



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



Análise histológica da ovogênese de saguis híbridos *Callithrix sp.*

ANA LUIZA SCIANDRETTI DE ALBUQUERQUE

Ouro Preto - MG

2019

ANA LUIZA SCIANDRETTI DE ALBUQUERQUE

Análise histológica da ovogênese de saguis híbridos *Callithrix sp.*

Monografia apresentada à Universidade Federal de Ouro Preto como requisito da disciplina Seminários de Pesquisa e Monografia II (CBI261) para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Ouro Preto.

Área de concentração: Ciências Biológicas

Orientadora: Dra. Katiane Oliveira Pinto
Coelho Nogueira

Ouro Preto, MG

2019



Ata da Banca Examinadora de Defesa de Monografia Intitulada:

"Análise histológica da ovôgenese de saguis híbridos *Callithrix sp.*"

Aos 09 dias do mês de julho de 2019, as 13:30, no sala de seminários do Departamento de Ciências Biológicas do ICEB, reuniu-se a Comissão examinadora da Monografia da aluna Ana Luiza Sciandretti de Albuquerque. A defesa pública de monografia iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, argüição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e declararam a candidata aprovada, com a nota 9,0.

Membros da Banca Examinadora

Prof. Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira
Orientadora (Dep. Ciências Biológicas-UFOP)

Ms. Lara Mariana Lellis
Examinadora (NUPEB-UFOP)

Prof. Dra. Maria Rita Silvério Pires
Examinadora (DEBIO/UFOP)

DEDICATÓRIA

Existem pessoas que passam pelas nossas vidas e deixam grandes marcas de alegria e amor, a elas dedico este trabalho como uma forma de agradecimento por caminharem comigo durante estes quatro anos de luta e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Á minha mãezinha linda, a mulher mais guerreira que eu já conheci, minha super-heroína favorita, quem sempre me colocou em primeiro lugar e agora cuida de mim como meu anjo da guarda.

Á minha orientadora Prof. Dra. Katiane O. P. C. Nogueira pelos ensinamentos, paciência, acolhida, dedicação e oportunidade. Á equipe do Laboratório de Biomateriais e Patologia Experimental pelo companheirismo, troca de conhecimento e amizade.

Aos meus queridos padrinhos Pedro e Marcia por todo incentivo, carinho e compaixão, me faltam palavras para expressar o quanto eu sou grata a vocês dois!

Aos meus irmãos amados, em especial ao Gilberto, meu irmãozinho, que sempre me faz sorrir. Ás minhas irmãs do coração Ellen, Dodora, Marcela e Thais por todo apoio e carinho.

Ás minhas vovós Leila, Dita, Nedir e Gessy (*in memoriam*) pelos melhores colos e cafunes. Aos meus tios e tias, em especial Tio Dé e Tia Lu, vocês são como segundos pais para mim, amo muito vocês! Aos meus primos, Rique, Carol, Ana Claudia, Dudu, Dudu Cirino, Lívia, Camila, Duda, Manu, Tali, Luísa, Osmar e Matheus por toda diversão.

Aos anjinhos mais fofos do mundo, Joãozinho, Artur, Marco Antônio e Clara, os sorrisos de vocês são os melhores, é uma benção para mim poder ver eles enquanto assisto vocês crescerem fortes e saudáveis. DOMINEM O MUNDO!!

Ao meu lindo Baby pelos melhores lambeijos que eu já recebi.

Ao meu melhor amigo José Victor, o ser humano mais iluminado que existe, não teria chegado aqui sem a sua ajuda! Á Natalie, por me dar um porto seguro sempre que eu precisei. Á Malu e ao Telo pelos melhores conselhos.

Á biogal 15.2, em especial, Breno, Bele, Maju, Lara, Rafa, Rufião, Bebel e Paulo pela amizade, vocês são os melhores presentes que a biologia me deu! Á estrela mais brilhante do céu, Thaís, que ilumina meus passos.

Ás amigas intercambistas Sandra e Mônica por me mostrarem como é rico o país de vocês e por me darem tanto carinho e amor.

E por fim, à eterna Fogo de Palha, lar de mulheres fortes e maravilhosas, as quais eu tenho a honra de chamar de minha família ouro-pretana, principalmente, Magda, Memory, Prê, Turista e +VC. Obrigada por me ajudarem a crescer e me tornar uma mulher melhor todos os dias.

