Falhas na discriminação do alvo em relação ao fundo, levavam a um aumento da distância, tornando o alvo mais distinguível em relação ao fundo.

A Tabela 6 mostra o valor dos limiares de discriminação de cores do sujeito M2 para cada uma das elipses. A Tabela 6 mostra do lado esquerdo os limiares para cada vetor e do lado direito, a elipse de discriminação de cores criada a partir destes valores. Este sujeito teve um desempenho muito bom nas duas primeiras elipses, sem exibir dificuldade em nenhum vetor e um limiar mais elevado para vetores na região do azul na elipse 3.

Tabela 6. Valor do limiar de discriminação de cores para o sujeito M2 (Scar) para os 20 vetores testados em cada uma das três elipses de discriminação de cor.

	Elipse 1	Elipse 2	Elipse 3
1	104	41	74
2	83	65	39
3	111	46	62
4	55	126	76
5	83	108	143
6	91	88	152
7	95	116	140
8	93	44	96
9	133	91	72
10	54	135	54
11	171	105	76
12	90	119	90
13	105	95	107
14	114	78	61
15	119	124	172
16	107	72	211
17	66	89	297
18	42	184	125
19	68	53	75
20	75	63	69

Figura 22. Resultados experimentais do sujeito M2 (Scar). Valores de limiar (em unidades $u'v' \times 10^{-4}$ do diagrama CIE 1976 $u'v'$) para cada vetor seguido da elipse plotada a partir desses valores para os pontos centrais 1,2 e 3 respectivamente

A Tabela 7 mostra o valor dos limiares de discriminação de cores do sujeito F1 para cada uma das elipses. A Tabela 7 mostra do lado esquerdo os limiares para cada vetor e do lado direito, a elipse de discriminação de cores criada a partir destes valores. Este sujeito teve um desempenho ligeiramente inferior ao outro sujeito deste estudo, sem exibir dificuldade em nenhum vetor e também um limiar mais elevado para vetores na região do azul na elipse 3

Tabela 7. Valor do limiar de discriminação de cores para o sujeito F1 (Seni) para os 20 vetores testados em cada uma das três elipses de discriminação de cor.

	Elipse 1	Elipse 2	Elipse 3
1	131	105	206
2	165	125	152
3	229	119	116
4	111	137	270
5	71	115	308
6	156	105	272
7	77	145	128
8	70	257	291
9	83	141	112
10	155	274	110
11	151	126	147
12	172	166	192
13	107	266	103
14	167	371	152
15	173	110	255
16	82	237	294
17	389	214	150
18	329	201	124
19	257	83	84
20	280	90	212

Figura 23. Resultados experimentais do sujeito F1 (Seni). Valores de limiar (em unidades $u'v'$ $\times 10^{-4}$ do diagrama CIE 1976 $u'v'$) para cada vetor seguido da ellipse plotada a partir desses valores para os pontos centrais 1,2 e 3 respectivamente.

3.3 Avaliação genética

Os três sujeitos que chegaram ao estágio final passaram por uma avaliação genética, para identificar os aminoácidos presentes nos três sítios cuja mudança de aminoácido promove um maior deslocamento da curva espectral de absorção dos cones, sendo estes os mais importantes para diferenciar se o cone LWS1 presente nos animais é mais sensível para comprimentos de ondas médios ou longos. Os dois machos de *A. caraya* e a fêmea de *A. seniculus* apresentaram a mesma sequência de aminoácidos (Figura 24) em heterozigose nos sítios que causam mudança espectral. Na posição 180 temos uma Alanina (gct) e uma Serina (tct), na 277 uma Fenilalanina (ttc) e uma Tirosina (tac) e na 285 uma Alanina (gcc) e uma Treonina (acc).

Figura 24. Cromatograma, mostrando as três posições que causam maior deslocamento da curva de absorção espectral da opsina, de um macho de *A. caraya* (M2) representativo da sequência observada nos três sujeitos analisados. Foram encontrados alelos em heterozigose para todas as posições. Na posição 180 temos uma Alanina (A) e uma Serina (S), na 277 uma Fenilalanina (F) e uma Tirosina (Y) e na 285 uma Alanina (A) e uma Treonina (T).

O genótipo dos sujeitos é compatível com o fenótipo tricromata uniforme encontrado no experimento comportamental. Baseado no pico espectral predito pela combinação de aminoácidos encontrada no sítio de deslocamento espectral e o resultado comportamental similar ao de primatas do Velho Mundo, podemos inferir que os sujeitos possuem a combinação de aminoácidos AFA e SYT (Figura 25)

Figura 25. Curvas de sensibilidade espectral construídas a partir dos valores do pico de sensibilidade máxima das opsinas para comprimentos de onda médios e longos preditos pelo arranjo genótipo/fenótipo dos sujeitos avaliados neste estudo. Para ambos sujeitos infere-se a presença de uma opsina para comprimento de onda médio com pico de absorção aproximadamente em 532(nm) e para comprimento de onda longo com pico de absorção aproximadamente em 560-563(nm).

DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

Os resultados comportamentais e genéticos obtidos nos primatas do Novo Mundo do gênero *Alouatta* mostraram que a espécie testada *A. caraya* possui visão tricromática, e os achados genéticos foram compatíveis com a capacidade discriminativa, mostrando potencial para tricromacia dado pela existência de duas variações do gene LWS1, correspondentes a opsinas que diferem quanto à sensibilidade máxima na faixa de comprimentos de onda médios/longos.

