UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP-DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

“Secreção epidérmica de *Alouatta palliata* (Primates: Atelidae)”

Zelinda Maria Braga Hirano

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como
parte das exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências, Área: Biologia Comparada.

RIBEIRÃO PRETO - SP
2007

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP-DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA**

**“Secreção epidérmica de *Alouatta guariba clamitans* (Primates:
Atelidae)”**

Zelinda Maria Braga Hirano

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
da USP, como parte das exigências para
a obtenção do título de doutor em
Ciências, Área: Biologia Comparada.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2003

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP-DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA**

“Secreção epidérmica de *Alouatta guariba clamitans* (Primates: Atelidae)”

Zelinda Maria Braga Hirano

**Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão da USP, como
parte das exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências, Área: Biologia Comparada.**

**Orientador: Prof. Dr. Wagner Ferreira dos Santos
Departamento de Biologia**

RIBEIRÃO PRETO – SP

2003

Ficha catalográfica

Braga Hirano, Zelinda Maria

Secreção Epidérmica de *Alouatta guariba clamitans* (Primates, Atelidae)

146p.: il.; 30cm

Tese de Doutorado Apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP – Área Biologia Comparada.

Orientador: dos Santos, Wagner Ferreira.

1- Bugio; 2- Glândulas tegumentares; 3- *Alouatta guariba clamitans*; 4- Cores em Primatas; 5- Cor de Pêlo; 5- Glândulas epidérmicas; 7- comportamento Social de Bugios; 8- Secreções Epidérmicas

Dedico esta tese á:

*Minhas filhas, **Yoko e Matsue**, que abdicaram de minha
presença em momentos importantes de suas vidas, para
permitir o meu desenvolvimento científico;*

*A minha mãe, **Mayde** que me ensina a cada dia que
para viver basta querer, e que assim como eu, apostou na
conquista deste sonho;*

*Aos meus irmãos **Graça, Randolfo e Orivaldo**, que ao
longo de todos estes anos permaneceram ao meu lado, muitas
vezes, abdicando de coisas importantes em suas vidas para
verem meus sonhos realizados.*

*Aqueles que foram objeto deste estudo, e que me despertaram
o real espírito científico, com sua cor e presença em minha mente,*

Os bugios.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Wagner Ferreira dos Santos do (Depto. de Biologia, FFCLRP-USP), por me acompanhar desde o início da minha carreira científica até a atualidade, pelos momentos de paciência, dedicação, constante orientação e por permitir o desenvolvimento de uma nova linha de pesquisa em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Ricardo Tramonte (Depto. de Morfologia da UFSC) pelo auxílio nas análises histológicas.

Ao Prof. Dr. Norberto P. Lopes (FCFRP-USP), pelo auxílio nas análises químicas.

Ao Prof. Dr. Marcelo Dias Barruff (FCFRP-USP), pela amizade e pela realização das análises hormonais.

Ao Prof. Dr. Norberto Cisne Coimbra pela análise em Microscopia Eletrônica.

Ao Prof. Dr. Amilton Antunes Barreira pela abertura de seu laboratório e pelo uso do sistema de imagens.

Ao Profs. Drs. Alexandre Souto Martinez (Depto de Física e Matemática, FFCLRP-USP) e Luiz de Souza (aposentado da FMRP-USP) pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Engenheiro Antônio Renato M. Silva (Neurologia Aplicada e Experimental, HCRP-USP), pela programação das análises de imagens.

A Profa. Dra. Eleonore Zulmara Setz (Depto de Zoologia da UNICAMP) pelo apoio, amizade e pela assessoria prestada no desenvolvimento desta tese.

Ao Prof. Dr. César Ades (Depto. de Psicologia da USP) pela amizade e apoio científico.

Ao Médico Veterinário Edgar Cardoso, pela amizade, pela dedicação aos animais, pelo trabalho voluntário e pela constante preocupação com a manutenção da saúde dos animais alojados no CEPESBI.

Ao técnico Antônio José Coluso (Depto. de Biologia, FFCLRP-USP) pela amizade e pela confecção das lâminas.

A Gabriela Braga Rodrigues e Roberta Braga Rodrigues, pelo carinho, companheirismo e pelo auxílio na análise dos pêlos e das glândulas.

Aos ex-alunos de graduação em Biologia da USP, estagiários do laboratório, Juliana, Ricardo e Hugo, que acreditaram no meu trabalho e resolveram segui-lo realizando monografias com o gênero *Alouatta*.

Aos colegas de laboratório Marcelo, Alessandra, Alexandra, Andréia, Zeid, José Luiz, Márcia e Luciana, pelo carinho, pela amizade, pelo auxílio científico e, acima de tudo, por me ensinarem a voltar a ser estudante.

Aos colegas integrantes do grupo Barba Negra / Ribeirão Preto Claudia, Olivia, Gisele, André, Hugo, Alicia, Tiago Loboda, Tiago Pereira, Fernanda e Márcia, que dividem comigo a alegria de estudar primatas em campo, pelos momentos de discussão científica e também de descontração.

Ao Renato Guizzo, por todo apoio durante estes quatro anos, pela amizade sincera, pelo carinho, preocupação e por me auxiliar na confecção deste trabalho.

À Adelina Engel, por cuidar de minha casa em Santa Catarina e de minhas filhas para que eu pudesse estar aqui desenvolvendo este trabalho.

Ao amigo Dilmar Alberto G. de Oliveira pelo constante auxílio nos trabalhos científicos de campo e cativeiro, pela amizade e pelo apoio emocional em momentos difíceis da minha vida.

Ao Marcos Zendron pelos bons momentos que temos passado juntos, pelo apoio e pela compreensão.

À amiga Fabiane Robl pela eficiente substituição de minhas atividades no CEPESBI, pela amizade e pela atenção dada às minhas filhas e aos animais durante a minha ausência.

Ao Eduardo Wanke pelo apoio, e pela obtenção das fotos dos animais em campo e em cativeiro.

Aos estudantes de Santa Catarina, Carlos, Sandra, Guilherme, Rudberto, Júlio César e Átila pelo auxílio nas coletas de dados no CEPESBI.

Aos amigos docentes, estudantes e integrantes do Grupo PET da Universidade Regional de Blumenau por torcerem constantemente para a realização deste trabalho.

A Rosimari Martins Silveira e Breila Dias Pessoa, por me auxiliarem nas coletas, pela amizade constante e pelos cuidados com as minhas filhas para que eu pudesse desenvolver este trabalho.

À amiga Angela de Jesus e a Bruninha pela amizade, compreensão e pela atenção dada a mim e aos meus familiares durante a minha estada em Ribeirão Preto para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao pessoal do DADP da Universidade Regional de Blumenau pela administração e pela constante preocupação com a manutenção de minha bolsa de estudos.

Ao seu Walmor, tratador dos animais do CEPESBI, pelo carinho e pela dedicação aos macacos durante minha ausência.

Aos Administradores da Universidade Regional de Blumenau por tornarem possível meu afastamento para a realização deste trabalho.

Aos colegas de Departamento de Ciências Exatas e Naturais da FURB, pela amizade e pela substituição em minhas atividades.

À Prefeitura Municipal de Indaial-SC pelo apoio logístico e pela manutenção do CEPESBI.

Aos Integrantes da Polícia Florestal de Santa Catarina, por confiarem no meu trabalho e enviarem animais apreendidos ao CEPESBI.

À amiga Marlise Becker, Coordenadora de Fauna do IBAMA do Estado de Santa Catarina, por todo apoio dado, e por direcionar animais mortos em outras cidades para o CEPESBI, permitindo a obtenção de material histológico.

À Profa. Sheila Wanke Marques pelo auxílio no CEPESBI durante o início do desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos de Santa Catarina, Stela, Alan, Alex, Guilherme, Karina, Nanci, Angela, Lurdinha e Mariana pela amizade, pelo carinho e pelo cuidado com os meus familiares durante a minha ausência.

Ao amigo Zé Carlos pela presença constante em minha vida e por assumir parte de minhas atividades na FURB..

Aos amigos que adquiri aqui na FFCLRP/USP durante este período, por estarem sempre próximos quando eu precisei.

À Coordenação e à Secretaria de Pós-Graduação da FFCLRP - USP,
aos colegas de curso e aos professores de Biologia Comparada do
Departamento de Biologia da FFCLRP - USP.

A todos aqueles que tornaram possível a realização desta tese.

Ao Sistema ACADE (Associação Catarinense da Federação das
Fundações Educacionais) pela concessão da bolsa de doutorado através do
Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica PICDT.

**“Como posso fazer ciência se nada sei?
Mas o que é ciência?
Será que é saber que cada dia menos sei?
Não sei, só sei que quanto mais sei, menos sei
e que quanto mais busco, menos acho...
Tantas dúvidas me surgem,
que meu objeto se torna mais confuso.
Bom pelo menos hoje sei que o que sei é muito pouco
e tenho ainda muito a saber,
seja qual for o meu tema...**

Braga – Hirano, 2001

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	viii
 1- APRESENTAÇÃO	 1
 2- OBJETIVO.....	 5
2.1. OBJETIVO GERAL	6
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6

CAPITULO I – COLORAÇÃO ANIMAL

I.1. INTRODUÇÃO.....	8
I.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
I.2.1. EXPERIMENTOS COM ANIMAIS EM CATIVEIRO.....	15
I.2.1.1. Animais.....	15
I.2.1.2. Liberação de Secreção, Temperatura Corpórea Temperatura Ambiente e Regiões do Corpo.....	17
I.2.1.3. Coleta de Secreção.....	17
I.2.2. EXPERIMENTO DE COLORAÇÃO “ <i>in vitro</i> ”.....	18
I.2.2.1. Capacidade de Coloração.....	18
I.2.2.2. Descoloração pela Água.....	23
I.2.3. COLORAÇÃO “ <i>in vivo</i> ”.....	23
I.2.3.1. Cor dos Pêlos nos Campos Cromatogênicos.....	23
I.2.4. ANÁLISE QUÍMICA DA SECREÇÃO.....	24
I.2.5. ESTUDOS DO COMPORTAMENTO DE ANIMAIS CATIVOS.....	26

I.3. RESULTADOS.....	27
I.3.1. LIBERAÇÃO DA SECREÇÃO EPIDÉRMICA.....	28
I.3.1.1. Faixa de Idade, Sexo e Regiões do Corpo.....	28
I.3.2. RELAÇÃO ENTRE TEMPERATURA CORPÓREA, TEMPERATURA AMBIENTE E LIBERAÇÃO DE SECREÇÃO.....	33
I.3.3. COLORAÇÃO.....	35
I.3.3.1. Coloração “ <i>in vitro</i> ”.....	35
I.3.3.1.1. Coloração com Secreção Fresca.....	35
I.3.3.1.2. Descoloração pela Água.....	36
I.3.3.1.3. Coloração por secreção estocada.....	38
I.3.3.2. COLORAÇÃO “ <i>in vivo</i> ”.....	42
I.3.3.2.1. Corpos Cromatogênicos.....	42
I.3.4. DOSAGENS QUÍMICAS.....	45
I.3.5. COMPORTAMENTO DE ESFREGAÇÃO EM CATIVEIRO.....	47
I.4. DISCUSSÃO.....	50

CAPITULO II – GLÂNDULAS

II.1. INTRODUÇÃO.....	55
II.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
II.2.1.MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS TEGUMENTARES.....	61
II.2.1.1. Obtenção de Material e Histologia.....	61
II.2.2. MICROSCOPIA ELETRONICA.....	63
II.2.3. DETECÇÃO DE TESTOSTERONA NO SORO.....	65
II.2.3.1. Quantificação de testosterona no soro de Bugios.....	65
II.3. RESULTADOS.....	67
II.3.1. ANÁLISE QUALITATIVA DAS GLÂNDULAS.....	68
II.3.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA.....	72
II.3.3. ANÁLISE QUALITATIVA DA TESTOSTERONA NO SORO.....	78

II.3.3.1. Níveis de Testosterona no sangue de Bugios.....	78
II.4. DISCUSSÃO.....	82

CAPITULO III – O COMPORTAMENTO SOCIAL

III.1. INTRODUÇÃO.....	88
III.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	91
III.2.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO SOCIAL EM AMBIENTE NATURAL.....	92
III.2.2.1. Área de Estudo.....	92
III.2.2.2. Animais.....	92
III.2.2.3. Procedimentos Gerais de Campo.....	93
III.3. RESULTADOS.....	96
III.3.1. A COR DOS ANIMAIS DE GRUPO.....	97
III.3.2. COMPORTAMENTO GERAL.....	97
III.3.2. LIDERANÇA NO DESLOCAMENTO.....	99
III.3.3. DESCANSO EM ESTRATO ARBÓREO SUPERIOR.....	99
III.3.4. HETEROCATACÃO.....	101
III.3.5. ESFREGAÇÃO.....	104
III.4. DISCUSSÃO.....	106
 3- CONCLUSÕES	115
 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	120
 5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	129

RESUMO

Primatas da subespécie *A. g. clamitans*, popular bugio, possuem um dimorfismo sexual evidenciado na fase adulta com machos de cor ruiva e fêmeas de cor castanho com nuances avermelhadas. Em estudos de cativeiro com esta subespécie descobriu-se uma secreção epidérmica avermelhada, semelhante à cor da pelagem dos MA. A partir desta constatação diferentes hipóteses têm sido levantadas sobre a função e a origem desta secreção. Assim, o presente estudo objetivou: 1- Analisar se esta secreção é responsável pela coloração do pêlo dos animais e se a água é capaz de descolorir os pêlos 2- Verificar se a liberação de secreção sofre influência das temperaturas corpórea e ambiente; 3- Identificar através de microscopia óptica e eletrônica as características morfológicas das glândulas produtoras de secreção, 4- Mapear as regiões do corpo dos animais que possuem tal glândula, 5- Definir qual sexo e faixa etária possui a glândula; 6- Determinar se a secreção é capaz de corar o pêlo mesmo após estocada a -4°C; 7- Avaliar a cor dos campos cromatogênicos, durante um ano em animais adultos, sub adultos e juvenis; 8- Analisar a composição da secreção; 9- Dosar o hormônio testosterona em animais de diferentes sexo e faixas etárias e 10- Verificar uma possível relação entre comportamento social em bugios silvestres e a cor observada. Constatou-se que MA, MSA, MJ, FA e FSA liberam secreção. A liberação em quase todas as regiões do corpo sofre influência da temperatura corpórea, diferindo apenas na região do hióide em MA e da mandíbula em MSA, regiões que a temperatura corpórea possuem maior influência. Verificou-se que pêlos de MSA quando mantidos em estufa, com a secreção fresca liberada por este animal, muda de cor, de escuro para ruivo, igualando a cor do pêlo de MA; uma vez pigmentado a água não muda a cor do pêlo,. A secreção estocada muda apenas à cor da região central do pêlo. Identificou-se a GPP (glândula produtora de secreção colorida), na região do osso hióide e mandíbula, em MA e MSA. Em FA e FSA identificou-se estrutura glandular menos desenvolvida, denominada de GPPi (glândula produtora de pigmento em fase intermediária) nas regiões do hióide, mandíbula, esterno e região inguinal. As GPPi estão também presentes na região inguinal e nuca de MA e MSA. Os animais juvenis e infantes apresentam somente glândulas sudoríparas normais em todas as regiões do corpo. Na secreção colorida não existem carotenóides. As secreções de MA, FA, MAS e MJ possuem diferentes concentrações de ferro. A secreção de MA apresentou maior concentração de ferro quando comparada às secreções dos animais de outro sexo e/ou idade. A microscopia eletrônica confirmou a característica secretora da GPP e evidenciou estruturas cristalinas dentro das células do ácino semelhantes as inclusões de ferro observadas no citoplasma de células de outros organismos. Os animais que sofreram maior variação de cor nos campos cromatogênicos foram os MSA, e foram os animais que tiveram maiores índices de esfregação, sugerindo um mecanismo de espalhamento da secreção Os níveis de testosterona, foram proporcionais ao sexo e idade dos animais, sendo os maiores valores encontrados em MA. O estudo do comportamento social mostrou que os MA ruivos possuem um

elevado *status* hierárquico e desempenham um papel de guardião do grupo. Os resultados indicam que a secreção colorida, liberada na epiderme de *A. g. clamitans*, são as responsáveis pela coloração do pêlo de MA devido à concentração de ferro. Um cromóforo que contém ferro seria um dos agentes responsáveis pela coloração. A diferença de cor nesta subespécie é uma característica sexual secundária, e parece ocorrer por um mecanismo ativacional do hormônio testosterona, ativando o desenvolvimento das glândulas GPP. O nível de testosterona, a presença de GPP e a coloração ruiva intensa possuem uma forte correlação com o *status* hierárquico de MA.

ABSTRACT

Adult brown howler monkeys, *Alouatta guariba clamitans*, have a clear sexual dimorphism, with red-haired males and chestnut females with red nuances. Captivity studies with this subspecies revealed an epidermic secretion of red coloration, similar to the coat color of adult males. Different hypotheses have been proposed on the function and origin of this secretion. The present work aimed to: 1 – analyze if fresh secretion is responsible for hair coloration in this animals and if water is capable to decolorize hair; 2 – verify if secretion release is affected by body and atmospheric temperatures; 3 – identify by optic and electronic microscopy the morphologic characteristics of the secretion-producing glands; 4 – map the areas of the animal body that have such glands; 5 – define which sex-age categories have this gland; 6 – determine if secretion is able to color hair after stored at -4° C; 7 – evaluate during one year the coloration of chromatogenic fields in adult, subadults and juvenile animals; 8 – analyze the secretion composition; 9 – measure testosterone levels in animals of different sex-age categories; 10 – verify the possible relationship between the social behavior of wild animals and the observed coloration. It was found that adult, subadult and juvenile males and adult and subadult females release secretion. The release in almost all body areas is under influence of the corporal temperature that is greater in adult male hyoid and subadult male jaw areas. The hair of subadult males of *A. g. clamitans* maintained in a stove treated with fresh secretion changes from dark to reddish color, similar to the adult males hair color. The water does not change the color of the hair, once pigmented. The stored secretion changes only the color of the central area of hair. The gland producing colored secretion (GPP) was identified in the area of the hyoid bone and jaw in adult and subadult males. In adult and subadult females a less developed glandular structure was found, denominated GPPi in the hyoid, jaw, breastbone and inguinal areas. GPPi are also present in the inguinal area and nape of adult and subadult males. The juvenile and infant animals presented only normal sweat glands in all body areas. There are no carotenoids in the colored secretion. The secretions of adult, subadult and juvenile males and adult females have different concentrations of iron and adult males presented larger concentration of iron in their secretions when compared to other sex and age categories. The electronic microscopy confirmed the secretory features of GPP and evidenced crystalline structures inside the acinus cells that resemble iron-containing structures evidenced in other cellular structures. Subadult males suffered the greater degree in color variation in chromatogenic fields, and they were also the animals that presented larger rubbing index, suggesting that this would be the mechanism of secretion dispersal. The testosterone levels were proportional to the sex and age categories of the animals, with the largest values found in adult males. The study of the social behavior showed that the reddish adult males have a superior hierarchic status and play the role of group guardians. Our results indicate that the colored secretions, released in the epidermis of *A. g. clamitans*, are responsible for the hair coloration in adult males due to iron concentration. An iron-containing chromophore would be one of the agents

promoting the coloration. The color difference in this subspecies is a secondary sexual trait that seems to occur through a testosterone-activated mechanism, promoting the development of GPP glands. Testosterone levels, the presences of GPP and the intense red-haired coloration have a strong correlation with the hierarchical status of adult males.

LISTA DE ABREVIATURAS

A:	Acino Glandular
CEPESBI:	Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial/SC
CLAD:	Cromatógrafo Líquido de Alta Pressão
CM:	Células Mioepiteliais
DP:	Camada Papilar
DR:	Camada Reticular
DS:	Ducto Secretor
EP:	Epiderme
FA:	Fêmea Adulta
FJ:	Fêmea Juvenil
FP:	Folículo Piloso
FSA:	Fêmea Subadulta
GPP:	Glândula Produtora de Pigmento
GPPI:	Glândula Produtora de Pigmento em Estágio Intermediário
GS:	Glândula Sudorípara
I:	Infante
MA:	Macho Adulto
MeOH:	Metanol
MJ:	Macho Juvenil
MSA:	Macho Subadulto
S:	Secreção

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fotografias do CEPESBI	16
Figura 2- Fotografia da Coleta de Secreção	18
Figura 3- Índice de Cor de Pêlo - Visão Macroscópica	21
Figura 4- Índice de Cor de Pêlo - Visão Microscópica	22
Figura 5- Dias com Liberação em Machos	30
Figura 6- Dias com Liberação em Fêmeas	31
Figura 7- Coloração de Pêlos com Secreção Fresca	37
Figura 8- Coloração com Secreção Estocada – Cor Geral	39
Figura 9- Coloração com Secreção Estocada – Cor Central	40
Figura 10- Coloração com secreção Estocada – Cor da Periferia	41
Figura 11- Campos Cromatogênicos	44
Figura 12- Correlação entre Concentração de Ferro e Índice de Cor do Campo Cromatogênico	46
Figura 13- Tempo de Esfregação - Animais em Cativeiro	48
Figura 14- Regiões Esfregadas - Animais em Cativeiro	49
Figura 15- Regiões do Corpo do Animal de Retiradas de Fragmentos para Histologia	62
Figura 16- Fotomicrografia de Pele	69
Figura 17- Fotomicrografia de Pele - Visualização da GPP	70
Figura 18- Fotomicrografia de Pele - Visualização do Ácino de GPP	70
Figura 19- Fotomicrografia de Pele - Visualização da GPPi	71
Figura 20- Fotomicrografia de Glândula Sudorípara	73
Figura 21- Fotomicrografia de Glândula Sebácea	74
Figura 22- Eletromicrografia de GPP - Visualização de Vesículas Eletrodensas e Eletrotransparentes	75
Figura 23- Eletromicrografia de GPP- Visualização de Inclusões Cristalóides	76
Figura 24- Eletromicrografia de GPP- Visualização de Inclusões Cristalóides	77
Figura 25A- Estrutura da Testosterona	79
Figura 25B- Espectro de Massa - Testosterona Padrão	79
Figura 26- Espectro de Massa - Hormônio Humano e de Bugios	80
Figura 27- Níveis de Testosterona em Soro de Bugios	81

Figura 28- Mapa do Município de Indaial e Localização da Área de Estudo	95
Figura 29- Comportamento Geral de um Grupo de Bugios em Ambiente Natural	98
Figura 30- Episódios de Deslocamento - Comportamento em Ambiente Natural	100
Figura 31- Episódios de Descanso - Comportamento em Ambiente Natural	100
Figura 32- Episódios de Catação	102
Figura 33- Estrela Hierárquica de Catação	103

1- APRESENTAÇÃO

O Brasil é o país que apresenta o maior número de espécies de primatas do mundo (MITTERMEIER, 1999). Os gêneros *Alouatta* e *Cebus* possuem a maior distribuição geográfica entre os primatas não humanos do Novo Mundo (COIMBRA-FILHO, 1977; MITTERMEIER, 1977; MITTERMEIER & COIMBRA-FILHO 1981; LANGGUTH *et al.*, 1987; NEVILLE *et al.*, 1988).