“Na vida não há nada a se temer, mas a se entender” – Marie Curie

RESUMO

O conhecimento acerca da morfologia do aparelho reprodutor de fêmeas nos permite compreender o hábito e comportamento reprodutivo das mesmas, contribuindo para a área de conservação e manejo animal. Estudos sobre a morfologia de primatas, sobretudo, saguis exóticos, são escassos e o esclarecimento a respeito dos aspectos estruturais do trato reprodutor torna-se de suma importância para traçar paralelos fidedignos. *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata* são importantes exemplos brasileiros de vertebrados introduzidos. Apesar de serem nativos do Brasil, estes primatas são exóticos em vários estados da Federação. Ambas espécies possuem a mais ampla distribuição geográfica do gênero e têm sido introduzidos em diversos ambientes naturais e antrópicos. As consequências de introduções de espécies exóticas são consideradas potencialmente sérias pois, ameaçam a sobrevivência das espécies nativas. No município de Viçosa, três espécies de saguis foram introduzidas e tem se reproduzido gerando descendentes com padrões intermediários entre elas. O presente trabalho averiguou as relações entre morfologia e a fertilidade de fêmeas híbridas demonstrando que as mesmas apresentavam características claras de ciclicidade ovariana com diferenças no padrão da fase proliferativa do ciclo entre as estações chuvosa e seca, no entanto apresentando cópulas férteis durante todo o ano.

Palavras-chave: *Callithrix sp.*, fêmeas, ovários, ovogênese.

ABSTRACT

Knowledge about the morphology of the reproductive tract of females allows us to understand the habit and reproductive behavior of females, contributing to the area of animal conservation and management. Studies on the morphology of primates, especially exotic marmosets, are scarce and clarification regarding the structural aspects of the reproductive tract becomes of paramount importance in drawing reliable parallels. *Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata* are important examples of introduced vertebrates. Although they are native to Brazil, these primates are exotic in several states of the Federation. Both species possess the widest geographic distribution of the genus and were introduced in diverse natural and anthropic environments. The consequences of introductions of exotic species are considered to be potentially serious as they threaten the survival of native species. In the municipality of Viçosa, three species of marmosets were introduced and reproduced, generating offspring with intermediate patterns between them. This work investigated the relationships between morphology and the fertility of hybrid females demonstrating that they presented clear characteristics of ovarian cyclicity with differences in the pattern of the proliferative phase of the cycle between rainy and dry seasons, however presenting fertile copulations throughout the year.

Key words: *Callithrix sp.*, females, ovaries, oogenesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espécies brasileiras do gênero <i>Callithrix</i>	11
Figura 2 - Mapa da distribuição natural dos animais do gênero <i>Callithrix</i>	12
Figura 3 - Mapa da distribuição atual das espécies <i>C. penicillata</i> , <i>C. geoffroyi</i> , <i>C. aurita</i> , <i>C. jacchus</i> e <i>C. flaviceps</i> no estado de Minas Gerais	13
Figura 4 - Cladograma das espécies brasileiras do gênero <i>Callithrix</i>	14
Figura 5 - Sistema reprodutor feminino de primatas – parte interna.....	15
Figura 6 – Mapa da Universidade Federal de Viçosa (UFV) com as áreas de estudo.....	20
Figura 7 - Glândulas temporárias presentes nos ovários das fêmeas híbridas coletadas nas estações seca e chuvosa.....	22
Figura 8 – Cariótipo das espécies do gênero <i>Callitrix</i>	23
Figura 9 - Híbridos de <i>C. geoffroyi</i> X <i>C. penicillata</i> , encontrados em um dos fragmentos de floresta urbana da UFV.....	25

Sumário

1 INTRODUÇÃO	10
2 HIPOTESE	17
3 JUSTIFICATIVA	18
4 OBJETIVOS	19
4.1 Objetivos gerais	19
4.2 Objetivos específicos	19
5 MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1 Coleta e eutanásia dos espécimes	20
5.2 Preparo e processamento histológico	20
5.3 Análise e fotografia das lâminas	21
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
7 CONCLUSÃO	27
8 REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se caracteriza pela considerável variedade de ecossistemas silvestres e conta com a maior diversidade de primatas do planeta (RYLANDS; MITTERMEIER; RODRÍGUEZ-LUNA, 1995; RYLANDS, 2000). Desta variedade, podemos citar os primatas do gênero *Callithrix*, um dos principais exemplos de primatas do novo mundo (PNM) ou neotropicais (AURICCHIO, 2011), os quais estão distribuídos por quase todos os biomas do Brasil, com exceção da Amazônia, do Pantanal e dos Pampas (MALUKIEWICZ, 2019).