Os sujeitos do gênero *Alouatta* foram capazes de aprender a tarefa de discriminação, após um período de treino extremamente longo. Deve-se ressaltar que era esperado dos sujeitos do gênero *Alouatta* um período maior de treino em relação ao experimento com *Sapajus* (Goulart et al., 2013) devido ao rápido desinteresse pela atividade experimental, provavelmente pelo padrão de baixa atividade encontrado no gênero, e o fato de que os indivíduos eram treinados em dias alternados (3 vezes por semana) em contraposição com o protocolo para o gênero *Sapajus* (Goulart et al., 2013) que previa treino todos dias úteis (5 vezes por semana). Outro fator que atrapalhou o andamento da coleta foram os vários problemas técnicos que ocorreram durante o treino dos sujeitos. Dentre estes problemas podemos ressaltar a necessidade de conserto do equipamento de coleta por danos causados: pelo deslocamento durante as coletas, pelo impacto dos sujeitos experimentais e pela realização do teste em um galpão úmido; a necessidade de readaptação dos sujeitos por frequentes interrupções da coleta, devido a entraves burocráticos, e a transposição dos animais para a reforma dos recintos. Os indivíduos que conseguiram chegar a fase de testes, levaram, aproximadamente, dois anos de treino nas condições descritas, período muito maior do que os seis meses necessários para treinar um sujeito albino de *Sapajus* utilizando o mesmo protocolo de treino e aparato (Henriques 2013).

Apesar de poucos sujeitos terem alcançado o critério para realizar o teste, a congruência dos valores encontrados nestes sujeitos nos permite confirmar que o gênero *Alouatta* exibe um padrão comportamental de tricromacia uniforme entre machos e fêmeas, semelhante ao de humanos e ao de fêmeas tricromatas de primatas do Novo Mundo relatados por Goulart e colaboradores (2013)(Figura 26). Na terceira cor de fundo, os valores foram um pouco maiores do que nas anteriores em vetores na região do azul, dado também observado no experimento de Goulart e colaboradores (2013).

Figura 26. Valores de sujeitos de outra espécie de primata do Novo Mundo para comparação. Resultados experimentais de sujeitos, um Tricromata (*Sapajus* F1) e um Dicromata (*Sapajus* M7), descritos no trabalho de Goulart e colaboradores (2013). Valores de limiar (em unidades $u'v' \times 10^{-4}$ do diagrama CIE 1976 $u'v'$) para cada vetor seguido da elipse plotada a partir desses valores para os pontos centrais 1, 2 e 3 respectivamente.

Fonte: Goulart e colaboradores (2013)

O resultado genético evidenciou a presença de duas variações do gene LWS1 para ambos os sexos, incluindo os machos, que possuem apenas um cromossomo X. O sequenciamento direto das opsinas, mostra a presença de duas variações de nucleotídeos nos sítios críticos de deslocamento espectral (Figura 24), mas não nos permitiu separar os alelos de forma a confirmar em qual nucleotídeo está em cada gene expresso. No entanto, o resultado comportamental deste estudo e o eletrofisiológico realizado por Jacobs e colaboradores (1996) com machos das mesmas espécies, evidenciam ser ambos compatíveis com o genótipo SYT e ALA com curvas espectrais mais sensíveis para comprimentos de onda

longos (560 nm) e comprimentos de onda médio (532 nm) respectivamente, arranjo genótipo/fenótipo congruente com o encontrado em nosso estudo (Figura 25).

Trabalhos anteriores com outras espécies de primatas do Novo Mundo mostraram uma grande variação de alelos para o gene SWS1 (Bonci et al., 2013; Goulart et al., 2013; Mancuso et al., 2006; Soares et al., 2010), contudo múltiplos alelos para o gene SWS1 em machos só foram encontrados em *Alouatta* (Jacobs et al., 1996; Matsushita et al., 2014). Foi relatado inclusive o achado da presença de genes híbridos em espécies de *Alouatta* da América Central (Matsushita et al., 2014), que levou a variações da visão de cores que antes só eram possíveis para fêmeas tricromatas de primatas do Novo Mundo. Diferente do alto polimorfismo encontrado em primatas do Novo Mundo trabalhos anteriores com seis espécies de primatas do Velho Mundo mostraram uma alta homologia entre as espécies (Ibbotson, Hunt, Bowmaker, & Mollon, 1992).

Em nosso estudo o desempenho dos sujeitos foi quantitativamente próximo ao dos *Sapajus* testados com o mesmo protocolo por Goulart e colaboradores (Goulart et al., 2013). Este resultado permite afastar a hipótese levantada por Franco, Finlay, Silveira, Yamada, & Crowley (2000) de que a compactação causada pela concentração de fotorreceptores na fóvea, também observada por Muniz e colaboradores (2014), afetasse a convergência de 1:1 na fóvea, ou chegássemos a limites físicos de transdução, devido a intensa atividade dos fotorreceptores em uma concentração mais alta do que a encontrada em todos outros primatas (Muniz et al., 2014), e causasse uma queda na qualidade da discriminação do gênero, mesmo com o estímulo complexo utilizado por este estudo.

Uma característica que deve ser levada em conta, é que a presença de híbridos tricromatas, distintos do padrão tricromata humano em primatas do novo mundo, incluindo *Alouatta* faz com que os testes de visão de cores, usando o espaço de cores CIE 1976 $u'v'$, não sejam precisos para separar estas formas de tricromacia incomum, semelhantes a tricromatas anômalos. Dessa forma, para refinar o uso de testes comportamentais de discriminação da visão de cores como diagnósticos, é necessário pensar em mudanças na estrutura do teste, frente à variação cromática entre o estímulo e o fundo.

Outro fator necessário para a melhoria dos resultados de avaliação dos primatas do Novo Mundo, seria o desenvolvimento e adaptação de testes capazes de separar com segurança a sequência alélica de genes em heterozigose para as várias espécies.

Alouatta é um gênero único entre os primatas neotropicais, pela sua história filogenética e adaptações ao ambiente, que deve ser estudado a fundo para que possamos

compreender cada vez mais os limites fisiológicos da visão de cores e a interação da variação genética com o fenótipo e com os fatores ambientais que possam ter levado a essas mudanças.