Em meio a esta grande variedade de primatas existem os primatas do gênero *Alouatta* Lacépède 1799, pertencente à família Atelidae, com nove espécies, *A. seniculus*, *A. sara*, *A. nigerrima*, *A. belzebu*, *A. guariba*, *A. palliata*, *A. coibensis*, *A. caraya* e *A. pigra* (RYLANDS *et al.*, 2000).

Os animais pertencentes ao gênero *Alouatta* são primatas neotropicais, arborícolas de grande porte são popularmente conhecidos como bugios, barbados ou guaribas. Possuem espessa e vasta barba sob a face nua e pele negra, hipertrofia do osso hióide, que é acentuada nos machos, apresentam cauda preênsil com palma agindo como quinto membro esquizodactilia, corpo maciço com longa pelagem, porém ventre e peito com pelagem rala e possuem 36 dentes (AURICCHIO, 1995).

Apresentam dimorfismo sexual por dicromatismo em algumas espécies ou subespécies: *Alouatta caraya*, *A. belzebul ululata* e *A. guariba clamitans* (BICCA-MARQUES, 1991).

São folívoros comportamentais quanto à dieta (ALVES, 1983; HIRANO *et al.*, 1997; SANTINI, 1985), são animais diurnos e gastam mais da metade de seu período de atividade descansando (SHLICHTE, 1978 *appud* SANTINI,

1985). A maturidade sexual é atingida de 4 a 5 anos em fêmeas e 6 a 8 anos em machos. A gestação dura de 185 a 195 dias aproximadamente, nascendo apenas um filhote com massa de 120 a 130 g, e não apresentam estação reprodutiva. Vivem cerca de 20 anos (AURICCHIO, 1995).

Formam grupos de ambos os sexos, com indivíduos de diferentes idades, com tamanho médio variando de 3,3 a 20,8 animais (BICCA-MARQUES, 1991) com maior número de fêmeas (CARPENTER, 1934).

Os estudos referentes à ecologia e comportamento em *Alouatta* se iniciaram com os trabalhos de CARPENTER (1934) com *Alouatta palliata*, na Ilha de Barro Colorado, no Panamá, e até hoje é a espécie mais estudada.

Segundo KAVANAGH & BENNETT (1984) o gênero *Alouatta* conta com quatro espécies no Brasil, *A. belzebul*, *A. caraya*, *A. guariba* e *A. seniculus*.

A espécie *Alouatta guariba* é encontrada na Floresta Atlântica do Brasil. Esta distribuída pela região costeira dos Estados da Bahia ao Rio Grande do Sul, na parte oriental de Minas Gerais, estendendo-se até a porção norte do território argentino, na Província de Misiones. Limita-se a áreas florestais onde a vegetação arbórea satisfaça suas necessidades de alimentação e deslocamento (IHERING, 1914; SILVA, 1981; GREGORIN, 1996).

Em 1992, iniciaram-se na Universidade Regional de Blumenau (FURB) estudos sobre o comportamento de *Alouatta guariba clamitans* em ambiente natural. Tais estudos propiciaram trabalhos de educação ambiental e a entrega pela população de animais que se encontravam em cativeiros

clandestinos. A dificuldade de manutenção destes animais em zoológicos e o alto índice de mortalidade observado no manejo dos mesmos, levaram à construção de um Centro de Estudo de Primatas e Cativeiro Científico (CEPESBI). Os estudos realizados neste centro têm subsidiado a reabilitação, a readaptação e a reintrodução dos animais encontrados em cativeiro clandestino ao ambiente natural.

As atividades desenvolvidas no CEPESBI permitiram o manuseio dos animais, e durante esta atividade observou-se que estes liberavam uma secreção epidérmica de coloração avermelhada (ferrugem) em diferentes regiões do corpo. Esta secreção tingia a luva e o avental dos pesquisadores do centro.

Há 81 anos atrás a filha do curador do zoológico de Nova York- EUA descreveu a existência de secreção epidérmica em animais *do gênero Alouatta especificamente em Alouatta seniculus*,. (DITMAR, 1922).

Estes fatos motivaram o desenvolvimento do presente estudo, que teve como objetivo principal, compreender o papel biológico desta secreção. Desenvolveu-se um estudo com abordagens bioquímicas, morfológicas, fisiológicas e comportamentais.

2-OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o papel biológico da secreção epidérmica colorida liberada por *A. g. clamitans*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a faixa de idade e sexo capaz de liberar a secreção epidérmica colorida.

Avaliar a relação existente entre a capacidade de liberação de secreção em diferentes sexos e faixas de idade e a capacidade de colorir os pêlos.

Relacionar liberação de secreção com a temperatura corpórea, a temperatura ambiente e os diferentes sexos e faixas de idade dos animais.

Identificar e definir a morfologia das glândulas liberadoras de secreção colorida, definindo sua distribuição nas diferentes faixas de sexo e idade.

Definir os componentes químicos responsáveis pela cor na secreção, fazendo comparações entre os diferentes sexos e faixas de idade.

Inferir uma relação entre a secreção e a estrutura hierárquica estabelecida nesta espécie animal em ambiente natural.

Com a finalidade de facilitar o acompanhamento deste estudo o mesmo foi dividido em três capítulos: I- Coloração Animal, II- Glândula e III- comportamento Social

CAPÍTULO I - COLORAÇÃO ANIMAL

I.1. INTRODUÇÃO

Desde os primeiros naturalistas a coloração animal, sua função e os mecanismos que mantém na natureza, têm sido de interesse para a Ciência. A partir do século XIX, com a publicação dos trabalhos de Darwin, Wallace, Bates, Müller e outros, o estudo da coloração animal ganhou um grande impulso. A literatura atual sobre o assunto é extensa, abrangendo principalmente camuflagem, mimetismo, aposematismo, termorregulação e seleção natural (DEL CLARO & VASCONCELLOS-NETO, 1992).

A coloração animal tem como principais funções: a identificação, a termorregulação, a comunicação e a fuga de predadores, sendo que estas podem agir como forças relativas conjuntas ou antagônicas (ENDLER, 1978; BRAKEFIELD, 1985). Na maioria das vezes, o padrão de coloração só tem função, quando ajustado a um mecanismo comportamental.

A pele de todos os primatas é coberta por pêlos. A textura, a densidade, a cor e o comprimento variam entre as espécies. Um dos critérios mais importantes para diferenciar espécies pertencentes a um gênero é freqüentemente a cor do pêlo. Em adição as colorações básicas da pele, algumas espécies e subespécies mostram considerável variabilidade sexual na coloração padrão do adulto. A coloração externa em primatas não é apenas limitada ao pêlo, em alguns primatas a pele de parte do corpo, tais como a face e o períneo de adultos, tem cor azul, cinza e/ou vermelho. Todas essas colorações são parte de sinais visuais dentro de um contexto comportamental de organização social (TURNQUIST & HONG, 1995).

O pêlo dos primatas é constituído por quatro unidades estruturais, a medula que é a porção central do pêlo, o córtex que fica ao redor da medula, os grânulos pigmentares e a cutícula que é a parte mais externa do pêlo. As células da cutícula e do córtex são constituídas de queratina dura (α queratina) enquanto as células da medula são constituídas por queratina mole (β queratina) (KEOGH, 1983; MACFARLAND, 1985). Dois tipos de pigmentos melânicos são em geral, os responsáveis pela coloração dos pêlos de mamíferos, a eumelanina e a feomelanina. A eumelanina é responsável pelas colorações de castanho a preto. A feomelanina torna os pêlos de amarelo a vermelho. As melaninas são sintetizadas em organelas especializadas chamadas melanossomas, no interior dos melanócitos, na pele e em folículos pilosos (HERSHKOVITZ, 1968). A melanina escura (eumelanina) é produzida via triptofano, enquanto a melanina amarela (feomelanina), é formada por uma via secundária do triptofano (QUEVEDO JR. , 1969).

A pigmentação em mamíferos resulta da síntese e distribuição de melanina na pele, bulbo capilar e olhos (DEL MARMOL & BEERMANN, 1996).

A síntese de eumelanina e feomelanina ocorre a partir da tirosina proveniente de triptofano (BERTAZZO *et al.*, 2000). O processo possui duas enzimas importantes, as tirosinases TRP1 e TRP. Estas iniciam a melanogênese, mas diferentes fatores pós tirosinases interferem para modular a quantidade e qualidade do pigmento produzido. A dopaquinona é um composto intermediário chave na formação de feomelanina e

eumelanina. Diferentes fatores estão envolvidos no tipo de melanina a ser sintetizada: compostos sulfidril como precursor de cisteína; MSH (hormônio melanócito estimulante) e TRP1 (DEL MARMOL & BEERMANN, 1996).

A cisteína interage não enzimaticamente com a dopaquinona para formar cisteínildopa, que é um precursor direto da feomelanina. A cinética de reação entre compostos sulfidril e dopaquinona é muito mais rápida do que a ciclização de dopaquinona em L-dopa (leucodopacromo). Portanto, a concentração de cisteína é crítica para o tipo de melanina a ser sintetizada (DEL MARMOL & BEERMANN, 1996).

A presença de íons cobre e ferro na oxidação da 5-S-cisteinil dopa, o precursor primário da biossíntese de feomelanina e tricocromos, variam marcadamente por dois produtos. Um desses foi identificado como oxibenzotiazina, que foi obtida previamente em condições não fisiológicas e o outro composto, hidroxibenzotiazol foi obtido a partir da oxidação de persulfato na presença de íons cobre e ferro (DONATO *et al.*, 2002).

A presença de íons cobre ou ferro podem bloquear a via primária (principal) de formação da eumelanina estimulando assim a via secundária formando a feomelanina ou de tricocromos (DONATO *et al.*, 2002). Os íons metálicos (ferro, cobre e zinco) são fatores de regulação da biossíntese de pigmentos vermelhos dos pêlos humanos (DONATO *et al.*, 2002).

Níveis elevados de íons cobre e ferro são verificados em melanossomos (DONATO *et al.*, 2002). A ocorrência desses metais é verificada no interior de outros compartimentos dos melanócitos e particularmente em pré-melanosomos (SHIBATA *et al.*, 1993). O ferro

desempenha um papel central na pigmentação do tipo vermelha em pêlos de alguns mamíferos,. penas e cabelos humanos (FLESCHE, 1968). O elemento ferro é o maior fator epidérmico em espécies de cor vermelha. (FLESCHE,1970). Seres humanos com desnutrição proteína/calórico possuem cabelo ruivo, devido a um pigmento chamado tricosiderina (FLESCHE, 1968). Este é um cromóforo não orgânico, ou seja, uma proteína ligada frouxamente ao ferro. A cor vermelha do cabelo de indivíduos normais é devida, principalmente, a feomelanina.

Entretanto, a eumelanina, que dá cor preta aos pelos, em determinadas condições, pode se transformar em vermelho. A tricosiderina por sua vez, não é formada pela mesma via de formação da eumelanina ou feomelanina. Ela pode ser formada pela redução da dopa ou pela menor concentração de cisteína no organismo (FLESCHE, 1970).

Indivíduos que têm o cabelo ruivo são menos adaptados que àqueles de cabelo preto ou castanho, isto porque em ambiente com muita radiação solar, os pigmentos vermelhos não oferecem proteção contra os raios UV. (FLESCHE, 1970).

O padrão de coloração do pêlo, envolvendo padrão de distribuição, presença de diferentes pigmentos, distribuição de campos cromatogênicos e suas aplicações para o entendimento da evolução de primatas do gênero *Callitrix*, foi proposto por HERSHKOVITZ (1968).

HERTSHKOVITZ (1968) propôs a teoria do Metacromatismo, que define a existência de grupos basais de coloração com padrões polimórficos grisalhos. Os padrões derivados surgem pela saturação dos pêlos por

pigmentos vermelhos (feomelanina) ou preto (eumelanina), até atingir grau máximo de diferenciação, a cor branca. Estas transformações podem seguir o caminho da saturação pela feomelanina, caminhando da cor vermelha para alaranjado, amarelo, creme até atingir o branco ou a saturação pela eumelanina, caminhando do preto para o marrom, castanho, cinza e branco, podendo ocorrer estados intermediários pela mistura de pigmentos vermelhos e pretos. Segundo esta teoria, a mudança na distribuição dos pigmentos é um processo irreversível.

Segundo GREGORIN (1996) o entendimento da distribuição do padrão colorido do pêlo e da pele das espécies pertencentes a um mesmo gênero são de grande importância para o conhecimento de sua evolução.

GREGORIN (1996) em estudo sobre a distribuição geográfica e taxonômica das espécies brasileiras do gênero *Alouatta*, analisou em espécimes de museu, o padrão de distribuição da coloração pela observação da presença de pigmentos (eumelanina e feomelanina), variação na intensidade deste pigmento e as áreas específicas do corpo onde esses pigmentos ocorrem. Em indivíduos adultos de ambos os sexos, descreveu a existência de padrões de coloração amarelo, preto mais amarelo, preto mais vermelho, ruivo e dourado. Os bugios jovens não apresentam os padrões negros mais amarelo e nem dourados. Para o autor, o estado plesiomorfo em *Alouatta* (amarelo e preto) está presente nos grupos basais como *A. palliata* e *A. caraya*. O pigmento vermelho surge mais adiante na evolução do gênero em *A. guariba* e *A. belzebul*, como um estágio intermediário apresentam um padrão de coloração totalmente ruivo ou outra cor derivada

de pigmentos vermelhos. O grau máximo de coloração vermelha ou tonalidades derivadas dela é evidenciada em *A. seniculus*.

Alguns resultados de GREGORIN (1996) corroboram a teoria do Metacromatismo de HERSHKOVITZ (1968). Por exemplo, em *A. b. ululata*, as FA são amareladas e as FJ são negro e vermelho. Em *A. seniculus* e os jovens possuem coloração ruiva escura e vermelha e adultos, coloração dourada. Por outro lado, *A. caraya*, possui jovens de ambos os sexos com pêlos de cor amarela e creme e MA com pêlos negros, contrariando essa teoria, pois a partir de um caracter creme surge um suposto caracter mais primitivo, negro.

O pêlo de animais da subespécie *A. g. clamitans* é vermelho em MA. Foi relatada a existência de uma secreção avermelhada semelhante à cor do pêlo destes animais, sendo liberada na epiderme dos mesmis (FERREIRA DOS SANTOS *et al.*, 2003).

I.2. MATERIAL E MÉTODOS

I.2.1. EXPERIMENTOS COM ANIMAIS EM CATIVEIRO

I.2.1.1. Animais

Utilizaram-se dezoito animais (5MA, 4MSA, 3MJ, 3FJ e 3FSA) da subespécie *A. g. clamitans*, mantidos no CEPESBI (figura 1A), individualmente instalados em gaiolas enriquecidas (figura 1B), com dimensões de 3 x 5 x 2,6 m (largura x comprimento x altura respectivamente). O enriquecimento é composto de cordas, troncos, varias plataformas alimentares adaptadas aos troncos, brinquedos e folhagens (figura 1C). Limpavam-se diariamente as gaiolas com formalina 10%, e manipulavam-se os animais com luva e máscara cirúrgicas para evitar contaminação (figura 1E). Os animais recebiam acompanhamento veterinário semanal pelo Dr Edgar Cardoso (figura 1D). A alimentação foi sempre balanceada e controlada em horários semelhantes aos observados em animais silvestres (morro Geisler). A alimentação incluía: folhas, flores e frutas de árvores dos quais os animais silvestres se alimentam, além de ovo, ração para cachorro pequeno da Purina e frutas da estação (banana, laranja, mamão, melancia, kiwi, goiaba, tangerina, melão, manga; etc) (figuras 1F e 1G).

Figura 1: Fotografias do CEPESBI (Centro de Pesquisas Biológicas de Indaial, SC). **A-** sede do centro; **B-** vista lateral de uma gaiola, mostrando a contenção construída em madeira; **C-** sistema de enriquecimento; **D-** cuidados veterinários realizados pelo Dr. Edgar Cardoso; **E-** manipulação com luvas e máscara; **F-** alimentação com folhas; **G-** pesagem das frutas oferecidas.

I.2.1.2. Liberação de Secreção, Temperatura Corpórea, Temperatura Ambiente e Região do Corpo

Todos os dias no período de novembro de 1998 a novembro de 2000, em dois horários (matutino e vespertino) foram coletados dados relativos à:

Liberação de secreção epidérmica – verificava-se visual e manualmente se o animal liberava ou não secreção. Encostavam-se tiras de papel Whatman na pele dos bugios e observava-se a liberação para confirmar e quantificar a presença da secreção. Registrava-se qual região estava liberando.

Temperatura corpórea – aferia-se através de coleta axilar, com termômetro digital.

Temperatura ambiente – no horário da coleta de dados aferia-se a temperatura ambiente através de um termômetro comum, presente no CEPESBI.

I.2.1.3. Coleta de Secreção

Todas as vezes que os animais alojados no CEPESBI liberavam secreções epidérmicas coloridas, realizaram-se as coletas, de 1998 a 2003.

Transferiram-se as secreções coletadas para frasco âmbar com etiqueta onde se anotava a data, ano, nome do animal, temperatura ambiente, temperatura corpórea no horário da coleta, região de liberação no corpo do animal, sexo, faixa etária e a cor do animal. Estes frascos foram estocados em freezer a -4°C . As secreções estocadas foram posteriormente utilizadas para

os experimentos de coloração de pêlo e análise da composição da secreção. Parte das secreções coletadas, foram imediatamente utilizadas em experimentos de coloração dos pêlos com secreção não estocada. As fotografias da coleta e da secreção podem ser observadas nas figuras 2 A e B. Na figura 2C observamos um frasco com a secreção.

Figura 2: A, fotografia mostrando o dorso de um MSA, a seta branca indica a secreção sendo liberada. B, a secreção sendo coletada. C, frasco com a secreção coletada.

I.2.2. EXPERIMENTOS DE COLORAÇÃO “*in vitro*”

I.2.2.1. Capacidade de Coloração

A capacidade da secreção epidérmica de corar pêlos foi ensaiada “*in vitro*”, com secreção fresca e com secreção estocada a -4°C . Os experimentos realizados estão descritos na tabela I.

Os ensaios foram realizados em frascos de cor âmbar, fechados e mantidos em estufa a 38°C (temperatura corpórea média avaliada em animais do CEPESBI).

Quinzenalmente, durante 10 meses, esses pêlos foram analisados em estereomicroscópio para verificação da cor geral (aspecto) e em microscópio óptico para análise da cor da periferia e centro. As cores, macroscópicas (geral) e microscópicas (centro e periferia), dos pêlos foram estabelecidas de acordo com os índices das figuras 3 e 4, respectivamente. Para a definição dos índices de cor, fotografou-se 50 animais (cativos e de vida livre de diferentes sexo e idade), estabeleceu-se uma escala de acordo com a idade do animal e a tonalidade do pêlo e para cada cor adotou-se um número arbitrário correspondente. Por exemplo, o pêlo escuro de um animal jovem, observado macroscopicamente recebeu o número 1 e assim por diante, até a cor clara dos MA que recebeu o número 8. Na figura 3A observa-se algumas fotos da pelagem de diferentes regiões do corpo de animais de diferentes sexo e idade que originaram a escala da figura 3B com os índices de cor estabelecidos. Realizou-se a análise da periferia e centro (figura 4A) do pêlo em microscópio, as cores foram atribuídas de acordo com a escala numérica produzida por fotografias de pêlos em microscópio (figura 4B), apresentada na figura 4C.

Tabela I: Utilizaram-se pêlos de *A. g. clamitans* em diferentes faixas sexo etária. MA, macho adulto; MAS, macho subadulto; MJ, macho juvenil; FA, fêmea adulta; FSA, fêmea subadulto. (E), secreção estocada -4°C ; (SS), sem secreção e (F), secreção não estocada.