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Neste estudo conseguimos observar que:

O gênero *Alouatta* exibe uma maior dificuldade de aprendizado em relação a outras espécies de primatas do Novo Mundo, porém é capaz de realizar o teste utilizado neste estudo, para tanto foram necessárias várias alterações no protocolo utilizado em experimentos anteriores (Goulart et al., 2013) Acreditamos que o protocolo utilizado neste experimento seja mais compreensivo e gradual, como também o mais indicado para uso com outras espécies de primatas.

A dificuldade em condicionar os sujeitos do gênero *Alouatta* evidenciou alguns problemas que devem ser observados por quem desejar fazer condicionamento semelhante em outros primatas do Novo Mundo, são eles: a variabilidade extraespecífica e o padrão de atividade próprio da espécie, a abundância de elementos que podem atuar como distratores no local de coleta, a dificuldade de tocar sobre estímulos muito próximos e a importância da flexibilidade do protocolo para se ajustar à necessidade da espécie.

Observamos que tanto machos quanto fêmeas do gênero *Alouatta* exibem um padrão comportamental de tricromacia uniforme em concordância com estudos anteriores, utilizando testes qualitativos (Araújo et al., 2008). Nossos resultados não indicam uma tricromacia anômala de forma que os limiares identificados para o gênero são similares aos de humanos, indicando que as curvas espectrais das opsinas deste gênero também sejam semelhantes a de humanos.

REFERÊNCIAS

- Allen, G. (1879). *The colour-sense: Its origin and development: An essay in comparative psychology*. Boston, Houghton.
- Applebury, M. L., & Hargrave, P. A. (1986). Molecular biology of the visual pigments. *Vision Research*, 26(12), 1881.
- Araújo, A. C., Didonet, J. J., Araújo, C. S., Saletti, P. G., Borges, T. R. J., & Pessoa, V. F. (2008). Color vision in the black howler monkey (*Alouatta caraya*). *Visual Neuroscience*, 25(3), 243–8. <https://doi.org/10.1017/S0952523808080292>
- Arrese, C. A., Hart, N. S., Thomas, N., Beazley, L. D., & Shand, J. (2002). Trichromacy in Australian marsupials. *Current Biology*, 12(8), 657–660. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)00772-8](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)00772-8)
- Baylor, B. Y. D. A., Lamb, T. D., Yau, K. W., Baylor, D. A., Lamb, T. D., & Yau, K. W. (1979). Responses of retinal rods to single photons. *The Journal of Physiology*, 288, 613–34. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012716>
- Bicca-Marques, J. C., & Calegari-Marques, C. (1995). Ecologia alimentar do gênero *Alouatta* LACÉPEDE, 1799 (PRIMATES, CEBIDAE). *Cadernos UFAC*, 3, 23–49.
- Bicca-Marques, J. C., & Calegari-Marques, C. (1998). Behavioral thermoregulation in a sexually and developmentally dichromatic neotropical primate, the black-and-gold howling monkey (*Alouatta caraya*). *American Journal of Physical Anthropology*, 106(April), 533–546. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199808\)106:4<533::AID-AJPA8>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199808)106:4<533::AID-AJPA8>3.0.CO;2-J)
- Birch, J. (2001). *Diagnosis of defective colour vision*. Elsevier Health Sciences.
- Bonci, D. M. O. (2011). *Daniela Maria Oliveira Bonci (Cebus sp) e da relação entre a psicofísica e a genética da visão de cores em humanos . Estudo dos pigmentos visuais de macaco-prego (Cebus sp) e da relação entre a psicofísica e a genética da*.
- Bonci, D. M. O., Neitz, M., Neitz, J., Silveira, L. C. de L., Ventura, D. F., de Lima Silveira, L. C., & Ventura, D. F. (2013). The genetics of New World monkey visual pigments. *Psychology & Neuroscience*, 6(2), 133–144. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2013.2.02>
- Boubli, J. P., Di Fiore, A., Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2015a). *Alouatta seniculus* ssp. *juara*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235.
- Boubli, J. P., Di Fiore, A., Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2015b). *Alouatta seniculus* ssp. *puruensis*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235.
- Bowmaker, J. K. (2008). Evolution of vertebrate visual pigments. *Vision Research*, 48(20), 2022–41. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2008.03.025>
- Buck, S. L., Knight, R., Fowler, G., & Hunt, B. (1998). Rod influence on hue-scaling functions. *Vision Research*, 38(21), 3259–63. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(97\)00436-7](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(97)00436-7)
- Canto-Pereira, L. H. M., Lago, M., Costa, M. F., Rodrigues, A. R., Saito, C. A., Silveira, L. C. L., & Ventura, D. F. (2005). Visual impairment on dentists related to occupational mercury exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(3), 517–522. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.015>

- Castelo-Branco, M., Faria, P., Forjaz, V., Kozak, L. R., & Azevedo, H. (2004). Simultaneous Comparison of Relative Damage to Chromatic Pathways in Ocular Hypertension and Glaucoma: Correlation with Clinical Measures. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 45(2), 499–505. <https://doi.org/10.1167/iovs.03-0815>
- Chan, T. L., Martin, P. R., Clunas, N., & Grünert, U. (2001). Bipolar cell diversity in the primate retina: morphologic and immunocytochemical analysis of a new world monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *The Journal of Comparative Neurology*, 437(2), 219–39.
- Cortés-Ortiz, L., Bermingham, E., Rico, C., Rodríguez-Luna, E., Sampaio, I., Ruiz-García, M., ... Ruiz-García, M. (2003). Molecular systematics and biogeography of the Neotropical monkey genus, *Alouatta*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26(1), 64–81. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00308-1](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00308-1)
- Cortés-Ortiz, L., Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2015). *The taxonomy of howler monkeys: Integrating old and new knowledge from morphological and genetic studies. Howler Monkeys: Adaptive Radiation, Systematics, and Morphology*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1957-4_3
- Costa, T. L., Barboni, M. T. S., Moura, A. L. de A., Bonci, D. M. O., Gualtieri, M., de Lima Silveira, L. C., & Ventura, D. F. (2012). Long-term occupational exposure to organic solvents affects color vision, contrast sensitivity and visual fields. *PLoS ONE*, 7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042961>
- Dain, S. J. (2004). Clinical colour vision tests. *Clinical & Experimental Optometry : Journal of the Australian Optometrical Association*, 87(4–5), 276–93. <https://doi.org/10.1111/j.1444-0938.2004.tb05057.x>
- Davies, W. L., Carvalho, L. S., Cowing, J. a, Beazley, L. D., Hunt, D. M., & Arrese, C. a. (2007). Visual pigments of the platypus: a novel route to mammalian colour vision. *Current Biology : CB*, 17(5), R161-3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.01.037>
- De Valois, R. L., & De Valois, K. K. (1993). A multi-stage color model. *Vision Research*, 33(8), 1053–1065. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(93\)90240-W](https://doi.org/10.1016/0042-6989(93)90240-W)
- Dominy, N. J., Garber, P. A., Bicca-Marques, J. C., & de O. Azevedo-Lopes, M. A. (2003). Do female tamarins use visual cues to detect fruit rewards more successfully than do males? *Animal Behaviour*, 66(5), 829–837. <https://doi.org/10.1006/anbe.2003.2288>
- Dominy, N. J., & Lucas, P. W. (2001). Ecological importance of trichromatic vision to primates. *Nature*, 410(6826), 363–6. <https://doi.org/10.1038/35066567>
- Dowling, J. E. (1987). *The retina: an approachable part of the brain*. Harvard University Press.
- Dulai, K. S., Von Dornum, M., Mollon, J. D., & Hunt, D. M. (1999). The evolution of trichromatic color vision by opsin gene duplication in new world and old world primates. *Genome Research*, 9(7), 629–638. <https://doi.org/10.1101/gr.9.7.629>
- Fernandez-duque, E., Wallace, R. B., & Rylands, A. B. (2008). *Alouatta caraya*, Black-and-gold Howler Monkey. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T41545A10496784>
- Finlay, B. L., Franco, E. C. S., Yamada, E. S., Crowley, J. C., Parsons, M., Muniz, J. A. P. C., & Silveira, L. C. L. (2008). Number and topography of cones, rods and optic nerve axons in New and Old World primates. *Visual Neuroscience*, 25(3), 289–99.

<https://doi.org/10.1017/S0952523808080371>

- Franco, E. C. S., Finlay, B. L., Silveira, L. C. L., Yamada, E. S., & Crowley, J. C. (2000). Conservation of Absolute Foveal Area in New World Monkeys. *Brain, Behavior and Evolution*, 56(5), 276–286. <https://doi.org/10.1159/000047211>
- Gilad, Y., Wiebe, V., Przeworski, M., Lancet, D., & Pääbo, S. (2004). Loss of olfactory receptor genes coincides with the acquisition of full trichromatic vision in primates. *PLoS Biology*, 2(1), E5. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020005>
- Goulart, P. R. K., Bandeira, M. L., Tsubota, D., Oiwa, N. N., Costa, M. F., & Ventura, D. F. (2008). A computer-controlled color vision test for children based on the Cambridge Colour Test. *Visual Neuroscience*, 25(3), 445–50. <https://doi.org/10.1017/S0952523808080589>
- Goulart, P. R. K., Bonci, D. M. O., Galvão, O. de F., Silveira, L. C. de L., & Ventura, D. F. (2013). Color Discrimination in the Tufted Capuchin Monkey, *Sapajus* spp. *PLoS ONE*, 8(4), 4–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062255>
- Gouras, P. (1991). The history of colour vision. *The Perception of Colour: Vision and Visual Dysfunction*, 6, 1–9.
- Groves, C. P. (2001). *Primate taxonomy*. Smithsonian Institution Press.
- Groves, C. P. (2005). Order Primates. In D. E. Wilson & d. M. Reeder (Eds.), *Mammal Species of the World: A taxonomic and geographic reference. Vol. 1*. (3rd ed., pp. 111–184). Baltimore.
- Henriques, L. D. (2013). Avaliação de visão de cores em um indivíduo albino de *Sapajus* sp (Cebus sp). Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo. doi:10.11606/D.47.2013.tde-21112013-160538. Recuperado em 2017-09-30, de www.teses.usp.br
- Hiramatsu, C., Radlwimmer, F. B. B., Yokoyama, S., & Kawamura, S. (2004). Mutagenesis and reconstitution of middle-to-long-wave-sensitive visual pigments of New World monkeys for testing the tuning effect of residues at sites 229 and 233. *Vision Research*, 44(19), 2225–2231. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2004.04.008>
- Hunt, D. M., Dulai, K. S., Cowing, J. A., Julliot, C., Mollon, J. D., Bowmaker, J. K., ... Hewett-Emmett, D. (1998). Molecular evolution of trichromacy in primates. *Vision Research*, 38(21), 3299–306. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(97\)00443-4](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(97)00443-4)
- Ibbotson, R. E., Hunt, D. M., Bowmaker, J. K., & Mollon, J. D. (1992). Sequence divergence and copy number of the middle- and long-wave photopigment genes in Old World monkeys. *Proceedings. Biological Sciences*, 247(1319), 145–54. <https://doi.org/10.1098/rspb.1992.0021>
- Jacobs, G. H. (1993). The distribution and nature of colour vision among the mammals. *Biological Reviews*, 68(3), 413–471. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1993.tb00738.x>
- Jacobs, G. H. (1996). Primate photopigments and primate color vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(2), 577–81.
- Jacobs, G. H. (2008). Primate color vision: a comparative perspective. *Visual Neuroscience*, 25(5–6), 619–33. <https://doi.org/10.1017/S0952523808080760>
- Jacobs, G. H., & Deegan, J. F. (2003). Cone pigment variations in four genera of new world