PÊLO	SECREÇÃO
FA	MA (E)
	MAS (E)
	FA (E)
	SS
MSA	MA (E)
	MAS (E)
	FA (E)
	SS
MJ	MA (E)
	MAS (E)
	FA (E)
	SS
MA	SS
MSA	MAS (F)
	SS

Figura 3: Em **A**, **B**, **C** e **D** fotografias de pêlos de animais da subespécie *A. g. clamitans*. **A-** fêmea subadulta região do dorso; **B-** macho juvenil região da nuca; **C-** macho subadulto região do dorso; **D-** macho adulto região da nuca. Em **E**, escala de cor, com número correspondente, elaborada por meio de fotografias da pelagem de 50 animais do CEPSBI e de vida livre.

Figura 4: **A**, esquema de um pêlo indicando as regiões analisadas ao microscópio em experimentos de coloração. 1, periferia e 2, centro do pêlo. **B**, fotografias de pêlos ao microscópio óptico, obtidas de vários animais da subespécie *A.g.clamitans*. **C**, escala de cor com números correspondentes, obtidos através das fotografias de B.

I.2.2.2. Descoloração pela Água

Pêlos de MSA submetidos aos experimentos de coloração com pigmento fresco e analisados, quanto à aquisição de cor, foram transferidos para frascos com água e avaliados a cada mês quanto à perda da coloração. Os pêlos que permaneceram em secreção por 15, 30, 45, 60, 75 dias (e assim por diante até completar dose meses) foram transferidos para água, analisava-se então quinzenalmente a cor de acordo com as figuras 3E e 4C, quanto à cor geral (macroscópica), periférica e central (microcópicas). Compararam-se as cores obtidas durante o período de coloração e as cores obtidas durante o período de permanência na água. Compararam-se experimentos controles com pêlos de MSA e de MA que não foram colocados em secreção.

I.2.3. COLORAÇÃO “*in vivo*”

I.2.3.1. Cor dos Pêlos nos Campos Cromatogênicos

As vinte regiões com campos cromatogênicos estudadas foram as estabelecidas por HERSHKOVITZ(1968), conforme relacionadas: cabeça, nuca, barba, braço, cotovelo, antebraço, mão, dorso, flanco, lombo, base da cauda, ápice da cauda, cocha, joelho, pé, anugenital, cor geral, pavilhão auditivo, topete e contorno da face.

A cada 15 dias por um período de 12 meses, por meio de observação visual, foram atribuídos índices conforme tabela de cor pré-estabelecida (figura 3E) para cada um dos campos cromatogênicos de cada animal.

Quantificou-se o índice de cor dos pêlos na primeira (tempo zero) e última (após um ano) observação, de cada um dos campos cromatogênicos, de cada animal em cada sexo e faixa etária. Avaliaram-se quantas vezes um determinado índice de cor foi observado em cada um dos 20 campos em doze meses.

Calculou-se a média e o percentual do número de campos cromatogênicos que aparecia um determinado índice de cor por faixa de sexo e idade. Foram comparados os valores obtidos na primeira e última observações, por meio de teste *t* com $P < 0,05$. E entre todas as quinzenas foram avaliados pelo teste de análise de variância de única via.

I.2.4. ANÁLISE QUÍMICA DA SECREÇÃO

Realizou-se a partição das secreções de MA, FA, MSA, MJ em acetato de etila, a fração orgânica foi seca em fluxo de nitrogênio. O resíduo de acetato foi seco suspenso em metanol/água (9:1) e analisado em um cromatografo liquido Shimadzu (C10AD VP) com detector de UV-visível (Shimadzu SPD 10 AVP) com sistema de controle (SCL 10 AVP) e com detector de arranjo de diodo (SPD-M10AVP). Todo o sistema (CLAD) está acoplado a um espectrômetro de massa (MICROMAAS-QUATRO LC).

O espectrômetro de massa serviu para determinar a massa molecular e realizar uma varredura em UV-Vis para detecção dos comprimentos de onda de absorção dos compostos existentes na amostra.

Procurou-se detectar a presença de carotenóides na secreção, assim utilizou-se para comparação um padrão de carotenóide.

Nas análises de Espectrometria de Massa (HPLC-EM) não foi detectada presença de carotenóides nas secreções.

Analisou-se o conteúdo do íon ferro da secreção, por ele ser um dos responsáveis pela coloração ruiva de pêlos humanos (FLESH, 1970).

Foram dosadas amostras de secreções de MA, MSA, MJ, FA e FSA de cativeiro. As amostras foram coletadas, lacradas em frasco escuro e congeladas a -4°C .

As análises de ferro foram realizadas no espectrofotômetro de absorção atômica Shimadzu AA-680G operando nas seguintes condições lâmpada HC 8 mA, abertura da fenda 0,2 mm, $\lambda=248,3$ nm. As condições da chama sendo, chama de ar- C_2H_2 , com fluxo de acetileno de 2 l/min, oxidante 8 l/min, altura do queimador de 8 cm. Para traçar a curva de calibração foram utilizadas as concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 5,0 ppm de ferro.

Amostras da secreção (50 μL) foram diluídas para 1 mL e analisadas em triplicata. O valor final em ppm foi convertido em $\mu\text{g/mL}$ para facilitar a análise dos dados.

As análises químicas das secreções foram realizadas no Laboratório do **Prof. Dr. Norberto P. Lopes** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP de Ribeirão Preto.

I.2.5. COMPORTAMENTO DE ANIMAIS CATIVOS

Para melhor compreensão do mecanismo de espalhamento da secreção por toda a superfície corpórea dos animais, avaliou-se o comportamento de esfregação em animais cativos.

O comportamento de esfregação foi avaliado em 4 MA e 3 MSA, durante 12 h diárias, duas vezes por mês por animal ao longo de 1 ano.

A cada 15 dias realizava-se a coleta de dados durante 12 h seguidas (das 6 às 18 h) pelo método focal (ALTMANN, 1974), analisava-se o local esfregado e o tempo de ocorrência do episódio. Ao mesmo tempo, a cada uma hora foi coletada temperatura ambiente, corpórea, liberação de pigmento e local de liberação no corpo. A categoria esfregação foi definida como o ato do animal esfregar a mão em qualquer parte de seu corpo ou esfregar o corpo em qualquer parte da gaiola ou itens do enriquecimento. Durante o episódio de esfregação registrava-se o local do corpo do animal que estava sendo esfregado com a mão ou na gaiola. Calcularam-se as médias dos tempos gastos pelos animais ao longo do dia. A análise paralela da liberação ou não de secreção em cada hora de amostragem levou ao cálculo da média de horários com liberação de secreção ao longo do dia. Compararam-se os dados de esfregação em cada horário, para cada região do corpo entre MA e MSA. Avaliou-se a correlação existente entre horários de esfregação ao longo do dia e horários de liberação de secreção.

I.3. RESULTADOS

I.3.1. LIBERAÇÃO DE SECREÇÃO EPIDÉRMICA

I.3.1.1. Faixa de Idade, Sexo e Regiões do Corpo

A análise dos dados relativa a liberação diária de secreção epidérmica, em machos e fêmeas de diferentes faixas de idade, permitiu calcular a porcentagem do número de dias com liberação de secreção em cada região do corpo e podem ser visualizados nas figuras 5 e 6.

As porcentagens referentes aos dias com liberação de secreção nas diferentes regiões do corpo de machos em diferentes faixas de idade ao longo de 16 meses encontram-se representadas na figura 5. Observou-se que MJ, MSA e MA, liberam secreção em todas as regiões do corpo analisadas e as regiões da cabeça, face, mandíbula, coccígea, cervical, nuca e têmpora apresentam maior número de dias com liberação que as outras regiões. Infantes apresentaram liberação apenas na barriga e em um baixo percentual de dias. Os MSA mostraram maiores valores de porcentagens de dias com liberação, em todas as regiões do corpo, que as outras faixas etárias. Esta diferença mostrou-se significativa pelo teste da análise de variância para $P < 0,05$.

Em fêmeas (figura 6), verificou-se liberação de secreção epidérmica colorida em todas as faixas etárias (FA, FSA e FJ). As FJ liberaram secreção apenas nas regiões da face e têmporas. As FA e FSA liberaram secreção em todas as regiões do corpo avaliadas. As FA apresentaram maiores porcentagens de dias com liberação que fêmeas em outra faixa etária, quando comparados os valores pela análise de variância para $P < 0,05$. Não foi observada diferença significativa entre o número de dias com liberação de secreção nas diferentes regiões do corpo de MSA e FA e entre MA e MJ.

A tabela II mostra a distribuição das porcentagens de dias com liberação em cada região do corpo de MA, MSA, MJ e FA, em conjunto com as variações mensais de temperatura ambiente.

Os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março, que possuem maiores valores de temperatura ambiente, foram os que apresentaram os maiores percentuais de dias com liberação de secreção. Nos meses mais frios (junho e julho) ocorreu uma grande queda nas porcentagens de dias com liberação em todas as regiões. Algumas regiões não apresentaram liberação nestes meses.

Figura 5: Porcentagem de dias com liberação de secreção em diferentes regiões do corpo de (MA) machos adultos; (MSA) subadultos; (MJ) juvenis, e (I) infantes, nos meses de novembro de 98 a fevereiro de 2000. (*) diferença significativa, entre a porcentagem de dias com liberação nas diferentes regiões do corpo de MAS; (**) MJ e (***) MA, pelo teste de análise de variância ($P < 0,05$).

Figura 6: Porcentagem de dias com liberação de secreção em diferentes regiões do corpo de (FA) fêmeas adultas; (FSA) subadultas e (FJ) juvenis durante os meses de novembro de 98 a fevereiro de 2000. (*) diferença significativa entre a porcentagem de dias com liberação nas diferentes regiões do corpo de FA e (**) FSA por análise de variância ($P < 0,05$).

Tabela II: Tabela com a porcentagem de dias de liberação durante os meses de novembro,(N) de 1999 á novembro de 2000, em diferentes regiões do corpo de macho adulto (MA); fêmea adulta,(FA); macho subadulto, (MSA) e macho juvenil (MJ) de *A.g. clamitans* mantido em cativeiro no CEPESBI/ Indaial(SC). N, novembro; D, dezembro; J, janeiro; F,fevereiro; M, março; A, Abril; M; maio, jun, junho; jul, julho; Ag, agosto, S, setembro; O, outubro; N, novembro

		N	D	J	F	M	A	M	Jun	Jul	Ag	S	O	N
TA		30,2	32,7	31,5	31,4	30,3	30,0	27,8	27,2	27,0	25,6	24,7	24,2	23,8
face	MA	64	65	50	44	67	18	24	14	4	15	2	14	13
	FA	64	78	85	70	81	50	36	35	24	45	42	24	32
	MAS	10	41	38	18	0	15	10	0	9	0	16	5	14
	MJ	9	22	13	0	9	3	3	0	0	0	3	11	11
cabeça	MA	55	57	65	50	59	0	2	20	14	39	31	13	15
	FA	100	78	55	57	72	15	13	0	0	9	11	6	11
	MAS	91	87	85	80	81	50	45	58	29	59	42	24	27
	MJ	100	91	100	83	88	80	70	6	14	23	26	5	0
cervical	MA	36	59	80	50	18	0	0	0	10	1	29	6	5
	FA	73	74	65	70	75	41	32	0	14	45	42	10	5
	MAS	90	91	94	82	100	55	50	6	5	0	21	5	0
	MJ	100	83	55	50	50	15	10	17	0	14	8	2	0
têmpera	MA	73	67	65	56	71	0	2	26	15	42	32	11	20
	FA	91	83	85	80	75	50	50	47	38	59	42	24	36
	MAS	100	86	100	83	81	85	70	18	14	18	26	5	5
	MJ	100	87	57	44	63	20	14	0	0	9	11	8	12
lombar	MA	27	50	70	44	41	0	0	16	10	0	26	7	5
	FA	73	61	60	60	75	36	27	18	14	41	42	13	0
	MAS	80	86	94	91	94	45	45	12	9	9	21	9	4
	MJ	100	83	48	39	56	17	8	0	0	0	8	3	2
nuca	MA	73	55	0	56	59	0	0	20	0	1	29	5	8
	FA	73	83	95	80	81	50	27	47	0	45	42	5	9
	MAS	90	95	100	91	88	45	40	12	9	14	21	19	0
	MJ	91	87	58	61	56	14	10	0	10	0	5	6	3
braço	MA	27	38	60	39	41	0	10	7	0	9	19	3	0
	FA	55	57	55	55	69	36	4	11	0	19	21	13	0
	MAS	60	77	94	73	75	35	18	0	0	0	5	0	0
	MJ	91	74	0	28	44	12	5	0	0	0	0	5	3
mandíbula	MA	36	62	65	50	53	0	7	0	16	1	26	5	3
	FA	55	65	75	67	75	45	32	0	19	45	42	14	5
	MAS	70	91	94	80	75	50	50	6	14	5	16	5	0
	MJ	82	78	31	31	47	18	11	0	0	2	5	6	3

I.3.2. RELAÇÃO DA TEMPERATURA CORPÓREA, TEMPERATURA AMBIENTE E LIBERAÇÃO DE SECREÇÃO

Foi avaliada a correlação existente entre número de dias com liberação de secreção em cada região do corpo e as temperaturas corpórea e ambiente. Os valores dos coeficientes de correlação obtidos encontram-se na tabela III.

Os valores dos coeficientes de correlação entre a temperatura ambiente e a porcentagem de dias com liberação de secreção ao longo dos meses, em cada região do corpo de MA, MSA, MJ e FA, foram maiores em quase todas as regiões do corpo que os valores de coeficientes encontrados entre temperatura corpórea e porcentagens de dias com liberação. A região do hióide em MA e a mandíbula em MSA apresentaram maior correlação entre dias com liberação de secreção e a temperatura corpórea, indicando que as GPP nestas regiões, em MA e MSA sofrem maior influência da temperatura corpórea que da temperatura ambiente. Nas outras regiões avaliadas a temperatura ambiente possui maior influência. Os valores de coeficiente de correlação obtidos para a região do hióide de MAS, MJ, FA e FSA, foram baixos indicando que a liberação de secreção nesta região, em animais dessa faixa etária e de sexo não sofre influência da temperatura ambiente e nem da temperatura corpórea. Valores baixos de coeficiente de correlação entre liberação de secreção e as temperaturas ambiente e corpórea foram também encontrados em todas as regiões avaliadas de FSA, indicando que a liberação de secreção em FSA não possui relação com as temperaturas ambiente e corpórea.

TABELA III: Valores de coeficientes de correlação obtidos entre o percentual médio de dias com liberação de secreção em diferentes regiões do corpo de *A. g. clamitans* em diferentes sexo e faixas etárias. Médias de temperaturas ambiente (TA) e temperatura corpórea (TC) ao longo 16 meses. Os diferentes sexos e faixas etárias estão representados como macho adulto (MA), macho subadulto (MSA), macho juvenil (MJ), fêmea adulta (FA) e fêmea subadulta (FSA).

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO										
	MA		MSA		MJ		FA		FSA	
REGIÕES	TA	TC	TA	TC	TA	TC	TA	TC	TA	TC
Cabeça	0,67	0,33	0,77	0,36	0,80	0,65	0,60	0,45	0,34	0,09
Face	0,76	0,27	0,43	0,14	0,41	-0,21	0,75	0,31	0,29	-0,37
Mandíbula	0,72	0,45	0,49	0,76	0,67	0,63	0,67	0,42	-0,20	-0,39
Lombar	0,65	0,42	0,82	0,46	0,70	0,66	0,67	0,43	0,34	0,08
Cervical	0,59	0,22	0,80	0,41	0,64	0,73	0,72	0,40	-0,33	0,13
Nuca	0,72	0,38	0,80	0,48	0,74	0,68	0,71	0,31	-0,20	0,02
Base da cauda	0,46	0,43	0,67	0,09	0,67	0,61	0,67	0,41	-0,24	0,34
Inguinal	0,71	0,35	0,59	0,33	0,61	0,49	0,69	0,04	0,32	-0,39
Axila	0,70	0,31	0,59	0,34	0,65	0,59	0,69	0,08	0,32	-0,39
Anugenital	0,65	0,31	0,74	0,59	0,69	0,49	0,74	0,26	0,1	0,03
Perna	0,75	0,49	0,67	0,37	0,67	0,03	0,75	0,33	-0,36	0,03
Peito	0,73	0,40	0,75	0,55	0,65	0,54	0,82	0,21	-0,44	0,36
Braço	0,69	0,55	0,84	0,48	0,63	0,61	0,78	0,29	-0,01	0,34
Barriga	0,63	0,42	0,74	0,35	0,64	0,48	0,68	0,18	0,36	-0,40
Hióide	0,34	0,67	0,52	0,05	0,25	0,13	0,08	-0,17	0,32	-0,39
Orelha	0,30	0,06	0,32	-0,23	0,14	0,19	0,19	-0,37	0,32	-0,39
Têmpora	0,67	0,29	0,66	0,50	0,74	0,64	0,60	0,47	0,72	-0,32

I.3.3. COLORAÇÃO

I.3.3.1. Coloração “*in vitro*”

I.3.3.1.1. Coloração com Secreção Fresca

As médias dos valores dos índices de cor dos pêlos de MA e MSA em secreção e sem secreção, obtidas na primeira avaliação (tempo zero), após 60 dias e 150 dias, quanto à cor do centro, da periferia (de acordo com a figura 4) e cor geral (figuras 3), encontram-se representadas nas figuras 7A, B e C, respectivamente.

Os pêlos de MSA, com e sem secreção, no tempo zero apresentaram cor central com índice 2, e os pêlos de MA apresentavam cor de índice 7, estes índices permaneceram iguais em 150 dias de observação (figura 7A). A periferia do pêlo apresentava coloração de índice 2 no tempo zero, com 60 dias de observação este índice mudou para 3 e com 150 dias mudou para índice 7, igualando a cor da periferia do pêlo de MA no tempo zero, com 60 e 150 dias de experimento (figura 7B). A cor geral do pêlo de MSA mudou de cor após 60 dias de permanência na secreção de MSA, passando do índice 1 para o índice 3, e com 150 dias de permanência na secreção de MSA, igualou ao índice de cor de MA (figura 7C).

A análise de variância dos valores obtidos para cor da periferia do pêlo no tempo zero, mostrou não existir diferença significativa entre o índice de cor do pêlo de MSA sem secreção e o índice de cor do pêlo de MSA que foi colocado em secreção de MSA e existir diferença significativa entre estes e o índice de cor dos pêlos de MA sem secreção. Após 60 dias de experimento, verificou-se diferença significativa entre pêlos de MA sem secreção, pêlos de

MSA em secreção e pêlos de MSA sem secreção. Com 150 dias de experimento os pêlos de MSA mantidos em secreção igualaram o índice de cor aos dos pêlos de MA sem secreção e apresentaram diferença significativa quando comparados aos índices de cor dos pêlos de MSA sem secreção.

Estes resultados indicam que os pêlos de MSA quando mergulhados em secreção epidérmica de MSA, sofre mudança de cor da periferia a partir de 60 dias de permanência na secreção e de cor geral a partir de 150 dias na secreção, mudança esta significativa (análise da variância), chegando a igualar-se à cor do pelo de um animal adulto.

A coloração da região central do pêlo não mostrou diferença significativa em 150 dias de análise (figura 7A), demonstrando que a região central do pêlo de MSA não muda de cor quando permanece em estufa submerso em secreção epidérmica.

I.3.3.1.2. Descoloração pela Água

A comparação entre os grupos pêlos corados pelo experimento de coloração e posteriormente colocados em água mostraram que pêlos de MSA após serem corados pela secreção epidérmica de MSA não perdem a cor quando colocados em água ($P < 0,05$).

Figura 7: Índice de cor de pêlos (média $n = 10$) de macho subadultos (PMAS) e pêlos de macho adulto (PMA), mantidos em secreção de macho subadulto, (MAS) e o sem secreção (SS) na primeira observação (tempo zero), após 60 dias e após 150 dias da coloração com secreção fresca. Em A, índice de cor da região central do pêlo. Em B, cor da periferia (de acordo com a figura 4) e em C, cor geral dos pêlos (de acordo com a figura 3). Barra representa o desvio padrão.

I.3.3.1.3. Coloração por Secreção Estocada

As figuras 8, 9 e 10 apresentam os índices de cor obtidos nos experimentos de coloração de pêlos com secreção previamente estocada a -4°C. Na figura 8A observou-se que os pêlos de FA mudaram a cor central, passando do índice 2 para o índice 4 quando mantidos por 60 dias em secreção previamente estocada de FA e de MSA ($P < 0,05$) e para o índice de cor 3 quando mantido em secreção de MA. Após 150 dias de permanência na secreção os pêlos de FA, em secreção de FA e MSA mantiveram o índice 4 e em secreção de MA mudaram de cor, passando do índice 3 para o índice 4, não igualando à cor central do pêlo de MA (índice 5) (figura 8A). Os pêlos de MSA mudaram a cor central após 150 dias em secreção de FA, MA e MSA, a cor passou do índice 2 para o índice 5 (figura 8B).

Os pêlos de MJ não mudaram a cor da região central quando mantidos em secreção de animais de diferentes sexos e faixas etárias (MA, FA e MJ) (figura 8C).

Não houve variação da cor geral e nem periferia dos pêlos de FA, MSA quando mantidos em secreção estocada de FA, MSA e MA (figuras 9 e 10).