- monkeys. *Vision Research*, 43(3), 227–36.
- Jacobs, G. H., Neitz, M., Deegan, J. F., & Neitz, J. (1996). Trichromatic colour vision in New World monkeys. *Nature*, 382(6587), 156–158. <https://doi.org/10.1038/382156a0>
- Jameson Kiesling, N. M., Yi, S. V., Xu, K., Gianluca Sperone, F., & Wildman, D. E. (2015). The tempo and mode of New World monkey evolution and biogeography in the context of phylogenomic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82(PB), 386–399. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.027>
- Kawamura, S., Hirai, M., Takenaka, O., Radlwimmer, F. B., & Yokoyama, S. (2001). Genomic and spectral analyses of long to middle wavelength-sensitive visual pigments of common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Gene*, 269(1–2), 45–51.
- Kay, R. F. (2015). Biogeography in deep time - What do phylogenetics, geology, and paleoclimate tell us about early platyrrhine evolution? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82(PB), 358–374. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.12.002>
- Kremers, J., Silveira, L. C. L., Yamada, E. S., Lee, B. B., Gegenfurtner, K. R., & Sharpe, L. T. (1999). The ecology and evolution of primate color vision. *Color Vision: From Genes to Perception*, 123–142.
- Lee, B. B., Martin, P. R., & Grünert, U. (2010). Retinal connectivity and primate vision. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29(6), 622–639. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2010.08.004>
- Lee, B. B., Silveira, L. C., Yamada, E. S., Hunt, D. M., Kremers, J., Martin, P. R., ... da Silva-Filho, M. (2000). Visual responses of ganglion cells of a New-World primate, the capuchin monkey, *Cebus apella*. *The Journal of Physiology*, 528(Pt 3), 573–590. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00573.x>
- Levine, M. W. (2000). *Fundamentals of Sensation and Perception*. New York: Oxford University Press.
- Lynch Alfaro, J. W., Cortés-Ortiz, L., Di Fiore, A., & Boubli, J. P. (2015). Special issue: Comparative biogeography of Neotropical primates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82(PB), 518–529. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.027>
- Mancuso, K., Neitz, M., & Neitz, J. (2006). An adaptation of the Cambridge Colour Test for use with animals. *Visual Neuroscience*, 23(3–4), 695–701. <https://doi.org/10.1017/S0952523806233364>
- Matsushita, Y., Oota, H., Welker, B. J., Pavelka, M. S., & Kawamura, S. (2014). Color Vision Variation as Evidenced by Hybrid L/M Opsin Genes in Wild Populations of Trichromatic *Alouatta* New World Monkeys. *International Journal of Primatology*, 35(1), 71–87. <https://doi.org/10.1007/s10764-013-9705-9>
- Mollon, J. D., & Reffin, J. P. (1989). A computer-controlled color-vision test that combines the principles of Chibret and of Stilling. In *Journal of Physiology-London* (Vol. 414, pp. P5–P5).
- Mollon, J. D., & Reffin, J. P. (2000). *Handbook of the Cambridge Colour Test. London: Cambridge Research Systems*.
- Muniz, J. A. P. C. J. A. P. C., Athaide, L. M. De, Gomes, B. D., Finlay, B. L., De Lima Silveira, L. C., de Athaide, L. M., ... Silveira, L. C. de L. (2014). Ganglion cell and displaced amacrine cell density distribution in the retina of the howler monkey (*Alouatta*

- caraya). *PLoS ONE*, 9(12), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115291>
- Nathans, J., Piantanida, T. P., Eddy, R. L., Shows, T. B., & Hogness, D. S. (1986). Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science(Washington)*, 232(4747), 203–203.
- Neitz, M., Neitz, J., & Jacobs, G. H. (1991). Spectral tuning of pigments underlying red-green color vision. *Science (New York, N.Y.)*, 252(5008), 971–4.
- Ohno, T., Kiyohara, T., & Simpson, J. I. (1970). Postsynaptic potentials evoked in cells of area 19 and its lateral zone during stimulation of the visual pathway in cat. *Brain Research*, 20(3), 453–456.
- Osorio, D., & Vorobyev, M. (1996). Colour vision as an adaptation to frugivory in primates. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 263(1370), 593–599. <https://doi.org/10.1098/rspb.1996.0089>
- Peichl, L. (2005). Diversity of mammalian photoreceptor properties: Adaptations to habitat and lifestyle? *Anatomical Record - Part A Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 287(1), 1001–1012. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20262>
- Polyak, S. L. (1941). *The retina* (pp. 196-210). Chic. UP .
- Regan, B. C., Julliot, C., Simmen, B., Viénot, F., Charles-Dominique, P., & Mollon, J. D. (2001). Fruits, foliage and the evolution of primate colour vision. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 356(1407), 229–83. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0773>
- Regan, B., Reffin, J., & Mollon, J. (1994). Luminance noise and the rapid determination of discrimination ellipses in colour deficiency. *Vision Research*, 34(10), 1279–1299. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(94\)90203-8](https://doi.org/10.1016/0042-6989(94)90203-8)
- Rosenberger, A. L., & Strier, K. B. (1989). Adaptive radiation of the ateline primates. *Journal of Human Evolution*, 18(7), 717–750. [https://doi.org/10.1016/0047-2484\(89\)90102-4](https://doi.org/10.1016/0047-2484(89)90102-4)
- Rushton, B. Y. W. A. H. (1972). Pigments and Signals in Colour Vision. *J. Physiol*, 220, 1–31.
- Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2009). The Diversity of the New World Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy. In P. A. Garber, A. Estrada, J. C. Bicca-Marques, E. W. Heymann, & K. B. Strier (Eds.), *South American Primates* (pp. 23–54). New York, NY: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3>
- Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2014). Primate taxonomy: Species and conservation. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 23(1), 8–10. <https://doi.org/10.1002/evan.21387>
- Saito, A., Kawamura, S., Mikami, A., Ueno, Y., Hiramatsu, C., Koida, K., ... Hasegawa, T. (2005). Demonstration of a genotype-phenotype correlation in the polymorphic color vision of a non-callitrichine New World monkey, capuchin (*Cebus apella*). *American Journal of Primatology*, 67(4), 471–85. <https://doi.org/10.1002/ajp.20201>
- Saito, C. A., Filho, M. da S., Lee, B. B., Bowmaker, J. K., Kremers, J., & Silveira, L. C. L. (2004). *Alouatta* trichromatic color vision – single-unit recording from retinal ganglion cells and microspectrophotometry. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45(13), 4276.
- Santana, C. F. (2005). *Reconstrução do espaço de cores de pacientes com discromatopsia*

- adquirida: diabéticos tipo2 e intoxicados por vapor de mercúrio*. São Paulo: Dissertação de mestrado, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.
- Schneider, H., & Sampaio, I. (2015). The systematics and evolution of New World primates – A review. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82(PB), 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.017>
- Schwartz, S. (2009). *Visual Perception: A Clinical Orientation: A Clinical Orientation*. McGraw Hill Professional.
- Shichida, Y., & Matsuyama, T. (2009). Evolution of opsins and phototransduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1531), 2881–2895. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0051>
- Shimmin, L. C., Miller, J., Tran, H. N., & Li, W. H. (1998). Contrasting levels of DNA polymorphism at the autosomal and X-linked visual color pigment loci in humans and squirrel monkeys. *Molecular Biology and Evolution*, 15(4), 449–55.
- Silveira, L. C. L., Saito, C. A., Da Silva Filho, M., Kremers, J., Bowmaker, J. K., & Lee, B. B. (2014). Alouatta trichromatic color vision: Cone spectra and physiological responses studied with microspectrophotometry and single unit retinal electrophysiology. *PLoS ONE*, 9(11), e113321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113321>
- Silveira, L. C., Lee, B. B., Yamada, E. S., Kremers, J., & Hunt, D. M. (1998). Post-receptoral mechanisms of colour vision in New World primates. *Vision Research*, 38(21), 3329–3337.
- Silveira, L. L., Zurawski, J. D., Parsons, M. P., & Finlay, B. L. (2004). Unusual retinal organization in the howler monkey, *Alouatta caraya*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45(13), 44.
- Smith, A. C. (2003). The effect of colour vision status on the detection and selection of fruits by tamarins (*Saguinus* spp.). *Journal of Experimental Biology*, 206(18), 3159–3165. <https://doi.org/10.1242/jeb.00536>
- Soares, J. G. M., Fiorani, M., Araujo, E. A., Zana, Y., Bonci, D. M. O., Neitz, M., ... Gattass, R. (2010). Cone photopigment variations in *Cebus apella* monkeys evidenced by electroretinogram measurements and genetic analysis. *Vision Research*, 50(1), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2009.10.017>
- Stilling, J. (1877). *Die Prüfung des Farbensinnes beim Eisenbahn-und Marinepersonal: The examination of the sense of colour of railway employés and pilots*. T. Fischer.
- Stoner, K. E., Riba-Hernández, P., & Lucas, P. W. (2005, December). Comparative use of color vision for frugivory by sympatric species of platyrrhines. *American Journal of Primatology*. <https://doi.org/10.1002/ajp.20195>
- Surridge, A. K., & Mundy, N. I. (2002). Trans-specific evolution of opsin alleles and the maintenance of trichromatic colour vision in Callitrichine primates. *Molecular Ecology*, 11(10), 2157–2169. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01597.x>
- Surridge, a. (2003). Evolution and selection of trichromatic vision in primates. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(4), 198–205. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00012-0)
- Tan, Y., Yoder, A. D., Yamashita, N., & Li, W.-H. (2005). Evidence from opsin genes rejects nocturnality in ancestral primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(41), 14712–6.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0507042102>

- Veiga, L. M., Kierluff, C., & De Oliveira, M. M. (2008). *Alouatta belzebul*, Red-handed Howler Monkey. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235.
- Ventura, D. F., Gualtieri, M., Oliveira, A. G. F., Costa, M. F., Quiros, P., Sadun, F., ... Carelli, V. (2007). Male prevalence of acquired color vision defects in asymptomatic carriers of Leber's hereditary optic neuropathy. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 48, 2362–2370. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-0331>
- Ventura, D. F., Simões, A. L., Tomaz, S., Costa, M. F., Lago, M., Costa, M. T. V., ... Silveira, L. C. L. (2005). Colour vision and contrast sensitivity losses of mercury intoxicated industry workers in Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(3), 523–529. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.016>
- Wikler, K. C., & Rakic, P. (1990). Distribution of photoreceptor subtypes in the retina of diurnal and nocturnal primates. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 10(10), 3390–3401.
- Williams, A. J., Hunt, D. M., Bowmaker, J. K., & Mollon, J. D. (1992). The polymorphic photopigments of the marmoset: spectral tuning and genetic basis. *The EMBO Journal*, 11(6), 2039–45.
- Yamada, E. S., Marshak, D. W., Silveira, L. C., & Casagrande, V. a. (1998). Morphology of P and M retinal ganglion cells of the bush baby. *Vision Research*, 38(21), 3345–52. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(97\)00412-4](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(97)00412-4)
- Yokoyama, S. (1997). Molecular genetic basis of adaptive selection: examples from color vision in vertebrates. *Annual Review of Genetics*, 31, 315–36. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.31.1.315>
- Yokoyama, S., & Radlwimmer, F. B. (1999). The molecular genetics of red and green color vision in mammals. *Genetics*, 153(2), 919–32.
- Yokoyama, S., & Shi, Y. (2000). Genetics and evolution of ultraviolet vision in vertebrates. *FEBS Letters*, 486(2), 167–72.
- Youlatos, D., Couette, S., & Halenar, L. B. (2015). Morphology of Howler Monkeys: A Review and Quantitative Analyses. In M. M. Kowalewski, P. A. Garber, L. Cortés-Ortiz, B. Urbani, & D. Youlatos (Eds.), *Howler Monkeys: Adaptive Radiation, Systematics, and Morphology* (pp. 133–176). New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1957-4_6

GLOSSÁRIO ²

Absorção

Processo em que energia radiante é convertida em uma forma diferente de energia ao interagir com matéria.