Figura 8: Índice de cor geral de pêlos de *A. g.clamitans* na primeira observação (tempo zero), após 60 dias e após 150 dias de coloração, Em A, pêlo de fêmea adulta (PFA). Em B, pêlo de macho subadulto (PMSA) e em C, pêlo de macho juvenil (PMJ). Em A, B e C pêlos de macho adulto (PMA) sem secreção. Os pêlos em A, B e C foram mantidos em secreção de fêmea adulta, (FA); macho adulto, (MA); macho sub adulto, (MAS) e sem secreção (SS).

Figura 9: Índice de cor da região central do pêlo de *A. g. clamitans* na primeira observação (tempo zero), após 60 dias e após 150 dias de coloração, Em A, pêlo de fêmea adulta (PFA). Em B, pêlo de macho subadulto (PMSA) e em C, pêlo de macho juvenil (PMJ). Em A, B e C, pêlos de macho adulto (PMA), sem secreção (SS). Os pêlos em A, B e C foram mantidos em secreção de fêmea adulta, (FA); macho adulto, (MA); macho subadulto, (MAS).

Figura 10: Índice de cor da periferia do pêlo de pêlos de *A. g. clamitans* na primeira observação (tempo zero), após 60 dias e após 150 dias de coloração, Em A, pêlo de fêmea adulta (PFA). Em B, pêlo de macho subadulto (PMSA) e em C, pêlo de macho juvenil (PMJ). Em A, B e C pêlos de macho adulto (PMA). Os pêlos em A, B e C foram mantidos em secreção de fêmea adulta, (FA); macho adulto, (MA); macho sub adulto, (MAS) e sem secreção (SS).

I.3.3.2. COLORAÇÃO “*in vivo*”

I.3.3.2.1. Corpos Cromatogênicos

As médias de campos cromatogênicos com um determinado índice de cor, na primeira (tempo zero) e na última observação (após 1 ano) podem ser observadas na figura 11 A, B, C, D e E. Observa-se na figura 11A que as FSA apresentaram uma distribuição de cor que variou entre os índices 1 e 2, com maior número de campos com índice 2 tanto na primeira quanto na última observação.

A figura 11B mostra que as FA apresentaram campos cromatogênicos com índices de cor 1, 2, 3 e 5, na primeira e na última observação, com um maior número de campos com índice 3 em ambas observações. Não houve grande variação nas cores dos campos cromatogênicos de fêmeas de ambas faixas etárias, quando comparadas a primeira e última observação.

Os MJ, apresentaram na primeira observação campos cromatogênicos com índices de cor que variaram de 2 e 5, com um maior número de regiões com índice 2. Na última observação os índices variaram de 2, 3 ,5 e 7, sendo pequeno o número de campos com índice 7 (figura 11C).

Em MSA, verificou-se campos cromatogênicos que variaram a cor entre os índices 3, 5, 7 e 8 com um predomínio de regiões com índice 5 na primeira observação. Na ultima observação ocorreu um aumento no número de regiões com índice 7 e 8 e uma diminuição com índice 3, mostrando que, os pêlos desses animais variaram a cor em um ano de observação (figura 11D). Na figura 11E os campos cromatogênicos de MA apresentaram índices de cor 5, 7 e 8,

tanto na primeira quanto na última observação, com maior número de campos com índice 7.

Ainda na figura 11, verifica-se um predomínio de campos cromatogênicos com índice 2 em FSA, índice 3 em FA, índices 2 e 3 em MJ, 5 e 7 em MSA e índices 7 e 8 em MA. Portanto, verifica-se uma variação crescente na cor dos machos, iniciando nos juvenis com tons escuros (2 e 3) aos adultos com tons mais claros (7 e 8) e pouca variação na cor das fêmeas da fase subadulta para adulta, concentrando as cores nos tons escuros (2 e 3).

Todas as observações em cada uma das regiões com campos cromatogênicos, nos diferentes sexo e faixa etária encontram-se em tabela no anexo 1. Os dados desta tabela demonstram a variação de cor de cada uma das regiões do corpo dos bugios em cada faixa de sexo e idade.

Figura 11: Média do número de regiões com campos cromatogênicos em *A. g. clamitans* correspondente ao índice de cor (de acordo com a figura 3), na primeira (tempo zero) e última (após 1 ano) observações. As médias foram obtidas para cada faixa etária. Em A, macho juvenil, (MJ), n=4; B, macho subadulto, (MSA), n=3; C, fêmea subadulto, (FSA), n=3; D, fêmea adulta, n=5 e E, macho adulto, (MA). O número máximo de regiões amostrada em cada animal foi 20.

I.3.4. DOSAGENS QUÍMICAS

Os perfis das análises cromatográficas realizadas com as secreções de MA, FSA e MJ mostraram-se muito semelhantes na varredura de UV / VIS. A comparação dos perfis obtidos em espectrofotômetro de massa, com secreção de MA, FA e MJ com o perfil obtido para carotenóides, mostrou a ausência deste pigmento na secreção de bugios analisados.

A ausência de carotenóides nas secreções, semelhantes perfis de CLAD - DA - MS e a coloração ferrugem levou a investigação da presença do ferro, uma vez que este componente foi descrito como um dos agentes responsáveis pela coloração ruiva em cabelos humanos (FLESH, 1960).

As concentrações de ferro nas secreções de MA, MSA, MJ e FA encontram-se na tabela IV. Observa-se que os animais estão referenciados pelos respectivos nomes devido à necessidade de identificar individualmente cada um para a verificação de outras possíveis variáveis como idade, coloração dos pontos cromatogênicos, etc, que pudessem levar a diferenças em níveis de ferro. Os MA apresentaram os maiores níveis de ferro na secreção do que fêmeas e machos em outra faixa etária.

As secreções foram obtidas de alguns dos animais utilizados para os experimentos de avaliação do índice de cor dos campos cromatogênicos, desta forma, os índices de ferro das secreções foram correlacionados com o número de campos cromatogênicos com determinado índice de cor. Existe uma correlação positiva entre o número de campos cromatogênicos com índice 7 e a concentração de ferro na secreção, isto é, quanto maior o índice de ferro maior o número de campos cromatogênicos com índice 7 (figura 12).

Tabela IV: Concentração do microelemento ferro, em microgramas por mililitro, de secreções epidérmicas de machos adultos, (MA); machos subadultos (MSA); machos juvenis (MJ) e fêmeas adultas, (FA) da subespécie *A. g. clamitans* mantidos no CEPESBI.

Faixa etária e sexo	animal	Níveis de Ferro (μ g/mL)
MA	XICO	12.3
	LULA	4.2
	LELO	3.7
MSA	NICO	2.5
MJ	PINGO	1.2
	CACO	1.1
FA	NINA	1.3
	XICA	1.1
	KIKA	1.0

Figura 12: Correlação entre índice de ferro na secreção e número de campos cromatogênicos com índice 7 no corpo do animal no dia da coleta da secreção para análise.

I.3.5 .COMPORTAMENTO DE ESFREGAÇÃO EM CATIVEIRO

As médias do tempo gasto pelos animais, diariamente no comportamento de esfregar e as médias dos horários com liberação de secreção durante o dia pelos bugios podem ser observadas na figura 13.

As porcentagens de tempo gasto durante o dia no comportamento de esfregar foram de 3,1% (MA) e 9,08% (MSA). As porcentagens médias do número de horários com liberação de secreção foi de 24,5% para MA e 37,3% para MSA (figura 13). Os MSA apresentaram uma porcentagem de tempo esfregando e um número de horários com liberação significativamente maior do que os MA (*t* de Student; $P < 0,05$).

A análise da distribuição da porcentagem de tempo gasto coçando cada região do corpo em MSA e MA pode ser observado na figura 14. Os MSA gastam mais tempo esfregando a maioria das regiões do corpo que MA. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tempos gastos esfregando as regiões do pescoço, barriga, torácica, coccígea, cervical e nuca de MA e MSA.

Machos de ambas as faixas etárias esfregam as regiões anogenital, cauda, membro superior, membro inferior, costas, barba um tempo maior ao longo do dia que as outras regiões avaliadas.

Figura 13: Porcentagem média de tempo gasto durante o dia esfregando o corpo e porcentagem média de horários com liberação de secreção durante o dia em machos adultos (MA, $n = 4$), e machos subadultos (MSA, $n = 4$). O número de dias de amostragem foi igual a 32 dias/ano. (*) comparação entre MA e MSA da % de tempo esfregando, diferença significativa pelo teste t -Student ($P < 0,05$); (**) comparação entre MA e MSA da % de horários com liberação, diferença significativa pelo teste t -Student ($P < 0,05$).

Figura 14: Percentual médio de tempo esfregando cada região do corpo, em macho adulto, (MA, n= 4) e macho subadulto, (MSA, n= 4). (*) diferença significativa pelo teste-*t* de Student ($P < 0,05$).

I.4. DISCUSSÃO

A coloração do pêlo pode ocorrer de duas formas, por processo interno, natural, através da cadeia da melanogênese, por formação de eumelanina, feomelanina ou tricosiderina, via triptofano ou não (FLESCH 1970) ou por um processo de coloração externo com a utilização de compostos artificiais que alterem a estrutura cuticular do pêlo (BERTAZO *et al.*, 2001).

O tingimento artificial e gradual de pêlos humanos utilizando substâncias com metais ocorre pela interação destes metais com resíduos de cisteínas, presentes nas queratinas das cutículas do pelo. Estes metais se ligam a grupos sulfidril presentes nas cisteínas formando metalocisteínas (BOLDUC & SHAPIRO, 2001).

A camada externa do pêlo de mamíferos (cutícula) possui uma alta afinidade por metais pesados e uma alta concentração de resíduos de cistina. A camada cuticular do pêlo pode ser dividida em exocutícula e endocutícula, ambas, desempenham um papel chave no processo de penetração de reagentes no pêlo. A camada exocuticular contém uma quantidade relativamente maior de grupos sulfidril da cisteína que a endocuticular (JONES, 2001). Neste contexto, somente a secreção epidérmica de MA de *A. g. clamitans* encontrou-se grande concentração de íons ferro que se correlacionou com o número de corpos cromatogênicos (índice de cor 7), indicando ser o ferro um dos responsáveis pelo tingimento dos pêlos destes animais. Assim, podemos imaginar um mecanismo de tingimento dos pêlos desses animais, semelhante ao descrito por BOLDUC & SHAPIRO (2001).

As moléculas responsáveis pela coloração do pêlo, a princípio, devem ser termolábeis e provavelmente, sofrem mudança estrutural durante o processo de congelamento e posterior aquecimento a 38 °C (temperatura de realização do ensaio). Quando a secreção de MSA foi ensaiada a fresco, o pêlo de MSA sofreu coloração da superfície externa, indicando uma interação do corante com as moléculas de cistina da exocutícula do pêlo, enquanto as secreções estocadas a - 4°C, aderiram-se

provavelmente nas moléculas presentes na endocutícula ou na medula do pêlo, quais sejam, as β queratinas ou as melaninas.

As moléculas responsáveis pela coloração do pêlo de MA, devem se complexos de ferro – proteínas semelhantes à estrutura descrita por FLESH (1970), que com o congelamento e aquecimento desnaturam, deixando ferro livre, que consegue penetrar (através dos poros da cutícula) e corar a estrutura endocutícula.

A maior quantidade de ferro na secreção de MA, a capacidade de coloração da parte externa do pêlo em secreção fresca e da parte interna em secreção estocada, indicam, a princípio, que o ferro está ligado ao cromóforo este as proteínas, semelhante ao que foi descrito por FLESH (1970). Essa reação acontece no melanócito humano de indivíduos que possuem pêlos ruivos.

Os *A. g. clamitans* possuem pêlos corados em sua estrutura pela melanina, sendo as fêmeas, os infantes e os juvenis escuros. Os machos sofrem mudança de cor com o desenvolvimento pela liberação secreção, esta mudança é mais acentuada na fase sub adulta. Nesta etapa deixam de apresentar campos cromatogênicos com cores escuras (índices 1 e 2) e passam a apresentar campos cromatogênicos com cores mais vivas que variam de 5 a 8. Verificou-se que os MSA liberam secreção em um maior número de dias que os animais de outro sexo ou faixas etárias. Esses dados corroboram a mudança de cor evidente nos campos cromatogênicos de MSA. Os MA apresentam pouca variação na cor dos campos cromatogênicos que se mantêm com índices 7 e 8 pela alta concentração de ferro existente na sua secreção.

Os dados de coloração e interação da secreção com estrutura externa do pelo corroboram os resultados de HAUSMAN (1920). Este autor descreve que em mamíferos, secreções com pigmentos, elaboradas por glândulas da pele, geralmente na região do dorso e base da cauda, secretados na superfície da pele podem corar os pêlos por aderir-se à cutícula.

Os MSA foram os animais que mais apresentaram esfregação em cativeiro e paralelamente são os animais que mais sofrem alteração de cor, podendo este fato ser um forte indicativo do mecanismo de espalhamento da secreção.

A existência de uma secreção capaz de corar o pêlo de *A. g. clamitans* contradiz a teoria do Metacromatismo (HERTSHKOVITZ, 1968) que define a existência de grupos basais com padrões polimórficos grisalhos, com aparecimento de padrões derivados pela saturação dos pêlos por pigmentos vermelhos (feomelanina) ou preto (eumelanina), visto que, o aparecimento do padrão derivado ruivo, característico dos MA da subespécie *A. g. clamitans* não ocorre pela mudança do pigmento interno do pêlo (eumelanina ou feomelanina) e sim pela capacidade de liberar secreção com maior ou menor quantidade de ferro.

CAPITULO II – GLÂNDULAS

II.1. INTRODUÇÃO

Os primatas neotropicais possuem glândulas de odor em várias partes do corpo como: focinho, região gular, torácica ou esternal, costas ou dorsal, virilha ou inguinal, suprapúbica e anal ou anogenital (EPPLE & LORENZ, 1967).

BRUMLOOP *et al.* (1994) descreveram em macacos da espécie *Pithecia pithecia*, mantidos em cativeiros, glândulas sebáceas espirais na região gular dos machos e a presença de glândulas apócrinas, tipo sebácea modificada na região gular das fêmeas.

Em *Aotus*, AQUINO & ENCARNACIÓN (1983) mostraram que glândulas localizadas nas regiões subcaudal, esternal e genital produzem secreção cremosa de cor intensa que fica na pele, as quais diferenciam-se quanto a frequência e o modo de liberação de acordo com a idade e o sexo.

Trabalhos referentes à marcação, como um meio de comunicação realizados com espécies de primatas, descrevem a existência de secreções odoríferas que definem diferentes sinais tais como: territorialidade (SCHILLING & PERRET, 1987; BARTECKI & HEYMANN, 1990); status social (WALRAVEN & VAN ELSACKER, 1992); reprodução (EPPLE 1986; SETZ & GASPAR, 1997).

Segundo EPPLE (1986) há uma relação entre marcação e dominância. Um animal que marca frequentemente pode ser o indivíduo dominante em um grupo ou em uma área específica, ou também quando ocorrem encontros agonísticos e interespecíficos (DAVIS, 1947). Muitas espécies marcam mais frequentemente após encontros com membros do mesmo sexo do que com animais de sexo oposto (RALLS, 1971).

Marcações odoríferas ocorrem muitas vezes através da urina, que tem por função a marcação de território, área domiciliar, ou a identificação de indivíduos ou grupos. Alguns Prossímios parecem empregar a urina com este propósito (PETTER, 1965; SEITZ, 1969). A urina de muitos animais fornece informações não somente sobre sexo e idade, mas também a identificação individual (EWER, 1968, 1973; MYKYTOWYCZ, 1970).

KAPPELER (1987) observou que secreção de glândulas especializada da pele, urina, fezes e saliva são freqüentemente depositadas em objetos do meio pelo *Lemur coronatus* cativo durante o cio. Determinou também que a marcação das fêmeas fornece informações sobre o seu estado reprodutivo.

BARTECKI & HEYMAN (1990) citam que na região genital, as glândulas de marcação apresentam tamanho diferenciado sendo o maior tamanho evidenciado em *Saguinus*, seguido de *Callithrix*, *Cebuella*, *Leontopithecus* e *Callimico*.

HIRANO *et al.* (2003) descreveram a presença de glândulas produtoras de secreção colorida (GPP) na região do hióide, mandíbula, virilha de MA de *A. g. clamitans*. Os autores relacionaram a presença desta glândula com a coloração do macho na fase adulta, sendo esta uma das responsáveis pelo dimorfismo por dicromatismo nesta subespécie, uma vez que a secreção liberada possui a cor do pêlo desses animais.

Nos mamíferos foram descritos dois principais efeitos que determinam as características físicas e comportamentais sexualmente dimórficas. O primeiro efeito decorrente da produção de hormônios em estágios precoces do

desenvolvimento chamado de efeito organizacional, que ocorre na fase embrionária, é responsável pela diferenciação da genitália e de circuitos neurais entre os dois sexos. Esta ação é iniciada pelo gene SRY, que é encontrado no cromossomo Y em todos os machos de mamíferos (GEORGE & WILSON, 1994; GRIFFIN, 1996), mas não nas aves e répteis (ARNOLD, 1996). Outros estudos mostram que uma vez que o dimorfismo sexual é observado já nos invertebrados, os mecanismos de ação hormonal devem, inicialmente ter surgido a partir de células endócrinas (LAFONT, 2000) muito cedo, durante o processo evolutivo. A organização das células em um órgão endócrino ocorreu apenas nos metazoários triploblásticos (DEPUYTORAC, 1991) tendo sido descritas nos moluscos.

O segundo efeito dos hormônios na diferenciação sexual entre machos e fêmeas é conhecido como efeito ativacional e ocorre na fase da puberdade. Inicia-se, portanto, nessa fase uma série de modificações relacionadas ao crescimento geral e desenvolvimento sexual, sob ação hormonal. As ações hormonais determinam além do amadurecimento dos órgãos da reprodução, o desenvolvimento das características sexuais secundárias, tanto morfológicas como comportamentais, algumas delas já estabelecidas a partir do efeito organizacional (CSABA, 2000).

De acordo com ADKINS-REAGAN (1998), muitos dos aspectos da escolha de parceiros são sexualmente dimórficos e provavelmente decorrem dos efeitos organizacionais dos hormônios, expressados tardiamente.

Muitas das características sexuais secundárias, constituem para muitos animais, alterações permanentes no fenótipo, particularmente na pele que se constitui no órgão de maior interação entre o organismo e o ambiente (BENTLEY, 1998).

SETCHELL & DIXSON (2001a) verificaram em mandril (*Mandrillus sphinx*) uma correlação entre o aumento do nível de testosterona na corrente sangüínea de MA e a mudança no *status* social destes. A mudança de *status* para o estado alfa, tem uma relação direta com o aumento no volume testicular, aparecimento de adornos sexuais secundários e comportamento social. Observaram também o aparecimento da pele avermelhada na genitália, e o aumento da secreção cutânea da glândula esternal. A anca e flancos de um novo macho alfa tendem a aumentar gradualmente em volume, embora não ocorra aumento significativo em massa corporal. Machos alfas mudam de comportamento passando a gastar mais tempo dentro do grupo social, do que se manter periférico ou solitário. Em grupos estáveis de mandril, os machos com caracteres sexuais bem menos desenvolvidos, possuem menores níveis de testosterona. Os autores citam ainda que a intensa competição entre machos e seleção intra-sexual pode resultar em uma situação onde alguns indivíduos suprimam o aparecimento dos caracteres sexuais secundários em outros indivíduos do mesmo sexo. Este fenômeno acontece no orangotango (*Pongo pigmeu*), onde ocorre a supressão do desenvolvimento da bochecha nos machos subordinados. Este fenômeno também ocorre em *Cacajao calvus*,

Alouatta caraya e *Nasalis larvatus* e algumas outras espécies de primatas, em diferentes caracteres secundários (SETCHELL & DIXSON, 2001).

O contexto acima despertou a atenção para os animais da subespécie *A. g. clamitans* que possuem um dimorfismo por dicromatismo evidente na fase adulta, que aparece como um caracter sexual secundário. O fato de existir GPP somente em MA (HIRANO *et al.*, 2003) e estas serem as responsáveis pela produção de secreção que colore o pêlo e define o dicromatismo nestes animais, levou-nos a investigar uma possível correlação entre a faixa de sexo e idade e o nível de testosterona na corrente sangüínea destes animais.

II.2. MATERIAL E MÉTODOS

II.2.1. MORFOLOGIA DE GLÂNDULAS TEGUMENTARES

II.2.1.1. Obtenção de Material e Histologia

Retirou-se fragmentos da derme de 12 bugios (cinco MA, duas FA, dois MSA, dois MJ, e um infante) procedentes do estado de Santa Catarina/Brasil, até seis horas pós-morte.

Os animais mortos utilizados para a retirada de fragmentos foram pesados e medidos quanto aos comprimentos do corpo, da cauda e da cabeça-cauda. Foi ainda anotado o índice de cor dos pêlos dos animais (figura 3B). Esses dados foram utilizados para agrupar os animais nas categorias de faixa etárias e sexo, definidas separadamente para machos em MJ (601 a 2500 g de peso, comprimento da cauda de 41 e 50 cm, coloração com índices 1 a 4 e 5); MAS (2501 e 5000 g, comprimento da cauda de 51 e 60 cm, com índices de cor 5, 6 e 7); MA (peso acima de 5001 g, cauda acima de 61 cm e coloração com índices 7 e 8); e fêmeas em FJ (800 e 2000g, e cauda medindo até 40 cm, índices de cores 1, 2 e 3); FSA (2001 e 3000 g, cauda de 41 cm a 50 cm e índices de cor 1, 2, 3 e 5); FA (acima de 3000 g, cauda acima de 50 cm e cores com índices 1 e 2) e Infantes de ambos os sexos (100 e 600, comprimento da cauda de 10 a 40 cm e cor 1, 2 e 3).