Bastonetes

Fotoreceptores da retina contendo pigmentos sensíveis a luz capazes de iniciar o processo de visão escotópica.

Brilho

Atributo da percepção visual relativo a uma área parece emitir, ou refletir, mais ou menos luz

NOTA: O uso deste termo não é restrito a fontes primárias de luz.

Comprimento de onda

Distância na direção da propagação de uma onda periódica entre dois pontos sucessivos na mesma fase.

Unidade: m

NOTA: Em radiações ópticas as unidades utilizadas são geralmente "nm" ou "μm"

Cone

Fotoreceptores na retina contendo pigmentos sensíveis a luz capazes de iniciar o processo de visão fotópica.

Cor

1. (percebida), Cor: ver Cor percebida.
2. (psicofísica), Cor: especificação de um estímulo colorido em termo de valores operacionalmente definidos, como 3 valores tri-estímulo.

Cor (percebida)

Característica da percepção visual que pode ser descrita pelos atributos, Matiz, Brilho (ou luminosidade) e saturação (ou chroma).

NOTA: Quando necessário para evitar confusão o termo cor percebida pode ser usado no lugar de cor

NOTA: Cor percebida depende da distribuição espectral do estímulo colorido, do tamanho, forma, estrutura e da área ao redor da área do estímulo, do estado de adaptação do

² Glossário adaptado de ILV: International Lighting Vocabulary, Comissão Internacional de Iluminação (CIE) (2011) .

sistema visual do observador, da experiência prévia do observador e de situações similares a situação da observação

Cor do objeto

A cor percebida como propriedade de um objeto.

Cromaticidade

Propriedade de um estímulo colorido definido pelo conjunto de seu comprimento de onda primário ou complementares e sua pureza de cor.

Defeitos de visão de cores

Anomalia visual em que há uma redução na habilidade de discriminar algumas ou todas cores.

Deutan

Adjetivo que denota deuteranotopia ou deuteranomia.

Deuteranomia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo verde-vermelho é reduzida.

Deuteranotopia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo verde-vermelho é ausente.

Dicromacia

Defeito na visão de cores em que todas as cores podem ser obtidas por meio da mistura aditiva de apenas dois estímulos luminosos.

Eficácia luminosa espectral

Razão do fluxo radiante de um comprimento de onda λ_m em relação ao comprimento de onda λ de forma que ambos desencadeiem sensações de intensidade luminosas iguais sob as mesmas condições fotométricas e λ_m é escolhido de forma que o valor máximo da razão é igual a 1.

Espaço de cor

Representação geométrica de variações cromáticas, usualmente em três dimensões.

Espectral

Adjetivo que, quando aplicado a quantidade X de uma radiação eletromagnética, indica: que ou X é uma função do comprimento de onda λ , fórmula: $X(\lambda)$, ou que a quantidade a que se refere é a concentração espectral de X , fórmula: $X_\lambda =$.

Estímulo monocromático

Estímulo consistido de radiação monocromática.

Fóton

Quantum de radiação eletromagnética considerado uma partícula de energia $h \nu$, onde h é a constante de Planck e ν é a frequência da radiação.

Fovea

Parte central da retina, fina e achatada, contendo quase exclusivamente cones e formando o sítio com a visão mais acurada.

Luz

1. Característica de todas sensações e percepções específicas da visão.
2. Radiação que é capaz de excitar o sistema visual humano.

NOTA: Este termo tem 2 sentidos distintos. Para evitar confusão pode-se utilizar o termo luz percebida para o primeiro sentido.

NOTA: A luz é normalmente, mas nem sempre, percebida como resultado da ação de um estímulo luminoso no sistema visual

Matiz

Atributo da percepção visual em que uma área é similar a uma das cores: azul, verde e vermelho, ou uma combinação de pares adjacentes dessas cores quando consideradas em formato de anel.

Monocromacia

Defeito na visão de cores em que todas as cores podem ser obtidas por apenas um estímulo luminoso.

Protan

Adjetivo que denota protanopia ou protanomalia.

Protanomalia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo verde-vermelho é reduzida.

Protanopia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo verde-vermelho é ausente.

Radiação monocromática

Radiação caracterizada por uma única frequência.

NOTA: Na prática, a radiação de um grupo bem pequeno de frequências pode ser descrita como uma frequência única

Radiação visível

Qualquer radiação óptica capaz de causar diretamente uma sensação visual.

NOTA: Não há um limite preciso do alcance espectral da radiação visível uma vez que depende da quantidade de energia radiante que chega a retina e da responsividade do observador. O limite inferior é geralmente entre 360 nm e 400 nm e o superior entre 760 nm e 830 nm

Retina

Membrana localizada no fundo do olho que é sensível a estímulos luminosos.

Saturação

Proporção da pureza de cor de uma área em proporção ao seu brilho.

Tricromacia anomala

Forma de tricromacia em que a discriminação de cores é menor do que a normal.

Tritan

Adjetivo que denota tritanopia ou tritanomalia.

Tritanomalia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo azul-amarelo é reduzida.

Tritanopia

Defeito de visão de cores em que a discriminação de conteúdo de cores no eixo azul-amarelo é ausente.

Visão escotópica

Visão de um olho normal em que os bastonetes são os principais fotoreceptores ativos.