Dos animais foram retirados fragmentos de 12 regiões: RI- nuca, RII- coluna, RIII- início da cauda, RIV- região do hióide, RV e RVI- inguinal (lateral e superior), RVII e RVII- lateral do abdômen (direita e esquerda), RIX- esterno, RX- mandíbula, RXI- lombo e RXII- (cotovelo) (figura 15).

Figura 15: Desenho esquemático de bugios indicando de onde foram retirados os fragmentos da derme e da epiderme. Em (A), as regiões (RI), nuca; (RII), dorso; (RIII), base da cauda; (RX), mandíbula; (RXI), lombo e (RXII), cotovelo. Em (B), as regiões: (RIV), osso hióide; (RV) e (RVI), região inguinal (RVII), lateral direita do abdômen; (RVIII), lateral esquerda do abdômen; (RIX), ponta do esterno.

Peças de cada uma das regiões indicadas acima, foram medidas (2 cm²) com paquímetro de modo a se obter uma localização precisa da área histológica a ser analisada,

As peças foram fixadas em solução de formol a 10% por imersão durante um período superior a 24 horas, sendo a solução renovada a cada 12 horas. Após fixação foram novamente seccionados sob lupa, a fim de estabelecer um plano transversal à epiderme.

A histologia das peças da derme foi realizada em animais do sexo masculino em todas as faixas de idade, e em animais do sexo feminino apenas nas fases subadulta e adulta.

Após fixação o material obtido foi submetido à técnica histológica de rotina para inclusão em parafina. Foram feitos cortes semi-seriados de 10 µm. As lâminas obtidas foram coradas com Hematoxilina–Eosina (H.E.) e observadas em microscópio óptico.

II.2.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Um fragmento de derme da região sobre o osso hióide de um MA, foi coletado por biopsia excisional logo após o óbito do animal, seccionando em fragmentos pequenos de 0.1 cm de comprimento x 0.1 cm de largura e fixados por imersão em uma solução de paraformaldeído a 1% e glutaraldeído a 1,5% em tampão fosfato a 0,1 M e pH= 7,4 a 4° C por 24hs. Após, os cortes foram lavados no mesmo tampão e desidratados em solução de acetona (30, 50, 90 e

95%), pelo tempo de 10 min por solução. Em seguida, realizaram-se mais três lavagens de 20 min cada, em acetona absoluta. Posteriormente, realizou-se a infiltração da resina nos fragmentos, com a imersão das amostras em solução de araldite e acetona pura (1:1), por 24h, à temperatura ambiente. A inclusão foi feita em uma solução de araldite na seguinte proporção: 20 mL de araldite (6005; resina), 1,0 mL de BDMA (acelerador), 16 mL de DDSA (endurecedor) e 0,4 mL de dibutil Fthalate (plastificador). O material preparado foi orientado sob microscópio estereoscópico (SV 11, Zeiss), para a obtenção de cortes transversais e a polimerização do plástico foi feita por 72 h em estufa a 60° C.

Uma vez incluídos os fragmentos de pele, os blocos foram removidos dos seus moldes e aparados com lâmina de criostato, sob microscopia estereoscópica. Na microtomia foram obtidos cortes de 0,5 µm de espessura, nos ultramicrotomos (Reichert OM-V e Dupont- Sorval MT-2), com navalhas de vidro. Para análise morfológica inicial (microscopia de luz, Axiophot, Zeiss), e para a seleção das áreas a serem observadas sob microscopia eletrônica os cortes foram selecionados e transferidos para uma lâmina de vidro, secos em platina aquecida a 60° C, por uma hora, para aderência e corados com azul de toluidina a 1% em ácido bórico saturado. Cortes ultrafinos de 60 nm de espessura, foram obtidos nos mesmos ultramicrotomos. Estes cortes foram montados em grades de cobre e contrastados com acetato de uranila (WATSON, 1998) e citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963), sendo então

observados e fotografados em microscópio eletrônico (Philips), com aumentos finais entre 2000 e 40000 vezes.

II.2.3. DETECÇÃO DE TESTOSTERONA NO SORO

Amostras de sangue dos bugios foram particionadas com MeOH e a fração metanólica foi analisada em espectrômetro de massa Micromass Quattro-LC (Manchester, UK), com detecção de íons positivos no modo centróide, capilar 3 keV, temperatura da fonte em 70 °C, cone 20 e para EM-EM, colisão 20. Inicialmente foi realizado gradiente exploratório 1:1 (MeOH/H₂O) a 100% de metanol em 25 minutos, monitorado pela presença do íon da testosterona protonada (M+H). A presença do mesmo sinal no sangue humano e no sangue do bugio possibilitou a análise por espectrometria de massa seqüencial. Para isso a amostra foi introduzida no espectrômetro por injeção direta, utilizando bomba de infusão, com fluxo de 10 µL/min.

II.2.3.1. Quantificação de Testosterona no Soro de Bugios

Amostras de sangue (1,5 mL) foram coletadas por venopunção da veia femural de MA, MSA, MJ e FA devidamente anestesiados. Os soros de cada animal foram submetidos à detecção de níveis de testosterona por radioimunoensaio (CORKER & DAVIDSON, 1978).

Utilizou-se o sistema de detecção hormonal denominado *Coat-A-Count® Total Testosterone* (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA-USA).

Este procedimento baseia-se na competição entre testosterona das amostras séricas (não-radiomarcada) com testosterona iodada (^{125}I), pelos sítios de reconhecimento de anticorpo monoclonal anti-testosterona imobilizado covalentemente em tubos plásticos (TAc). Os procedimentos técnicos foram realizados conforme instrução do fabricante.

Cinquenta microlitros de soro de cada bugio (em duplicata) foram incubados nos tubos TAc na presença de testosterona iodada, a 37° C por 3h. Em seguida, o material não-ligado (hormônio livre) aos tubos TAc foi descartado por decantação. Os tubos Tac foram analisados em contador de radioatividade gama (Gama-C12®- Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA-USA) e os valores expressos em contagens por minutos (CPM). Considerando-se que se trata de um ensaio de competição, as contagens de radioatividade foram inversamente proporcionais às quantidades de testosterona presentes nas amostras séricas dos bugios. As concentrações de testosterona foram determinadas com auxílio de curva de calibração obtida pelo uso de concentrações conhecidas do hormônio (0, 20, 100, 400, 800 e 1600 ng/dL).

Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão médio das concentrações séricas de testosterona expressos em ng/mL.

II.3. RESULTADOS

II.3.1. ANÁLISE QUALITATIVA DAS GLÂNDULAS

Na figura 16 observa-se glândulas sudoríparas normais, glândulas sebáceas, e ainda a presença de uma glândula sudorípara modificada, por nós denominadas de glândula produtora de pigmento (GPP).

A GPP (figura 17) difere de uma sudorípara normal por apresentar uma maior número de unidades secretoras, apresentando células apicais do epitélio secretor maiores e acumulam em seu pólo apical grânulos de secreção, cuja coloração é semelhante à coloração da secreção epidérmica liberada na pele destes animais (HIRANO *et al.*, 2003). Na figura 18 pode-se observar uma unidade secretora de uma GPP e a presença um folículo piloso. As GPP foram observadas em MA e MSA nas regiões do osso hióide, mandíbula e virilha. As fêmeas, na mesma região, possuem uma estrutura glandular menos desenvolvida que pode provavelmente evoluir para a forma GPP e que foi denominada de GPPI (figura 19). Animais juvenis não apresentam glândulas GPP e nem GPPI.

A diferença entre as GPP e as GPPI, é que o número de unidades secretoras da GPP é muito maior que o GPPI e o diâmetro interno de cada uma destas unidades é bem maior. As células da superfície apical da GPP, apresentam aumento de volume em relação aquelas presentes nas GPPI em fêmea e ainda a GPP apresentam-se com grânulos intracitoplasmáticos.

O epitélio da região da nuca na fêmea adulta, macho adulto e sub adulto, e região do esterno de fêmeas adultas, apresentam GPPI. Os machos

juvenis apresentam em todas as regiões avaliadas, glândulas sudoríparas normais com ductos não aumentados.

Figura 16: Fotomicrografia de um corte histológico da pele da região do osso hióide de *A. g. clamitans* macho adulto. Observa-se: EP- epiderme; DP- camada papilar; DR- camada reticular; GS- glândula sebácea GPP- glândula produtora de pigmento; FP- folículo piloso. Coloração H.E; aumento 25x.

Figura 17: Fotomicrografia de pele da região do hióide de um MA de *A. g. clamitans*. Observa-se: GS- glândula sebácea; GPP- glândula produtora de pigmento (área circundada); FP- folículo piloso. Coloração H.E.; aumento 25 x.

Figura 18: Fotomicrografia de pele da região do hióide de um MA de *A. g. clamitans*. A área circundada mostra um ducto de uma GPP com secreção (*); FP- folículo piloso. Aumento 100 x e coloração H.E.

Figura 19: Fotomicrografia de pele da região do hióide de FA de *A. g. clamitans*. A área circundada mostra uma GPPI. **FP**- folículo piloso. Objetiva 25 x; coloração H.E.

II.3.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA

A fotomicrografia de corte semi-fino da região do híóide de *A. g. clamitans* mostra uma GPP característica com ácino repleto de secreção com células secretoras repletas de vesículas com conteúdo claro e escuro (figura 20).

A glândula sebácea por sua vez, apresentada na figura 21, encontra-se nas adjacências de um folículo piloso, o conteúdo de secreção glandular encontra-se distribuído em inúmeras vesículas intracitoplasmáticas.

As eletromicrografias das GPP mostram a presença de vesículas de secreção de conteúdo eminentemente eletrotransparente ao lado de vesículas menores, de conteúdo eletrodensos. As vesículas de conteúdo eletrodensos concentram-se no pólo secretor da glândula (figura 22), verifica-se ainda a presença de inclusões cristalinas intracitoplasmáticas na proximidade do pólo apical da célula secretora (figura 23).

Na figura 24, verifica-se nas GPP a presença de inclusões cristalinas intracitoplasmáticas, vesículas grandes de secreção com conteúdo principalmente eletrotransparente e vesículas menores de conteúdo eletrodenso e que avizinham-se das inclusão cristalina.

Figura 20: Fotomicrografia de corte semifino de glândula sudorípara de *A.g. clamitans*, corada com azul de toluidina*. Em A, glândula sudorípara. Em B, um ácino. Em C e D, as setas cheias apontam vesículas de secreção de conteúdo claro e límpido e as setas abertas apontam vesículas de secreção de conteúdo escuro.*Notar as características morfológicas da glândula com o ácino glandular (a) repleto de secreção (S), estando as células secretoras repletas de vesículas (setas) de diferentes características. Células mioepiteliais (CM) repousam sobre a lâmina basal. Em B, pode ser visto um ducto secretor (DS).

Figura 21: Fotomicrografia de glândulas sebáceas (GS) (A) nas adjacências de um folículo piloso (FP) de *A. g. clamitans*. Notar, em B, o conteúdo característico do conteúdo de secreção glandular em inúmeras vesículas intracitoplasmáticas (setas). Barra: 23,22 2 mm em A e 29 mm em B.

Figura 22: Eletromicrografias de GPP de *A. g. clamitans*. Notar a presença de vesículas de secreção de conteúdo eminentemente eletrotransparente (setas negras) ao lado de vesículas menores, de conteúdo eletrodenso (setas abertas). Notar que as vesículas de conteúdo eletrodenso concentram-se no pólo secretor da célula sudorípara. Barra: 1,94 μ m em A; 1,21 em B; 0,8 μ m em C; 0,30 μ m em D. a = ácino glandular; CM = célula mioepitelial.

Figura 23: Eletromicrografias de GPP de *A. g. clamitans*, mostrando (setas) inclusões intracitoplasmáticas cristalinas na proximidade do pólo apical da célula secretora. Notam-se vesículas secretoras (*) no interior e nas circunjascências das inclusões cristalinas. Barra: 1,3 μm em A; 0,97 μm em B; 0,77 μm em C; 0,5 μm em D.

Figura 24: Eletromicrografias de GPP de *A. g. clamitans*, mostrando inclusões cristalóides (pontas de setas) intracitoplasmáticas, vesículas de secreção grandes de conteúdo principalmente eletrotransparente (setas abertas), e vesículas menores de conteúdo eletrodenso (setas negras). Note, em B e em C, que algumas vesículas de conteúdo eletrodenso avizinham-se da inclusão cristalina. Ampliações: barra: 0,35 μm em A e B; 0,14 μm em C.

II.3.3. ANÁLISE QUALITATIVA DA TESTOSTERONA NO SORO

Os sangues humanos e dos bugios foram comparados visando confirmar a estrutura do hormônio testosterona encontrado no soro de bugios (figura 25A). A análise por LC-MS revelou a presença de um sinal em 289 em ambos os sangues, sugerindo a presença de testosterona protonada (M+H) na fonte ionizada (figura 25B). Visando confirmar a identidade estrutural, ambos os materiais foram analisados por injeção direta no sistema MS/MS e revelaram o mesmo perfil de fragmentação (figura 26), confirmando, como esperado, que a estrutura de ambos os hormônios da testosterona do soro de *A. g. clamitans* é idêntica à encontrada em soro humano.

II.3.3.1. Análise Qualitativa de Testosterona no Sangue de Bugios

Os níveis séricos de testosterona acompanharam o desenvolvimento sexual dos bugios machos, assim MA, MSA, e J apresentaram níveis séricos de testosterona de 1443 ± 57.5 , 103.95 ± 57.5 e 9.85 ± 4.15 ng de testosterona/mL, respectivamente. No soro de FA obtivemos 20.35 ± 5.45 ng/mL (Figura 27).

$C_{19}H_{28}O_2$
Peso molecular: 288

Figura 25: Em A, estrutura da testosterona padrão humana (Sigma) e em B, Espectro de massa obtido na análise por MS.

Figura 26: Espectro de MS/MS mostrando o mesmo perfil de fragmentação da testosterona humana (A) e de *A. g. clamitans* (B). (*) evidencia os picos.

Figura 27: Níveis de testosterona no soro de *A. g. clamitans* por radioimunoensaio. Amostras de sangue (1,5 mL) foram coletadas por venopunção de veia femoral de bugios anestesiados. (MA)- macho adulto; (MAS)- macho subadulto; (MJ)- macho juvenil; (FA)- fêmea adulta. Utilizou-se 50 μ L para detecção de níveis de testosterona. Cada amostra foi ensaiada em duplicata e os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média da concentração sérica de testosterona (ng/mL).

II.4.DISSCUSSÃO

A diferença entre as GPPs e as GPPis é o tamanho das unidades secretoras, maiores nas GPP, cujo diâmetro interno de cada uma destas unidades é bem maior. As células da superfície apical da GPP, presentes em MA, têm maior área em relação àquelas presentes nas GPPi de FA. Ainda as GPPs apresentam-se com grânulos intracitoplasmáticos.

Os resultados indicam que as GPP são sudoríparas provavelmente modificadas por atuação de hormônios sexuais durante a puberdade (fase sub adulta) desta espécie de primatas, visto que, juvenis não apresentam a coloração característica dos adultos, a secreção do pigmento e nem a glândula. A presença de glândulas especializadas para a liberação de pigmento com diferenciação na fase adulta em machos, é mais um fato dimórfico desta espécie, uma vez que, MA apresentam GPP e FA, GPPi. Estas glândulas devem desempenhar um importante papel na diferenciação e atração sexual.

EMERSOM (2000) descreve que a morfologia sexualmente dimorfica entre machos e fêmeas pode ocorrer por um aumento no número de células (hioperplasias), e ou tamanho das células (hipertrofia) e são resultados da ação hormonal. Aqueles mecanismos relacionados a números de células estão ligados a ação de androgênios, no início do desenvolvimento e os relacionados ao tamanho das células sofrem uma ação androgenia mais tardiamente no desenvolvimento e que podem acontecer também ambos eventos, uma ação ocorre em períodos intra-uterinos e outra durante o desenvolvimento (puberdade). Sendo assim, poderia se imaginar um mecanismo de controle hormonal na diferenciação desta glândula nesta sub espécie. A estrutura

glandular (sudorípara) por ativação da concentração do hormônio sexual masculino (testosterona) na puberdade, sofreria uma hiperplasia e hipertrofia, formando as GPPs nos machos. A diferenciação no tamanho dos ácinos e na área ocupada pode ser devido à ação de hormônios androgênicos em número específico de receptores celulares.

As concentrações de testosterona acompanhou a faixa de idade e sexo podendo dentre muitos aspectos ser o determinante da diferenciação glandular (GPP e GPPi) observada nesta subespécie. A testosterona é um hormônio androgênio relacionado ao aparecimento dos caracteres sexuais masculinos e atua por um mecanismo ativacional, que ocorre na puberdade (ORWOLL, 1996).

A presença desta glândula também poderia estar relacionada ao mecanismo de comunicação grupal, indicando o *status* hierárquico do macho e o desenvolvimento da mesma estar diretamente relacionado com o índice de testosterona na corrente sangüínea dos mesmos, semelhante ao descrito por SETCHELL E DIXSON (2001b), em MA de babuínos, com alteração da estrutura morfológica provocada pelo fato dos animais atingirem o estado alfa e modificarem os níveis de testosterona na corrente sanguínea.

EPPLÉ & LORENS (1967), relatam que as regiões do hióide e da mandíbula são de grande importância no que se refere à sinalização química através de odor em várias espécies de primatas. A descoberta de GPP na região do hióide em machos adultos e GPPi em FA e MSA, é um forte indicativo de que a diferenciação de glândulas nesta região pode servir para comunicação

química através de odor e cor. A diferenciação destas glândulas em MA (GPP) e FA (GPPi) define diferenças de funções entre as duas glândulas, podendo a GPPi servir apenas para a comunicação química através de odor e a GPP possuir dupla função, comunicação odorífera e visual, visto que as GPPi estão presentes na região da virilha em ambos os sexos.

Identificamos através de microscopia eletrônica inclusões cristalinas geométricas no interior da GPP. Estruturas parecidas foram descritas anteriormente por outros autores como constituintes de certos tipos de células, tais como as células de Sertoli e de Leydig humanas, oócitos de coelhos e núcleos de células do baço de cães, raposas e largatos (FAWCETT, 1966), células de baço de salamandra (*Batrachoscps attenuatus*) (FAWCETT, 1964), plaquetas de anfíbios (*Rana pipiens*) (KARASKI, 1963), células intersticiais do testículo humano (REINKE, 1996). Essas estruturas, ao serem observadas em fotomicrografias eletrônicas mostram uma grande variedade de padrões regulares, dependendo da orientação da secção, com respeito aos planos e arestas dos cristais.

Moléculas de hemoglobina apresentam cristalizações em eritrócitos (FAWCETT, 1966) o que se apresenta como um indicativo de que íons de ferro possam formar estruturas intracitoplasmáticas cristalinas, como aquelas identificadas no presente estudo.

Os resultados encontrados nos estudos de microscopia eletrônica fortalecem a idéia de ser o ferro o responsável pela coloração do pelo e assim

pelo aparecimento da cor ruiva dos MA, dando o dimorfismo acentuado nesta sub espécie.

Com estes achados, podemos imaginar um mecanismo de formação da estrutura colorida contida no pigmento, as moléculas de ferro ficariam armazenadas em proteínas formando estruturas em forma de cristal, que em determinado momento iria complexando vesículas eletrodensas e formaria a estrutura liberada como secreção colorida. Por isso observa-se vesículas eletrodensas próximas ao pólo apical das células secretoras e vizinhas das estruturas cristalóides.

A identificação da GPP em algumas regiões do corpo de MA, somado ao encontro de um maior percentual de dias com liberação de secreção nestes animais correlacionado com um maior índice de tempo coçando, poderia ser um indicativo da forma de espalhamento desta secreção por toda epiderme do MSA, que está em fase de aparecimento dos caracteres sexuais secundários e desta forma conseguiria o contato da secreção com pelos de todas as regiões de seu corpo.

CAPÍTULO III. COMPORTAMIENTO SOCIAL

III.1- INTRODUÇÃO

Os grupos sociais dos bugios podem variar de típicos haréns a grupos maiores com diversos machos, sendo provável que nestes ocorra uma estrutura graduada pela idade, onde os machos dominantes mais velhos têm acesso preferencial às fêmeas em estro. A espécie *A. pigra* difere deste padrão sendo tipicamente mais monógama. Enquanto tem sido defendida uma estrutura hierárquica inversamente relacionada à idade entre adultos de *A. palliata*, na qual os adultos jovens são dominantes sobre os mais velhos de mesmo sexo. O gênero *Alouatta* tem na dispersão um caráter singular entre os primatas: ambos os sexos parecem migrar, em proporções similares e em diversas faixas etárias (CROCKET & EISENBERG, 1987).

A caracterização do sistema social dos bugios como rotineiramente pacatos, com raras ocorrências de agressão física, adquire sentido como mais uma manifestação da tendência à contenção dos comportamentos energeticamente custosos. Por outro lado, estudos demonstram que por trás desta aparente harmonia existem conflitos gerados pela competição entre membros do grupo do mesmo sexo (JONES, 1980). JONES (1983) defende a idéia de que as limitações impostas ao dispêndio de energia geralmente restringem a expressão da agressão a formas ritualizadas, minimizando as possibilidades de luta. Tal processo de modo algum reduz a intensidade da competição entre os indivíduos a qualquer momento pode levar a periferalização e expulsão de indivíduos do grupo.

Energicamente limitados nas manifestações de seu comportamento dependem os bugios de um elevado nível de ritualização e da adequada interpretação dos sinais sutis emitido por seus congêneres, assim como da percepção de ligeiras variações nas emissões dos mesmos para adequadamente ajustarem à dinâmica do grupo a tomarem decisões fundamentais à sua sobrevivência (JONES, 1983). Seu sistema de comunicação, utilizando sistema sonoro, visual e odorífero podem gerar várias informações, e se enquadra perfeitamente no quadro descrito acima.

A sub espécie *A. g. clamitans*, possui um dimorfismo por dicromatismo, evidenciado pela presença da GPP e da secreção colorida que são os responsáveis pela diferença nas tonalidades de cor visualizadas na pelagem dos animais de um grupo (HIRANO *et al.*, 2003).

A diferença nas cores dos pêlos dos animais parece ser um mecanismo sinalizador de *status* hierárquico, visto que geralmente o macho adulto, de cor ruiva é o líder do grupo e o que possui maior acesso às fêmeas. Para melhor compreender esta relação entre coloração dos animais e estrutura social realizamos um estudo do comportamento social de *A. g. clamitans*, relacionando a cor dos animais ao *status* social. Neste estudo avaliamos os comportamentos de catação, vocalização e deslocamento à frente do grupo, esfregação e descanso em estrato arbóreo mais elevado. A catação é uma atividade que representa *status* hierárquico em primatas (JOHNSON, 1973). Como regra geral entre os primatas, os subordinados catam os dominantes,

uma exceção deste caso é em *A. senicullus*, onde os animais em altos “ranking” catam mais que os subordinados (SEYFARTH, 1977).

Em todas as espécies do gênero *Alouatta*, as FA são subordinadas aos machos adultos (NEVILLE *et al.*, 1988) e isto deve ser aplicável à espécie *A. guariba* (CHIARELLO, 1995).

III.2. MATERIAL E MÉTODOS

III.2.2. Estudo do Comportamento Social em Ambiente Natural

Para melhor compreender as relações entre estrutura hierárquica e a produção de secreção colorida em *A. g. clamitans*, foram coletados dados relativos ao comportamento social de um grupo de bugios em ambiente natural.

III.2.2.1. Área de Estudo

Os animais silvestres estudados encontram-se em área de 40 há de Mata Atlântica conhecida como Morro Geisler, com latitude 26° 54' S e longitude 49° 13' W Gr e com altitude que varia entre 200 e 285 metros acima do nível do mar, no centro do município de Indaial em Santa Catarina (Figura 28).

III.2.2.2. Animais

O grupo estava composto por 1 MA, 2 FA, 2 MSA e 2 MJ e 1 infante, (totalizando 8 animais) foi acompanhado durante os meses de janeiro, fevereiro e março de 2001 e 2002. Estes meses foram escolhidos por serem os de maior deslocamento e interação social do grupo (HIRANO *et al.*, 1997). Estes animais já estavam habituados à presença dos pesquisadores, pois pesquisas sobre comportamento, são realizadas na área há aproximadamente 7 anos.

III.2.2.3. Procedimentos Gerais de Campo

No início das amostragens os animais foram numerados aleatoriamente dentro de cada sexo e faixa etária e permaneceram com esta identificação até o final das amostragens. Cada animal do grupo foi reconhecido visualmente por alguma característica física (formato da face, mancha corpórea, etc).

Os animais foram acompanhados 12 h diárias 6 dias por mês. Registraram-se os comportamentos pelo Método de Varredura (ALTMANN,1974), com instantes de 20 minutos os comportamentos das seguintes categorias: descanso (quando o animal encontrava-se parado, sentado, deitado, e não estava vocalizando); alimentação (ato do animal pegar, conduzir a boca, ou manipular de qualquer forma o alimento), locomoção (deslocamento) e outros (qualquer comportamento que não descrito anteriormente). Anotou-se a cor de cada indivíduo (de acordo com a figura 3B) e a altura do estrato arbóreo onde cada animal se encontrava. Para a locomoção registrou-se quem se deslocava na frente.

Os comportamentos de autocatenação (o ato do animal manipular qualquer parte de seu corpo), heterocatenação (manipulação qualquer de parte do corpo de outro indivíduo), vocalização (emissão de som) e esfregação (roçar qualquer parte do corpo em elementos do meio) foram registrados *ad libbitum*. Nestes registros anotava-se o horário de início e fim do comportamento, quem iniciava e no caso de esfregação que parte do corpo estava sendo esfregado em qual parte do meio, além disso registrava-se também a cor (de acordo com a figura 3B) e a faixa etária e sexo dos animais envolvidos no evento. As relações de

catação observadas foram estabelecidas e um sociograma foi feito com setas representando as relações estabelecidas e % de episódios.

Foram calculadas as proporções de tempo gasto em cada comportamento e comparados estatisticamente pelo Método de Análise da Variância de uma entrada e consideradas diferenças significativas para $P < 0,05$.

Figura 28: A- mapa do Estado de Santa Catarina com localização do município de Indaial e do Morro Geisler. B- fotografia de parte da cidade indicando o Morro Geisler. C- fotografia em destaque do Morro Geisler.

III.3. RESULTADOS

III.3.1. A COR DOS ANIMAIS

A cor de todos os animais (de acordo com índices da figura 3) não variou durante todo o período de estudo. O MA apresentou cor de índice 8, as fêmeas apresentavam cor de índice 3 e 4 FA 1 e 2, respectivamente. Ambos MSA apresentavam coloração 5, sendo que o MSA1 apresentou uma coloração de índice 7 na porção superior da cabeça e na região da coluna e os infantes e juvenis apresentavam cor 1 e 2, respectivamente.

III.3.2. COMPORTAMENTO GERAL

Foram registrados 3229 ± 130 instantes amostrais por mês nas observações de campo. O grupo gastou 60,57% do tempo em descanso, 17,3% em locomoção, 12,3% em alimentação e 2,3 em outras atividades (figura 29A). Este grupo apresentou uma área média de vida (*home range*) de 19 ha e um percurso médio diário (*day range*) de 12 km. O grupo estudado nomeado de grupo da Pedreira. Tem sido estudado outros quatro grupos de bugios na área que sobrepõe território com o grupo da Pedreira. Isto facilitou a visualização de um grande número de episódios de encontros entre os grupos e a ocorrência de comportamento agonístico. Os encontros entre os grupos aconteciam em vários horários do dia e foi sempre acompanhado por vocalizações, geralmente realizada pelos machos e muitas vezes acompanhado pelas fêmeas. Os encontros ocorriam na maioria das vezes na periferia da área de vida do grupo da pedreira. Quanto à alimentação os bugios dos amostrados mostraram-se frugívoros –

A

B

Figura 29: Comportamento geral de um grupo de bugios (8 animais), residentes no Morro Geisler em Indaial-SC. Em A, porcentagens de tempo gasto pelos animais nos comportamentos de descanso, (D); alimentação, (A); Locomoção, (L) e outros, (O). Em B, porcentagens alimentares consumidas pelos bugios distribuídos em folha nova, (FN); folha madura, (FM) folha madura, fruto imaturo, (FRI) e fruto maduro,(FRM). Os comportamentos foram registrados nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2000. Uma média de 3229 instantes de amostragens foram realizados por mês.

folívoros, apresentando uma dieta de 29,8% de folhas e 70,5% de fruto (figura 29B).

É importante ressaltar que durante o primeiro ano de estudo, os pesquisadores encontraram uma jaguatirica no Morro Geisler e registraram a predação de um MSA de um outro grupo vizinho ao grupo da pedreira. Durante esta fase os animais do grupo de estudo mantiveram-se constante postura de alerta e apreensão.

III.3.3. LIDERANÇA NO DESLOCAMENTO

Os dados relativos ao comportamento de liderança no deslocamento do grupo estão apresentados na figura 30. Observa-se que o MSA 2 e o I1 não apresentaram comportamento de liderança no deslocamento do grupo durante o período de estudo. O MA, a FA1, a FA2, o MSA1 e os J1 e J2 apresentaram percentuais de liderança no comportamento de deslocamento de 21.7, 39.1, 13, 4.3, 17.4, e 4.3%, respectivamente. A FA1 apresentou um comportamento de liderança de deslocamento à frente do grupo significativamente ($P < 0,05$) maior que todos os outros animais do grupo (figura 30).

III.3.4. DESCANSO EM ESTRATO ARBÓREO SUPERIOR

Na figura 31, encontram-se os dados relativos ao comportamento de descansar no estrato arbóreo em posição superior aos demais animais do grupo, 54,6% dos registros deste comportamento foi referente ao MA1, cujo resultado foi significativamente maior que a porcentagem registrada para os

Figura 30: Porcentagem de episódios de deslocamento à frente de um grupo de *A. g. clamitans* residente no morro Geisler (Indaial-SC). Composição do grupo: (MA1)- 1 macho adulto; (FA1 e FA2)- 2 fêmeas adultas; (SA1 e SA2)- 2 machos subadultos; (J1 e J2)- 2 juvenis e (I1)- 1 infante. (*): diferença significativa, comparação entre os sexos e faixas etárias (ANOVA $P < 0,05$). A barra representa o erro médio padrão.

Figura 31: Porcentagem de episódios de descanso em estrato arbóreo mais elevado, em um grupo de *A. g. clamitans* residente no morro Geisler (Indaial-SC). Composição do grupo: (MA1)- 1 macho adulto; (FA1 e FA2)- 2 fêmeas adultas; (SA1 e SA2)- 2 machos subadultos; (J1 e J2)- 2 juvenis e I1- 1 infante. (*): diferença significativa entre os sexos e faixas etária no comportamento descanso em estrato arbóreo superior. A barra representa o erro médio padrão.

outros animais. As FA 1 e 2, com 20.1% e 17.1% dos registros, não mostraram diferença significativa entre si. Os valores encontrados para MSA1, J1 e J2 foram 2.0, 4.1 e 2.0%, respectivamente.

III.3.5. HETEROCATAÇÃO

Registraram-se 120 episódios de heterocatação durante o estudo, destes o MA1 foi o animal que mais recebeu e menos realizou catação com 46,4 e 3,6%, respectivamente. As FA1 e 2 foram as que mais cataram com 35,7 e 32,1% respectivamente, não havendo diferença significativa entre si. Dos episódios de catação observados com a FA1 em 60% ela catou o MA1 (figura 32).

Na figura 33 pode-se observar as interações de catação entre os animais do grupo, os números representam o percentual de episódios de interação envolvendo a díade. Nesta figura observa-se que embora o MA que foi observado catando somente a FA1 e a FA2, foi catado pela FA1, FA2, SA1, J1 e I1. Sendo a maior frequência de episódios de catação da FA1 com o MA1. Embora a FA1 seja a mais catadora, ela realizou catação apenas em 4 indivíduos e recebeu catação de 5, enquanto a FA2 realizou catação em 4 e recebeu de 7. Embora a FA2 tenha recebido catação de um número maior de indivíduos do grupo, ela apresentou menor frequência de episódios de catação que a FA1. O I1 realizou um grande número de episódios de catação, perdendo apenas para as fêmeas. O maior número de episódios de catação realizados pelo infante foi com o FA1, seguido pelo MA1 e pela FA1, SA1 e J2 em quantidades iguais.

Figura 32: Porcentagem de episódios de quem cata e quem é catado nas diferentes sexos e faixas etárias de bugios do morro Geisler (Indaial-SC). (MA1)- macho adulto; (FA)- fêmea adulta; (SA)- subadulto; (J)- juvenil; (I)- infante. (*): diferença significativa, cata; (**) diferença significativa, catado (ANOVA $P < 0,05$). Barra representa o erro padrão da média.

Figura 33: Estrela hierárquica para a categoria de catação entre os sexos e faixas de idade. Composição do grupo: (MA1)- 1 macho adulto; (FA1 e FA2)- 2 fêmeas adultas; (SA1 e SA2)- 2 machos subadultos; (J1 e J2)- 2 juvenis e I1- 1 infante. Os números representam a porcentagem de episódios que o animal foi amostrado catando por total de episódios observados. *A. g. clamitans* residente no morro Geisler (Indaial-SC).

Observando a estrela hierárquica (figura 33) verifica-se que as fêmeas formam o núcleo do grupo quanto a categoria catação.

III.3.6. ESFREGAÇÃO

Registraram-se 89 episódios de esfregação, distribuídos conforme tabela V. Observa-se nesta tabela que o MA foi o animal que mais realizou esfregação, e destas a região do híóide foi a mais esfregada. Durante os registros *ad libitum*, no contexto da esfregação, sete dos episódios foram com a região do híóide pelo MA1 nos encontros intergrupos. Os MA1 de ambos os grupos envolvidos no episódio de encontro realizaram vocalizaram e esfregação da região do osso híóide.

A FA1 realizou quatro episódios de esfregação do anus, sendo que, dois destes antecederam um contexto de sequência de corte e cópula com o MA1. Vinte esfregações da região anogenital, foram realizadas sempre posterior a defecação.

Tabela V: Porcentagem de episódios de esfregação e região do corpo esfregada por um grupo de oito bugios *A. g. clamitans* residente no morro Geisler (Indaial-SC). Composição do grupo: (MA1)- 1 macho adulto; (FA1 e FA2)- 2 fêmeas adultas; (SA1 e SA2)- 2 machos subadultos; (J1 e J2)- 2 juvenis e I1- 1 infante.

Regiões do corpo	MA1	FA1	FA2	SA1	SA2	J1	J2	I1	total
Hióide	15.8	1.3	1.3	2.6	7.9	0.0	0.0	0.0	28.9
Esterno	7.9	0.0	1.3	0.0	1.3	2.6	0.0	0.0	13.1
Face	3.9	0.0	0.0	0.0	3.9	1.3	0.0	0.0	9.1
Anogenital	3.9	5.3	10.5	1.3	0.0	2.6	1.3	0.0	24.9
Costas	6.6	5.3	2.6	0.0	5.3	0.0	2.6	1.3	23.7
total	38.2	11.8	15.8	3.9	18.1	6.6	3.9	1.3	

III.4. DISCUSSÃO

A catação é uma atividade que representa *status* hierárquico em primatas (JOHNSON, 1973). Como regra geral entre os primatas, os subordinados catam os dominantes, uma exceção deste caso é em *A. senicullus*, onde os animais em altos “ranking” catam mais que os subordinados (SEYFARTH, 1977).

Em todas as espécies do gênero *Alouatta*, as FA são subordinadas aos machos adultos (NEVILLE *et al.*, 1988) e isto é verdadeiro para espécie *A. g. clamitans* (CHIARELLO, 1995).

Nossos resultados, mostraram que o MA ruivo (alfa) é o animal mais catado e o que menos cata do grupo, sendo ele o indivíduo hierarquicamente superior no grupo, seguido pelas fêmeas. Estes resultados corroboram os de CHIARELLO (1995), que estudou o comportamento de catação em *A. guariba* em floresta atlântica do sudeste do Brasil, e encontrou que o MA líder é o indivíduo mais catado do grupo e que as FA são as que mais catam. Os resultados deste trabalho fortalecem os encontrados por NEVILLE *et al.*, (1988) que relataram que os machos de bugios são geralmente mais catados que as fêmeas. NEVILLE (1972), em estudo com *A. seniculus* observou que o MA foi o animal mais catado e o que menos cata, e as fêmeas são mais catadoras que os machos e os de MENDES (1989), estudou a mesma sub espécie, observou também que as FA são as líderes no contexto de catação.

A marcação por cheiro é um comportamento muito utilizado pelos primatas neotropicais. As secreções glandulares são passadas nas árvores para marcar território e agem na atração sexual, no reconhecimento individual,

indicam *status* social, ameaça e auxiliam no reconhecimento mãe - filhote ou como registro de seus movimentos (MILTON, 1975).

O MA1 no grupo de estudo foi o animal que mais marcou, sendo a região do hióide a mais esfregada. Este comportamento esteve diretamente relacionado ao contexto agonístico, que ocorreu em encontros entre grupos. Essas marcações ocorreram semelhante com vocalizações.

A esfregação da região do hióide pode significar uma marcação odorífera, como descrita por (EPPLE, 1986) ou mesmo um tipo de marcação visual de dominância e liderança de um determinado grupo. Quando o MA1 esfrega a região do hióide ele está esfregando a região que possui um grande número de GPP e conseqüentemente deve liberar na superfície a sua secreção colorida e odorífera, servindo como um meio de marcação. Como já dissemos, trabalhos referentes à marcação, como um meio de comunicação realizados com espécies de primatas, descrevem a existência de secreções odoríferas que definem diferentes sinais tais como: territorialidade (SCHILLING & PERRET, 1987; BARTECKI & HEYMANN, 1990); *status* social (WALRAVEN & VAN ELSACKER, 1992) e estado reprodutivo (EPPLE 1986; SETZ & GASPAR, 1997).

Há uma relação entre marcação e dominância. Um animal que marca freqüentemente pode ser o indivíduo dominante em um grupo ou em uma área fixa, ou também quando ocorrem encontros agonísticos com animais interespecíficos (DAVIS, 1958, apud RALLS 1971).

Muitas espécies marcam mais freqüentemente após encontros com membros de mesmo sexo que após encontros com animais de sexo oposto (RALLS, 1971).

YOUNG (1982) observou um MA de *A. palliata* solitário e periférico realizando esfregação em posição vertical em tronco de árvore. A ocorrência deste tipo de esfregação foi acompanhado por mudança na estrutura grupal, ou seja, após a ocorrência deste tipo de esfregação por um macho periférico ao grupo, este macho, gerou vários episódios agressivos com o macho líder deste grupo e realizou interações sexuais com as fêmeas. Este tipo de esfregação foi relacionado pelo autor a marcação de desafio. Analisando os encontros por nós observados, podemos supor que a marcação em posição vertical realizada pelo macho periférico, fez com que as glândulas presentes na região do hióide liberassem secreção levando talvez desta forma a uma marcação visual em posição vertical na árvore, possível de ser identificada por outro macho à curta distância e que gerou o conflito entre ele e o líder do grupo.

SEKULIC & EISENBERG (1983) verificaram a esfregação das regiões do esterno, gular e mandibular em *A. seniculus*. Em ambiente natural, ocorre pela aproximação entre dois machos, entre fêmeas e entre machos e fêmeas, assim como no encontro de grupos. Os resultados encontrados no grupo do morro Geisler confirmaram os descritos pelos autores acima.

O *Alouatta seniculus* apresentam a coloração ruiva semelhante à cor do *A. g. clamitans* e também liberam secreção avermelhada (DITMARS, 1922), e realizam esfregação do hióide (gular) durante encontros intergrupos (SEKULIC

& EISENBERG, 1983) estas informações unidas as obtidas neste trabalho em bugios do morro Geisler, alto índice de esfregação do hióide em situação de encontros interespecíficos, sugerem, ser este tipo de esfregação um mecanismo de comunicação visual e odorífera comum em contextos agonísticos.

O encontro de alto índice de esfregação da região do hióide e a observação de uma correlação positiva entre liberação de secreção na região do hióide e a temperatura corpórea, indicam que com o aumento da temperatura corpórea, ocorre um maior estímulo da liberação de secreção na região do hióide. Em situação de conflito intergrupo, o animal encontra-se em situação de alarme, que leva a um aumento na concentração de adrenalina na corrente sanguínea que conseqüentemente leva a um aumento da temperatura corpórea, que estimula a liberação desta secreção nesta região e que permite com a esfregação desta região a marcação odorífera e visual pelos machos conflitantes.

Verificou-se também que todos os animais realizaram esfregação da região anogenital, que também poderia significar uma marcação odorífera, uma vez que em FA, antecederam atividades de cópula. A predominância de marcações anogenital fora do contexto sexual e o registro de vermes adultos, fêmeas de um parasita *Oxiuridae*, gênero *Trypaxoxiuris* levaram os autores GASPARG & SETZ (1997), a concluir que esses comportamentos sejam respostas dos bugios ao prurido anal provocado pela eliminação nas fezes das fêmeas ovadas deste parasita. Diferentemente do relatado pelos autores, os

nossos resultados não devem estar relacionados à parasitas, uma vez que fezes de animais deste grupo vem sendo coletadas quinzenalmente e nos exames parasitológicos realizados, não foram detectados, até o momento, nenhum parasita. Este tipo de esfregação pode também ter uma relação com o ato de limpar o anus após a defecação.

BRAZA *et al.* (1981) avaliaram o comportamento de *A. seniculus* na Venezuela, e verificaram que, após defecação os animais, esfregavam a região anogenital nos troncos das árvores, e deixavam um odor característico, sendo este um mecanismo de marcação anal. Esses autores relataram que outra forma de marcação visualizada em MA foi à esfregação da barba e mandíbula em alguns pontos das árvores.

Registrou-se alguns episódios de esfregação das costas, realizadas por todos os animais do grupo, que pode estar relacionada com o ato de coçar ou ainda de marcar com as GPPI, identificadas na nuca de MA, FA, MSA e J.

Os resultados encontrados no estudo de comportamento social de *A. g. clamitans* em ambiente natural levam a várias inferências quanto à importância da cor do animal na vida social e estrutura hierárquica. Geralmente MSA e MA cumprem o papel de vigilância do grupo. A visualização em estrato arbóreo mais elevado permite a localização de invasores (HALL, 1965; DEVIRE & WASHBURN, 1965, apud NEVILLE *et al.*, 1988). No morro Geisler, o grupo estudo mostrou ser o MA o animal que com maior frequência é visualizado em estrato arbóreo superior, utilizando esta posição para talvez, realizar a vigilância como descrito pelos autores acima citados.