NOTA: A visão escotópica ocorre normalmente quando o olho está adaptado a níveis de luminância de pelo menos de $\sim 10^{-3} \text{ cd}\cdot\text{m}^{-2}$

NOTA: Em comparação com a visão fotópica, a visão escotópica é caracterizada por não ter percepção de cores e por uma mudança da sensibilidade visual em direção a comprimentos de onda mais curtos

Visão fotópica

Visão de um olho normal em que os cones são os principais fotoreceptores ativos.

NOTA: A visão fotópica ocorre normalmente quando o olho está adaptado a níveis de luminância de pelo menos $5 \text{ cd}\cdot\text{m}^{-2}$

NOTA: A percepção de cores é típica da visão fotópica

APÊNDICE A

M1 (Tim): O indivíduo apresentou-se muito arredio no começo do experimento. Depois de demonstrar capacidade de associar o som da pelota caindo na bandeja com a presença da pelota na bandeja desencadeando o comportamento de busca da pelota (adaptação inicial), o indivíduo foi apresentado a próxima etapa onde deve tocar em qualquer lugar do monitor para que a pelota fosse liberada na bandeja (adaptação de toque na tela). De um modo geral esperava-se que esta etapa demorasse aproximadamente o mesmo para todos indivíduos do gênero *Alouatta*. Apesar de ainda manter alta correlação entre toques na tela desencadeando o som da pelota caindo e comportamento de busca da pelota por parte do sujeito experimental, a frequência dessa cadeia de eventos diminuiu drasticamente e o critério de consistência esperado não foi alcançado mesmo com 5 meses de treino em contraposição com sujeitos do mesmo gênero que alcançaram o critério com 3 meses. Este padrão pode decorrer de um baixo efeito reforçador pela recompensa utilizada. Para corrigir este padrão foi necessário o teste de novas consequências, inicialmente com liberação da nova consequência na bandeja onde o indivíduo deveria associar o som da nova consequência caindo na bandeja com o padrão de busca da mesma. Ao obter sucesso nessa etapa seguia-se com o sujeito devendo tocar em uma tela branca (alternativa ao treino original que consiste numa tela com fundo preto e alvo colorido em forma aproximada de quadrado) desencadeando o som da pelota caindo e comportamento de busca da pelota por parte do sujeito experimental. As recompensas: amendoim, castanha-do-pará, uvas passas, apresentaram um padrão comportamental semelhante a pelota sabor banana (baixo efeito reforçador) mesmo com duas semanas de treino, porém uvas verdes frescas aumentaram a frequência de toques na tela e sua cadeia de eventos. Após retomar o engajamento na tarefa, devido a questões técnicas foi necessário retomar a pelota como reforço, este procedimento não acarretou em perda de desempenho do sujeito. Após a retomada do uso de pelotas o sujeito avançou gradualmente por todas etapas até alcançar o critério de teste. Porém após iniciar os teste com esse sujeito, devido a problemas logísticos com a instituição que abriga os sujeitos o experimento foi interrompido por algumas semanas perto de sua conclusão, e após a retomada do experimento o sujeito apresentou um completo desinteresse pelo reforço, fenômeno incomum que demandaria mais tempo de investigação que não foi possível devido ao encerramento das coletas.

M2 (Scar): O indivíduo apresentou um padrão semelhante ao M1, passando também por etapas de mudança de consequência para alcançar o critério esperado para adaptação ao toque na tela, e retornando ao procedimento após a adaptação com a nova consequência semelhante ao M1. Este sujeito foi capaz de realizar todos os testes e apresentou um ótimo desempenho.

M3 (Cesar): O indivíduo também apresentava baixa frequência de resposta à pelota sabor banana, no entanto, antes de se testar as consequências alternativas este indivíduo feriu-se e passou 1 mês na clínica para recuperação. Após retorno ao recinto original ficou arredio à presença do pesquisador por algumas semanas e só após readaptação com o pesquisador e com o procedimento foi exposto a sessões de adaptação ao toque na tela ainda com pelotas (retomada) e não apresentou melhora após a etapa da adaptação inicial ao comportamento de busca desencadeado pelo som da nova consequência (uva verde) caindo na bandeja e foi deixado de lado para que pudéssemos testar os sujeitos de melhor desempenho mais vezes por semana.

M4 (Amigo): Este indivíduo apresenta um desempenho utilizando pelotas sabor banana superior aos outros machos adultos do gênero *Alouatta*. No entanto não alcançou o critério da adaptação ao toque na tela. Os experimentos com este indivíduo ficaram muito tempo parados porque uma parte do seu recinto foi danificada impedindo a adaptação do aparato experimental junto ao recinto. Após o concerto do recinto e retomada dos experimentos o sujeito não apresentou um desempenho estável e teve vários episódios de internação na clínica devido a doenças impossibilitando uma regularidade do treino.

F1 (Seni): No gênero *Alouatta* existe dimorfismo sexual em termos de tamanho do indivíduo, portanto, sendo a fêmea menor do que os machos adultos do grupo experimental. Observando o bom desempenho deste indivíduo mesmo com a utilização de pelotas sabor banana, atribuí-se, assim como ao filhote o bom desempenho provavelmente pela menor necessidade energética e pela maior atividade quando comparado com machos do gênero *Alouatta*. Este sujeito passou por todas etapas e apesar de ter um toque impreciso que acarretava em falsos negativos conseguiu concluir os testes.

F2 (Xorão): Este indivíduo era um juvenil, sendo menor do que os outros machos do grupo experimental, e obteve um bom desempenho mesmo com a utilização de pelotas sabor

banana, provavelmente pela menor necessidade energética e pela maior atividade quando comparado com indivíduos adultos do gênero *Alouatta*. Este sujeito realizou as etapas até o treino de discriminação de matiz, quando veio a óbito devido a uma infecção bacteriana.