Finalmente, pode-se supor que o MA ocupa uma posição de guardião do grupo e por isso mantém-se em estrato arbóreo elevado e não pode se distrair catando outros animais, cabe a ele sinalizar ao grupo de alguma forma a necessidade de deslocamento que é liderada pelas fêmeas que teriam a função de direcionar o grupo de maneira segura para árvores alimentares ou para outra direção quando necessário desviar de outros grupos ou de predadores. A secreção liberada pelas glândulas GPP parece, também desempenhar um importante papel na sinalização do *status* social e territorialidade.

Episódios de vocalizações associados à esfregação do hióide em encontros intergrupos foram registrados no presente trabalho. MARLER (1968) e KUMMER (1971), citam que comunicação vocal entre os primatas, serve em parte para manter os padrões de distribuição do espaço por meio de sinais que aumentam, mantenham ou diminuam a distância entre grupos. As vocalizações de longo alcance, freqüentemente parecem influenciar as relações territoriais entre grupos e são observados em vários Prosímios (PETTER 1965, CHARLES-DOMINIQUE, 1979) e entre espécies do Novo Mundo, tais como, os pertencentes ao gênero *Alouatta* (macacos “gritadores”). Estes animais normalmente habitam floresta densa onde a comunicação visual é possível somente a curtas distâncias. Nesse habitat a seleção favorece a comunicação pelo som especialmente a longas distâncias. As vocalizações de longo alcance são consideradas sinais que possivelmente mediam o espaçamento entre os grupos (CARPENTER 1934, 1965; ALTMANN, 1959; CHIVERS, 1969). Assim, o MA de *A. g. clamitans* parece utilizar durante situações de conflitos,

comunicação sonora por meio da emissão de vocalização de longo alcance, comunicação visual, pela sua própria cor e odor quando esfrega o hióide, uma vez que esta região possui grande quantidade de GPP.

A cor da pelagem do MA em campo torna evidente a possibilidade que qualquer sinal visual, mesmo que sutil, emitido por este animal no meio da folhagem, seja detectado pelos outros animais do grupo. Quanto mais evidente for a cor deste animal, mais fácil a sua visualização no meio da floresta.

Primatas do gênero *Alouatta* são tricromatas visuais (BOWMAKER, 1998). A visão tricromática para os primatas consumidores de frutos, no que diz respeito ao seu significado evolutivo, desempenha a função de ajudá-los na detecção de um fruto maduro (tipicamente amarelo ou alaranjado) imerso em uma folhagem verde (SUMMER & MOLLON, 2000; DOMINY & LUCAS, 2001).

REGAN *et al.* (1998), estudando a refração da cor dos frutos consumidos por *A. seniculus*, verificou uma grande relação entre o espectro visualizado por estes animais e o espectro dos frutos consumidos pelos mesmos, confirmando a necessidade desta tricromacia para a alimentação, permitindo a discriminação e a visualização de frutos maduros na mata.

Por outro lado, se considerarmos a subespécie *A. g. clamitans* que possui um dimorfismo sexual por dicromatismo evidente na fase adulta, com MA dominantes ruivos e FA marrom escuras, esta tricromacia visual poderia desempenhar um outro papel ainda mais importante, servindo em parte na identificação, pelas fêmeas do macho líder capaz de garantir a reprodução, um fator importante na sua preservação. Esta tricromacia poderia ainda auxiliar o

macho na identificação à distância de um outro macho adulto, possível invasor de seu território. Desta forma a tricromacia visual teria a função de identificar os sinais visuais, determinados pela secreção, uma vez que, em nossos experimentos a secreção colorida produzida por glândulas GPP e liberada na epiderme dos animais, mostrou-se capaz de corar seus pêlos e desta forma ser a responsável pela coloração ruiva dos machos adultos.

Se pensarmos em comunicação como em um mecanismo de co-evolução do animal que emite e recebe um sinal, e o sinal selecionado para garantir a eficiência na transferência de informação e o aparato do receptor selecionado para efetiva recepção (GUIFORD & DAWKINS, 1993), poderíamos relacionar a liberação de secreção colorida e a tricromacia visual na subespécie *A. g. clamitans* a este mecanismo co-evolutivo, com o aparecimento de um aparato receptor mais eficiente, através da tricromacia visual, capaz de detectar de maneira eficiente à cor ruiva, dada pela liberação da secreção que permite aos machos uma autocoloração na fase adulta, servindo como sinal e garantindo desta forma, a transmissão da mensagem.

3- CONCLUSÕES

Os MA, MSA, MJ, FA, FSA e FJ da subespécie *A. g. clamitans* liberam na epiderme uma secreção colorida.

Os pêlos de MSA de *A. g. clamitans*, quando mantidos em estufa a 38°C por 60 dias com secreção colorida de MSA da mesma espécie, mudam a cor geral e a da periferia. Na presença de água não perdem a cor.

Pêlos de MSA e de FA, quando mantidos em secreção previamente estocada de MSA, FA e MA de *A. g. clamitans*, mudam a cor da região central. Os pêlos de MJ não mudam a cor em secreção estocada.

A molécula responsável pela coloração do pêlo a princípio, é termolábel, mudando sua estrutura após aquecimento e resfriamento, por corar a parte externa do pêlo quando utilizada a fresco e a parte interna do pêlo quando estocada em freezer e ensaiada a 38°C.

Os campos cromatogênicos de MJ, FA e FSA apresentam coloração escura, com índices de cor 1, 2 e 3. Os MSA possuem corpos cromatogênicos com índices de cor 3, 5 e 7, enquanto que em MA os índices de cor são 7 e 8.

A cor dos campos cromatogênicos nos machos sofre grande variação ao longo do desenvolvimento, passando de tons escuros nos MJ (1, 2 e 3) a tons totalmente claros nos MA (7 e 8).

A porcentagem de dias com liberação de secreção colorida possui correlação positiva com a temperatura ambiente em quase todas as regiões do corpo de MA, MSA e FA, com exceção da região do hióide em MA e da mandíbula em MSA. A porcentagem de dias com liberação de secreção na

região do hióide de MA e mandíbula em MSA possui maior correlação com a temperatura corpórea.

Os MSA passam mais tempo esfregando qualquer parte do corpo que MA e liberam secreção em uma maior porcentagem de dias. Existe uma correlação positiva entre o ato de esfregar e a porcentagem de horas ao longo do dia com liberação de secreção.

Os animais da subespécie *A. g. clamitans* apresentam na derme uma glândula produtora de secreção colorida (GPP), na região do osso hióide e da mandíbula, em MA e MSA.

A GPP é uma glândula sudorípara modificada, que a princípio, parece sofrer alteração por ação hormonal, sendo diferenciada com o amadurecimento dos animais. Existe grande diferença entre a concentração de hormônio testosterona no MA quando comparada aos níveis sanguíneos de fêmeas e de machos em outras faixas de idade. Isto indica uma forte relação entre o aparecimento da GPP e a concentração do hormônio testosterona no sangue.

As FA e FSA apresentam uma estrutura glandular menos desenvolvida, denominada de GPPi (glândula produtora de pigmento em fase intermediária) nas regiões do hióide, da mandíbula, do esterno e inguinal. As GPPi estão também presentes na região inguinal e nuca de MSA e MA.

Os animais juvenis e infantes apresentam somente glândulas sudoríparas normais em todas as regiões do corpo estudadas.

Em microscopia eletrônica as GPP apresentaram células com características secretoras, repletas de vesículas, umas com conteúdo

eletrotransparente e outras com conteúdo eletrodenso. As vesículas com conteúdo eletrodenso concentram-se no pólo secretor da célula, voltadas para o ácino da GPP.

O ferro mostrou-se como um dos componentes responsáveis pela coloração do pêlo dos animais. A concentração de ferro na secreção de MA foi mais elevada que em fêmeas e em machos em outras faixas etárias. A concentração de ferro na secreção apresentou correlação com a quantidade de regiões do corpo que apresentam índice de cor 7, comum apenas em MSA e MA, indicando ser este um dos responsáveis pelo aparecimento deste índice de cor na pelagem destes animais.

A liberação desta secreção é a responsável pelo aparecimento da cor ruiva nos MA de *A. g. clamitans*, uma das características sexuais secundárias que define o dicromatismo evidente na fase adulta desta subespécie.

Em estudo de campo foi possível identificar a posição hierárquica do macho ruivo, sempre acima do grupo, como líder e guardião. O animal mais vermelho é o mais catado, o que mais participa de conflitos intergrupo, esfregando a região do hióide, e o que permanece sempre na posição de vigia no estrato arbóreo mais alto na floresta. Pode-se inferir um papel de comunicação visual e odorífero para esta secreção. O gênero *Alouatta* é tricromata visual, o que torna possível a visualização da cor dos machos pelas fêmeas, e conseqüentemente, a escolha do macho de colorido mais ruivo para procriação. Este macho seria o mais saudável, possuindo “bons genes”, uma

vez que a cor é dada pelo desenvolvimento glandular, e indiretamente, pelos níveis sanguíneos de testosterona.

4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferenças entre machos e fêmeas das diferentes espécies animais na natureza são tão abundantes e óbvias que a questão do dimorfismo é vista como uma ocorrência natural. Todavia, para o estudioso da Biologia e do Comportamento, estas diferenças sempre foram intrigantes. A discussão sistemática dessas diferenças foi feita pela primeira vez por Charles Darwin (1871, p.257-258) no seu livro *The Descent of the Man and Selection Related to Sex*, no qual, entre muitos exemplos e argumentações para essas diferenças, o cientista se refere:

“Há muitas estruturas e instintos os quais devem ter se desenvolvido através da seleção sexual – tais como as armas de ataque e defesa possuídas pelos machos para lutar e expulsar os rivais – sua coragem e pujança – seus ornamentos de muitos tipos – seus órgãos para produzir música vocal e instrumental – e suas glândulas para emitirem odores; muitas destas últimas estruturas servindo para atrair ou excitar as fêmeas.”

A seleção sexual provavelmente decorreu de taxas diferenciais de reprodução, isto porque, cada indivíduo difere na capacidade de competir com seus co-específicos de mesmo sexo, tanto pelo acesso (seleção intra-sexual), quanto pela sua capacidade em atrair os parceiros do sexo oposto (seleção inter-sexual) para o acasalamento (DARWIN, 1971).

A seleção sexual portanto, concentra-se nas conseqüências seletivas das interações sexuais dentro de uma determinada espécie (ALCOCK, 1989).

Segundo DARWIN (1871), os mecanismos da seleção sexual explicam a evolução de atributos que não seriam justificados no contexto da interação dos indivíduos com variáveis ambientais.

Na maioria das espécies, a estratégia predominante de investir mais no acasalamento foi convencionalmente associada aos padrões comportamentais e fisiológicos de machos (baixo investimento nas crias, alto número de gametas e competição com outros machos) e a estratégia de maior investimento nas prole aos padrões comportamentais de fêmeas (produção de gametas maiores e mais ricos nutricionalmente, fertilização interna, cuidado elevado e mais freqüente com as proles).

Neste contexto, a evolução do dicromatismo sexual depende da chance de uma mutação ocorrer especificamente para aquele caracter. Se as fêmeas escolhem um macho diferente, esta característica começa a ser selecionada, isto se torna desvantajoso para os que não são diferentes, e assim a característica poderia ser transmitida mais rapidamente. A diferenciação de uma determinada cor poderia se disseminar rapidamente (o fenótipo) (CROCKET, 1987).

O dimorfismo evidenciado nos bugios *A. g. clamitans*, provavelmente surgiu pela capacidade das fêmeas em distinguirem a cor dos machos, e desta forma darem preferência por machos com tons mais evidentes – os dominantes.

Os comportamentos dimórficos evoluem quando um circuito neural monomórfico passa por um processo evolutivo no qual, o hormônio expresso em um dos sexos (sinal molecular), desenvolve a capacidade de capturar a

expressão de seqüência de eventos moleculares pré-existent, responsável por um determinado circuito neuronal. Assim, as mutações que mediam esse mecanismo são favorecidas se os comportamentos dimórficos resultantes são mais vantajosos que os padrões monomórficos da população. Os mecanismos envolvidos com o dimorfismo restrito a forma física devem ter seguido caminhos semelhantes, no qual as mutações que geraram atributos que viessem beneficiar rivais, em termos, por exemplo, de armas e força (no nosso caso a aquisição de cor) foram capturados a partir de sistemas monomórficos (ARNOLD,1996).

Uma característica comum em grupos de primatas que possuem dimorfismo por dicromatismo é a imigração realizada pelas fêmeas, desta forma elas podem selecionar o macho com quem vão se unir e possivelmente procriar. Uma boa explicação para o dicromatismo sexual seria como um mecanismo sinalizador da identidade sexual, resultando assim, na seleção sexual (CROCKET, 1987).

Dos dois tipos de seleção sexual, a escolha pela fêmea por distintos machos (seleção epigâmica) parece ser mais seletiva que a competição intrasexual por parceiros. O dicromatismo sexual em primatas não está fortemente relacionado com competição intrasexual, como estimado em espécies poligínicas, onde se espera que a competição macho – macho ocorra em maior quantidade, pois o dicromatismo sexual também ocorre em primatas monogâmicos.

Pode-se argumentar que distintos machos seriam mais intimidados em encontros macho – macho, mas tais encontros não são normalmente tão intensos ou freqüentes em espécies monogâmicas, quando comparadas com aquelas poligínicas. Correspondentemente, espera-se que o dicromatismo sexual seja mais comum em espécies poligínicas, se distintas colorações forem favorecidas por seleção intrasexual. Entretanto, mais da metade das espécies dicromáticas são monogâmicas.

Emigração em fêmeas do gênero *Alouatta* foi bem documentada em *A. seniculus* (CROCKET, 1984), *A. palliata* (CLARKE *et al.*, 1984) e em *A. pigra* (SCHLICHTE, 1978).

Entretanto, em todos os casos de pronunciado dicromatismo sexual uma característica poderia ter se perpetuado através do mesmo processo de seleção epigâmica, visto que fêmeas que emigram de sua tropa natal estão em uma situação que as leva a escolher os machos, com os quais elas ficam e eventualmente copulam (KINZEY, 1997).

Em sistemas sociais onde as fêmeas permanecem nos grupos e os machos competem com outros para formar novos grupos e copular, a escolha das fêmeas por vários machos ocorre. Entretanto, elas devem escolher entre os parceiros que estão disponíveis para escolha, e que provavelmente foram definidos por conflitos entre machos (CROCKET *et al.*, 1984).

A hipótese do presente trabalho sugere que as fêmeas escolhem entre machos distintivamente coloridos, e os com coloração mais evidente seriam os

mais escolhidos (machos alfa). Pode-se argumentar que nem todas espécies em que as fêmeas migram possuem dicromatismo.

Sugere-se neste trabalho que a evolução do dicromatismo sexual dependeu, na subespécie *A. g. clamitans*, da chance de mutações ocorrerem especificamente para a seleção de cor. Um macho mais ruivo começou a ser escolhido, tornando altamente desvantajoso para os machos não serem tão ruivos, e a característica se estendeu rapidamente para a população.

Para que as fêmeas possam fazer a escolha por coloração ocorre a necessidade da visão tricromática, fato este observado em *Alouatta* (SUMMER & MOLLON, 2000).

Como dissemos, primatas do gênero *Alouatta* são tricromatas visuais (SUMMER & MOLLON, 2000; DOMINY & LUCAS, 2001), e de acordo com REGAN *et al.*, (2000) parece ter ocorrido um mecanismo coevolutivo no sentido de melhorar a percepção para visualização de frutos coloridos e maduros na mata. Por outro lado, um levantamento dos primatas do novo mundo frugívoros (*Cebus*, *Ateles*), leva à análise de que os membros do gênero *Alouatta* são os que menos consomem frutas entre estes, sendo o único gênero que tem visão tricromática em todas as gerações. O que torna pouco sugestivo o desenvolvimento de um sistema visual tricromático para a obtenção de alimento. O desenvolvimento de um sistema visual tricromático requer grande gasto de energia, sendo pouco provável o desenvolvimento de um sistema tão bem elaborado somente para a alimentação se o item fruto não é o mais selecionado por estes animais quando feita uma análise da porcentagem de

itens alimentares consumidos ao longo de um ano. Estes fatos levam à necessidade de estudos posteriores, relativos à acuidade visual desses animais, pois durante a coleta de dados do presente trabalho, observou-se uma acentuada frugivoria, mas, os frutos consumidos pelos animais em maior porcentagem foram de *Ficus insipida*, que possuem cor verde mesmo quando maduros.

A tricromacia visual poderia desempenhar um outro papel mais importante, poderia servir para a identificação da cor do macho que seria o melhor reprodutor, e assim, capaz de garantir a reprodução, um fator importante na preservação destes animais. Poderia ainda auxiliar o macho na identificação à distância de um outro macho adulto, possível invasor de seu território. Desta forma a tricromacia visual teria a função de identificar os sinais visuais determinados pela secreção. Reforçando essa idéia, em nossos experimentos, a secreção colorida produzida pelas GPP e liberada na epiderme dos bugios mostrou-se capaz de corar os pêlos dos mesmos, e desta forma ser a responsável pela coloração ruiva dos machos adultos.

A capacidade dos bugios de corarem seu próprio pêlo e a teoria de que a cor serve como um atrativo sexual para as fêmeas poderia ser argumentos suficientes para separar *A. g. clamitans* e *A. g. guariba* em espécies diferentes. Este fato poderia servir como uma barreira etológica para o intercruzamento destas "subespécies". Portanto, uma fêmea de *A. g. clamitans* naturalmente não se interessaria por um macho de *A. g. guariba* em uma área de simpatria, já que a coloração do macho é um contexto para a corte e cópula. Concordando

assim com o conceito de espécie biológica, separadas por uma barreira etológica, pré- zigótica.

A secreção seria ainda um indicativo de saúde, já que sua liberação e a coloração do pêlo estariam diretamente ligados aos níveis de testosterona sangüínea, assim como ocorre em babuínos e macacos *Rhesus*. A testosterona é um hormônio que causa imunossupressão na maioria das espécies. Então, um macho com cor bem evidente seria um grande indicativo de que, apesar dos efeitos da testosterona, ele sobreviveu, indicando que ele possui uma boa bagagem gênica. KLEIN (2000) avaliou a resposta de fêmeas de macacos *Rhesus* a diferentes faces de machos coradas de vermelho, um indicativo da presença de altos níveis de testosterona nesta espécie. Os autores verificaram que as fêmeas respondem com sinais de interesse sexual pelos machos com face avermelhada. Relacionaram este interesse aos indicativos de bom reprodutor e de saúde (WAITT *et al.*, 2003). Na espécie humana, em adolescentes, também foi avaliado o aparecimento de caracteres sexual masculinos na face e este foi correlacionado com a saúde destes adolescentes e a preferência feminina (RHODES *et al.*, 2003).

Pode-se pensar ainda, em outros tipos de mensagens que seriam transmitidas pela marcação de árvores com cor, pelos MA dos grupos. Vários episódios de esfregação de troncos foram observados em estudo de campo e muitas vezes, visualizou-se a marcação do tronco com cor. O significado desta cor no tronco não foi avaliada. Desta forma, inferiu-se neste trabalho que esta secreção possui um importante papel na comunicação nesta subespécie,

despertando o interesse para estudos mais refinados de avaliações de sinais para emissão de informações neste grupo. Os animais utilizam-se de vários tipos de sinais (visuais, acústicos e odoríferos) para transmitir uma mensagem que signifique uma única informação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADKINS - REGAN, E. (1998) Hormonal mechanisms of mate choice. **Am. Zool.** 38:177-178.

ALCOCK, J. (1989) **Animal Behavior An Evolutionary Approach**. 4^a ed. Sunderland, Massachussets: Sinauer.

ALTMANN, J. (1959) Field Observation on a Howling Monkey Society. **Journal of Mammalogy**. 40:317-330.

ALTMANN, J. (1974). Observational Study of Behavior: Sampling Methods. **Behavior**. 49:227-267.

ALVES, I.M.S.C. (1983) Comportamento e Hábito Alimentar de um grupo de bugios (*Alouatta caraya* Humbolt, 1811) em ambiente semi-natural – (Primates, Cebidae). **Monografia apresentada no 2º semestre de 1983, para a conclusão do curso de Bacharel em Ciências Biológicas da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.**

AQUINO, R. & ENCARNACIÓN, F. (1983) Aspectos de la dinámica poblacional de *Aotus nancymai* (CEBIDAE: PRIMATES). **La Primatologia en Latinoamérica**. Peru.187p.

ARNOLD, A. P.(1996). Mechanisms of sexual differentiation. **Horm. Behav.** 30: 495-504.

AURICCHIO, P. (1995). **Primates do Brasil**. São Paulo. Terra Brasilis. 168 p.

- BARTECKI, U. & HEYMANN, E.W.(1990) Field observations on scent - marking behavior in saddle-back tamarins, *Saguinus fuscicollis* (Callitrichidae, Primates). **The Zoological Society of London**. England. 47: 87-99..
- BENTLEY, P. J.(1998) **Comparative Vertebrate Endocrinology**. United Kindom:. Cambridge. University Press.
- BERTAZZO, A.; BIASIOLO, M.; COSTA, C. V. L.; STEFANI, E. C.; ALLEGRI, G.(2000) Tryptophan in humam hair correlation whitth pigmentation. **Farmaco**. 55: 521-525.
- BICCA-MARQUES, J.C. (1991) Ecologia e comportamento de um grupo de bugio pretos *Alouatta caraya* (Primates, Cebidae) em Alegrete, RS, Brasil. Dissertação apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia. Brasília – Brasil.
- BICCA-MARQUES, J.C. (1993) Padrões de atividade diárias do bugio preto *Alouatta caraya* (Primates, Cebidae): Uma análise temporal e bioenergética. **A primatologia no Brasil**. 4: 35-49.
- BOINSK, S. (1992) Olfactory communication among Costa Rican squirrel monkeys: a field study. **Folia Primatol**. 59: 127–136.
- BOLDUC, C. & SHAPIRO, J. (2001) Hair care products: waving, straightening, conditioning, and coloring.. **Clin Dermatol**. 19(4): 431-6.
- BOWMAKER, J.K. (1998) Evolution of colour in vision in vertebrates. **Eye**. 12: 541-547.

- BRAKEFIELD,P.M. (1985) Polymorfism, Müllerian mimicry, and interations with thermal melanism in ladybirds and soldier beetle: an hypothesis. **Biol. J. Linn. Soc.** 26: 243-267.
- BRAZA, F.; ALVAREZ. F.& AZCARATE, T. (1981) Behaviour of the red howler monkey (*Alouatta seniculus*) in the llannos of Venezuela. **Primates.** 22:459-473.
- BRUMLOOP, A.; HOMBURG, I.; PEETZ, A.; RIEHL, R. (1994) Gular Scent glands in adult white faced saki, *Pithecia pithecia pithecia* and field observation on scent marking behaviour. **Folia Primatol.** 63:212-215.
- CARPENTER, C. R. (1934) A field study of the behavior and social relations of howling monkeys. Comparative Psychology Monographs, Baltimore – MD, 10(2) : 1-68.
- CARPENTER,C. R (1965) The Howlers of Barro Colorado Island.In: **Primate behavior: Field Studies of Monkeys and Apes** De Vore,I; RHINCHART,H; WINSTON (eds). New York. 250-291.
- CHARLES - DOMINIQUE, P. (1979) Urine marking and territorially in *Galago alleni* (Waterhouse, 1837 - Lorisoidea, Primates) - a field study by radio telemetry. Z. **Tierpsychol.** 43: 113 - 138.
- CHIARELO, A. G. (1995) Grooming in Brown Howler Monkeys, *Alouatta fusca*. **American Journal of Primatology.** 35:73-81.
- CHIVERS, D. J. (1969) On the dalay behaviour and spacing of howling monkey groups. **Folia Primat.** 10:48-102.

- CLARKE, M.R.; EL ZUCKER & GLANDER, K.E. (1994) Group take over by natal male howling monkey (*Alouatta Palliata*). **Folia Primatologica**. 54:(1-2): 11-15.
- COIMBRA-FILHO, A.F. (1977) Exploração da fauna brasileira. In: **Encontro Nacional sobre conservação da Fauna e Recursos Faunísticos**. IBDF/FBCN (eds), Rio de Janeiro.28-54.
- CORKER, C. S. & DAVIDSON, D. W. A (1978) Radioimmunoassay for testosterone in various biological fluids without chromatography. **J. Steroid. Biochem.** 9:373-374.
- CROCKETT, C. M . (1984) Emigration by female red howler monkey and the case for female competition. In: **Female Primates: Studies by women Primatologists**. M. Small (ed.). Alan R. Liss, New York, 159-173.
- CROCKETT, C. M. (1987) Diet, Dimorphism and Demography: Perspectives from Howler to Hominids. In: **The Evolution of Behavior: Primates Models**. W. G. Kinzey (ed) States University of New York Press.115-135
- CROCKETT, C. M. & EISENBERG JF.(1987). Howlers. Variation in group size and demography, In: **Primates Societies**. Smuts B.B.; Cheney D. L.; Seyfarth R.M.; Wrangham R.W.; Struhsaker T.T. (eds). Chicago, University of Chicago Press, 54-68.
- CSABA, (2000) Hormonal imprinting: its role during evolution and development of hormones and receptor. **Cell. Biol Int.** 24: 407 -414.

- DARWIN, C. (1871) Sexual selection. In: **The descent of man, and selection in relation to sex**. Part II. New Jersey: Princeton University Press, 1981. Reprint of the 1871. ed Published by Murray, London.
- DAVIS, D. E.(1947) Notes of the life histories of some Brazilian mammals. **Bol. Mus. Nac. Rio J. Nova Sér. Zool.**76:1-8
- DEL-CLARO, K. & VASCONCELOS-NETO, J. (1992) Os padrões de coloração animal. Exemplos na serra do Japi. In **História Natural da Serra do Japi. Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil** (Morrelato, L. P. Org). Editora UNICAMP / FAPESP. 288-308.
- DEL MARMOL, V. & BEERMANN, F. (1996) Tyrosinase and related proteins en mammalian pigmentation. **Febs Lett.** 381(3):165-168.
- DEPUYTORAC, C. (1991) Hormones and their evolution in animal Kingdom 2. Peptides hormones of invertebrate and vertebrate. **Anée Biologique.** 30:13-38.
- DONATO , P. D.; NAPOLITANO, A.; PROTA, G. (2002) Metal ions as potential regulatory factors in the biosynthesis of red hair or copper assisted oxidation of 5-S – cysteinyl-dopa. **Biochimica et Biophysica acta.** 1571:157-166
- DITMARS, G. M. (1922) Rearing a red Howler monkey. **Zoological Society Bulletin.** 33-39.
- DOMINY, N.J. & LUCAS, P. W. (2001) Ecological Importance of trichromatic vision to primates. **Nature.** 410:363-366.

DUNBAR, R. I. M. (1989) Social systems as optimal strategy sets: the costs and benefits of sociability. In: **Comparative Socioecology the Behavioral Ecology of Humans and other Mammals**. V. Standen & R. A. Foley. (eds). Oxford. Blackwell Scientific Publication.

DUNBAR, R. I. M. (1991). Functional Significance of Social Grooming in Primates. **Folia Primatol** 57: 121-131.

EIBL-EIBESFELDT, I. (1953) Eine besondere Form des Duftmarkierens beim Rüsselgibbon, *Galago crassicaudatus*. (E. Geoffroy, 1812). **Säugetierk, Mitt.** 1:171-173.

EMERSON, S. B. (2000) Vertebrate secondary sexual characteristics-physiological Mechanisms and evolutionary patterns. **Amer. naturalist**. 156:(1):84-91.

ENDLER, J. A. (1978) A predator's view of animal color patterns. **Evol. Biol** 11: 319-364.

EPPLE, G. (1986) Communication by chemical signals. In: MITCHELL, G., ERWIN, J. (ed.), **Comparative Primate Biology, Vol. 2^a: Behavior, Conservation and Ecology**, A. R. Liss, New York. 531 - 580.

EPPLE, G. & LORENZ, R. (1967) Vorkommen, Morphologie und Funktion der Sternaldrüse bei den Platyrrhiniern. **Folia Primatol.** 7 : 98 – 126.

EWER, R. F. (1968) **Ethology of mammals**. Logos Press, London,.

- EWER, R. F. (1973) **The carnivores**. Weidenfeld & Nicolson, London.
- FAWCETT, D. W. (1964) In: **Lipid Transport** (H. C. Meng, ed.), Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- FAWCETT, D. W. (1965). Structural and functional variations in the membranes of the cytoplasm. In: **Intracellular Membranous Structures**. S. Sens & E.V.Cowdry. (eds). Japan Society for Cell Biology, Oyama.
- FAWCETT, D.W.(1966) An Atlas of Fine Structures. In: **The cell its organelles and Crystalline Inclusions** (D. W. Fawcett, ed.) , W. B. Saunders Company, Philadelphia. 319-336.
- FAWCETT, D. W. & BURGOS, M. H. (1960) Studies on the fine structure of mammalian testis. II. The human interstitial tissue. **Amer. J. Anat.** 107:245-269.
- FERREIRA DOS SANTOS, W.; HIRANO, Z. M. B. & RODRIGUES, R.B. (2003) Secreção epidérmica colorida em *Alouata guariba clamitans*. **Libro de Resúmenes Y Programa do VIII Simpósio de Antropologia Física Luiz Montané**.33.
- FLESH, P. (1967) Red Hair and Iron. **New York State Journal of Medicine**. P 2492-2496.
- FLESH, P. (1968) Epidermal Iron Pigments In Red Species. **Nature**. 217-1056-1057.

FLESH, P. (1968) Epidermal Iron Pigments In Red Species. **The Journal of Investigative Dermatology**. 3:337-343.

FLESH, P.(1970) Studies of the Red Pigmentary system. **Arch Derm**. 101:475-481.

FLESH, P & ESODA, E. J (1966) The Iron of Red hair and Fheathers. **The journal of investifative dermatology**. 47(6) 505-506.

GABE, M. (1967) . In : **Traité de Zoologie**, P.P. Grasse, Ed. Masson, Paris, , vol 16.

GASPAR, D.A. e SETZ, E.Z.F. (1996) Marcação corporal em bugios (*Alouatta fusca*, GEOFFROY,1812): comunicação olfativa ou respostas a parasitas ? . **VIII Congresso de Primatologia e V Reunião Latino - Americano de Primatologia**: Programas e Resumos. João Pessoa - PB.: s.n,. 259.127.

GEORGE, F. W.; WILSON , J. D.(1994) Sex determination and differentiation. In: **The Physiology of Reproduction**. E. Knobil e J.D. Neil (eds). New York: Raven Press.

GREGORIN, R. (1996) Variação geográfica e taxonomia das espécies brasileiras do gênero *Alouatta* Lacépède, 1799, (Primates, Atelidae). **Dissertação de mestrado apresentado ao Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, USP, como parte dos requisitos do título de Mestre**, sobre orientação do Prof. Dr. Mário de Vivo. Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

- GRIFFIN, J. E. (1996) Male reproduction function. In: **Textbook of Endocrine Physiology**. J. E. Griffin & S.R. Ojeda (eds). Oxford University Press.
- GUILFORD, T. & DAWKINS, M. S. (1993) Receiver psychology and the design of animal signals. **Trends in Neuroscience**. 16:(1):430-436.
- HAUSMAN, L.A. (1920). The microscopic identification of commercial fur hair, **Scientific Monthly**. 10: 70.
- HERSHKOVITZ, P. (1968) Metachromism or the principle of evolutionary change. In: **Mammalian Tegumentary Color Evolution**. 22:556-575.
- HIRANO, Z.M.B., SILVA, J.C.; WANKE, E. ; WANKE-MARQUES, S. (1997) Comportamento e hábitos dos bugios (*Alouatta fusca*, Primata Cebidae), do morro Geisler – (Indaial – SC – Brasil). **Dynamis/ FURB**. 5 (19):19-47.
- HIRANO, Z.M.B.; TRAMONTE, R.; SILVA, A. R.; RODRIGUES, R.B. & FERREIRA DOS SANTOS, W. (2003) Morphology of epidermal Glands Responsible for release of colored secretions in *Alouatta guariba clamitans*. **Laboratory Primates Newsletter**. 42:(2):4-6.
- IHERING, H.V. (1914) Os bugios do GÊNERO *Alouatta*. **Rev. mees. Paul**. 9: 231-156.
- ILSE, D. R. (1955) Olfactory marking of territory in two young male loris, *Loris tardigradus lydekkerianus*, kept in captivity in Poona. **Brit. J. Anim. Behav.** 3:118-120 .

JACOBS, H. G. (1998) A perspective on color vision in platyrrhine monkeys .
Vision Reserch. 38:3307-3313

JACOBS, H. G.; NEITZ, M.; DEEGAN, J.F. & NEITZ, J. (1996) Trichromatic color vision in New World Monkey. **Nature.** 382:156-158.

JHONSON,R.P. (1973) Scent- marking .In: **Mamals animal. Behavior .** 21:521-535.

JONES, C. B. (1980) The Functions of status in mantled howler monkey. *Allouatta palliata* gray: Intraspecific competition for group membership in folivorous primate. **Primates.** 21:389-405.

JONES, C. B. (1983) Social organization of captive black howler monkey (*Alouatta caraya*) “social competition” and use of non damaging behavior. **Primates.** 24:25-39.

JONES, L.;N. (2001). Hair Struture Anatomy and Compative Anatomy.
Elsevier Science.19: 95-103.

KAPPELER, P. M. (1987) Reproduction in the crowned lemur (*Lemur coronatus*) in captivity. **Am. J. Primatol .** 12:497-503.

KARASKI, S. (1963) Studies on amphibian yolk. I. The ultrastructure of the yolk platelet. **J. Cell. Biol.** 18:135-166.

KAVANAGH,M. & BENNEH, E. (1984) A synopsis of legislation and the primate trade in habitat and user countries. In: **The Internacional**

Primate Trade, vol.1: Legislation, Trade and Captive Breeding. D. Mack and R. A. Mittermeier (eds), Traffic (USA), Washington, D.C. 19-48

KEOGH, H.J. (1983) A photographic reference system of the microstructure of the hair of Southern African bovids. **South.Afr. J. Wild Res.** 13 (4): 89-131.

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

KINZEY W.G. & CUNNINGHAM, E. P. (1994) Variability in Platyrrhine social organization. **American Journal Primatology.** 34:(2):185-198.

KLEIN, L. S. (2000). Hormones and mating system affect sex and species Differences in immune function among vertebrates. **Behavior Processes.** 51: 149-166.

KUMMER, H. (1971). **Primates Societies** Aldine, Chicago

LAFONT, R. (200). The ecronology of invertebrates. **Ecotoxicology.** 9:41-57

LANGGUTH, A . ; TEIXEIRA, D.M. ; MITTERMEIER, R..A & BONVICINO, C. 1987. The red-handed howler monkey in Northeastern Brazil. **Primate conservation** 8: 36-39.

MAC FARLAND. (1985) **Vertebrate Life.** 2^a ed. New York, Macmillan Publishing Company, 636p.

- MARLER, P. (1968) Aggregation and dispersion: two functions in primates communication. In : Primates: Studies en Adaptation and Varaability. P. Jay ed. Holt, Rinehartn& Winston. New York. 420-438.
- MENDES,S.L. (1989) Estudo Ecológico de *Alouatta fusca* (Primates: Cebidae) na Estação Ecológica de Caratinga -MG.**Revista Nordestina de Biologia**. 6:71-104.
- MICHAEL, R.P.& KAVERNE, E.B. Pheromones in communication of Sexual Status in Primates. (1968). **Nature**. (218) 746-749.
- MILTON, K. (1975) Urine-Rubbing Behatvior in the mantled Howler Monkey *Alouatta palliata*. New York University, New York, N.Y. **Folia Primatol**. 23:105-112.
- MITTERMEIER, R. A. (1977). **A Global strategy for primate conservation**. Unpublished report to the Wordl Wildlife Fund, Washington, D.C.
- MITTERMEIER, R. A. & COIMBRA-FILHO, A. F. (1981). Systematics: species and subspecies. In: **Ecology and behavior of Neotropical Primates**. Vol.1. A . F. Coimbra-Filho & R. A . Mittermeier (eds). Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro. pp. 29-109.
- MYKYTOWYCZ, R. (1970) The role of skin glands in mammalian communication; in Johnston, Moulton and Turk .**Communication by chemical signals**, pp. 327-360 Cappleton Century Crofts, New York.

- NEVILLE, M K. (1972) The Population Structure of Red Howler Monkeys (*Alouatta seniculus*) in Trinidad and Venezuela. **Folia Primatologica** 17: 56-86.
- NEVILLE, M. K.; GLANDER, K.E.; BRAZA, F. E RYLANDS, A.B. (1988) The howling monkeys, genus *Alouatta*. In: MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B.; COIMBRA-FILHO, A.F. e FONSECA, G.A.B. (eds) **Ecology and Behavior of Neotropical Primates**. V.2. World Wildlife Fund, Washington, D.C. 349-453.
- ORWOLL, E.S. (1996) Androgens as Anabólic Agents for Bone. **Elsevier**. 7:(3): 77-84.
- OWEN, I & SHORT, R (1995). Hormonal basis of sexual dimorphism in birds; implications for new theories of sexual selection. **Trends in Ecology & Evolution**. 10:4-47
- PETTER, J. J. (1965) **The lemurs of Madagascar**; IN: Devore Primates, pp. 292-321 (Holt, Rinehart & Winston, New York.
- QUEVEDO Jr., W. C. (1969) The control of color in mammals. **Am. Zoologist**. 9:531-540.
- RALLS, K. (1971). Mammalian scentmarking. **Science**. 171:443 – 449.
- REGAN, B. C.; JULLIOT, C.; SIMMEN, B.; VIÉNOT, F.; CHARLES-DOMINIQUE, P.; MOLLON, J. D. (1998) Frugivory and color vision in *Alouatta seniculus*, a trichromatic platyrrhine monkey. **Vision Research**. 38: 3321-3327.

- REGAN, B. C.; JULLIOT, C.; SIMMEN, B.; VIÉNOT, F.; CHARLES-DOMINIQUE, P.; MOLLON, J. D.(2000) Fruit, foliage and the evolution of primate colour vision. **Phil trans. R. Soc. Lond. B.** 356: 229-233.
- REYNOLDS, S. E. (1963) The use of lead citrate at high ph as an eletron apague stain in eletron microscopy. **J. Cell. Biol..** 17:208.
- RHODES, G.; CHAN, J.; ZEBROWITZ, L.A & SIMMONS, L. (2003) Does sexual dimorphism in human faces signal health? **The Royal Socity Biology Letters.** (Suppl.) 270, s93-s95.
- RYLANDS, A.B.; SCHNEIDER,H.; LANGGUTH.A.; MITTERMEIER, R.A.; GROVES,C.P.(2000). An Assessment of the Diversity of New World primates. **Neotropical Primates** .8(2):61-91.
- SANTINI M. E. L. (1985) Padrões de Atividade Diária de *Alouatta caraya* (Primates, Cebidae), Reintroduzido no Parque Nacional de Brasília. **A Primatologia no Brasil – 2. 2º Congresso Brasileiro de Primatologia, Campinas.**
- SCHILLING, A & PERRET, M. (1987) Chemical signals and reproductive capacity in a male prosimian primate (*Microcebus murinus*) **Chem. Senses** 12:143 - 158.
- SCHLICHTTE, H. J. (1978) A preliminary report on the habitat utilization of a group of howler monkey (*Alouatta villosa pigra*) in the Natinal park of Tikal, Guatemala. In: **The Ecology of Arboreal Folivores**, G.G.

Montgomery (ed.) Smithsonian Institution Press, Washington, D. C. 552
- 559.

SEITZ, E. (1969) Die Bedeutung geruchlicher Orientierung beim Pluonon
Nycticebus coucang. Boddaert 1785 (Prosimii, Lorisidae). **Z.
Fisiophysiol.** 26:73-103

SEKULIC, R. & EISENBERG, J.F. (1983) Throat rubbing in red Howler
monkey (*Alouatta seniculus*). In **Chemical signals in vertebrates**, 3.
DIETLAND MÜLLER-SCHWARZE & ROBERT M. SILVERSTEIN (eds).
Plenum press, New York. p. 347-350.

SETCHELL, J. M. & DIXSON, A. F. (2001a). Changes in secondary sexual
adornments of male Mandrills (*Mandrillus sphinx*). Are associated with
gain and loss of alpha status. **Hormones and Behavior** . 39:177-184

SETCHELL, J. M. & DIXSON, A. F. (2001b). Circannual change in the
secondary sexual adornments of semifree- ranging male and female
Mandrills (Mandrillus Sphinx). **American Journal Primatology** 53:
109-121

SETZ, E. Z. F. & GASPAR, D. A. (1997) Scent - marking in free - ranging
golden - faced saki monkeys, *Pithecia pithecia chryscephala*: sex
differences and context. **Journal of Zoology London**. 23:(241):603-
611.

SEYFARTH, R. M. (1977) A model of social grooming among adult female
monkeys. **Journal of Ethology**. 10:20-25

- SHIBATA, T.; PROTA, C. & MISHIMA, Y. (1993) Non Melanosomal regulatory faton in melanogeneses. **J. Invest. Dermatol.** 100: 274-280
- SILVA, J. R. (1981) A preliminary survey of brown howler monkeys (*Alouatta fusca*) at the Cantareira Reerve (São Paulo, Brazil). **Rev. Bras. Biol.** 41(4):897-909.
- SUMMER, P. & MOLLON, J. D. (2000) Catarrhine phetopigments are optimized for detecting targets against a foliage background. **Journal of experimental biology.** 203:(13): 1963-1986.
- TUNQUIST, J. E & HONG, N. (1995) Funcional morphology. In: **Nonhumam primates in biomedical research: biology and manegment.** BENNETT, T. B.;ABEE, C. R.; HERNRICKSON, ROY(eds Academic Press.49-75.
- WAIT, C.; LITTLE, C.; WOLFENSOHN, S.; HONESS, P.; BROWN, A.P.; BUCHNAN-SMITH, H.M. & PERRETT, D.I. (2003) Evidence from rhesus macaques suggests that male coloration plays a role in female primate mate choice. **Proc Royal Society Biology.** (suppl.) s1- s3.
- WALRAVEN, V. & VAN ELSACKER, L. (1992) Scent - marking in New World Primates: a functional review. **Acta Zool. Pathol. Antuerp** 82:51-59.
- WATSON, M. L. (1998) Staining of tissues sections for electron microscopy with heavy metals. **J. Biophys. Biochem. Cytol.** 4:475-477.
- YOUNG.P.O.(1982). Tree-rubbing behaviour of a solitary male Howler Monkey. **Primates.**23(2): 303-306.