Os animais do gênero *Callithrix* Exrleben 1777 são popularmente conhecidos como “micos” ou “saguís”, vivem em grupos que contém, normalmente, um único casal reprodutor e monogâmico (GUIMARÃES, 2007). O tamanho dos grupos pode variar entre 3 e 15 indivíduos, que tem hábitos territorialistas e por isso costumam usar as mesmas áreas de alimentação (DIGBY e BARRETO, 1993). Este gênero é formado por seis espécies: *C. jacchus*, *C. penicillata*, *C. kuhlii*, *C. geoffroyi*, *C. aurita* e *C. flaviceps* (RYLANDS *et al.*, 2009) e possuem características fenotípicas distintas que podem ser observadas na Figura 1. Embora estes animais sejam todos nativos da região sub-amazônica do Brasil, cada espécie possui seu habitat natural bem definido (MALUKIEWICZ, 2019).

O sagui-de-tufos-pretos ou mico estrela (*C. penicillata*) possui uma distribuição original no cerrado brasileiro (RYLANDS *et al.*, 1993) (Figura 2). O sagui-de-cara-branca (*C. geoffroyi*) originalmente ocorre no estado do Espírito Santo, Minas Gerais e Sul da Bahia, tendo desta forma como habitat natural bioma da Mata Atlântica (RYLANDS *et al.*, 1993) (Figura 2). O sagui-da-serra-escuro (*C. aurita*) é endêmico da porção sul da Mata Atlântica na região Sudeste do Brasil (RYLANDS *et al.*, 2009) (Figura 2). O sagui-de-tufos-brancos ou sagui comum (*C. jacchus*) é nativo da região Nordeste e extremo norte da região sudeste, onde o bioma dominante é a Caatinga, podendo haver formação de ecótonos com os biomas da Mata Atlântica e Cerrado (RYLANDS *et al.*, 1993) (Figura 2). O sagui-da-serra-claro (*C. flaviceps*) é original das regiões de maior altitude das florestas de Mata Atlântica do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (RYLANDS *et al.*, 2009) (Figura 2). Já o sagui-de-wied (*C. kuhlii*) é nativo da das regiões do sul da Bahia e na porção mais a nordeste de Minas Gerais, habitando a porção norte da Mata Atlântica (RYLANDS *et al.*, 1993) (Figura 2).

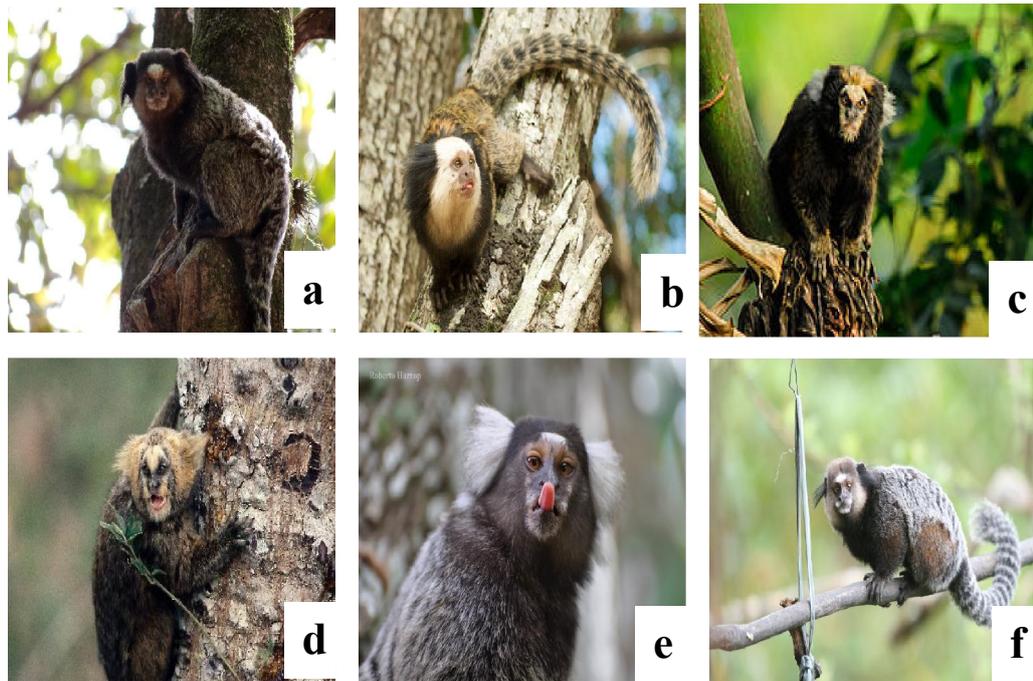


Figura 1: Gênero *Callithrix*; a) Espécie: *Callithrix penicillata*, Nome popular: sagui-de-tufos-preto; b) Espécie: *Callithrix geoffroyi*, Nome popular: sagui-de-cara-branca; c) Espécie: *Callithrix aurita*, Nome popular: Sagui-da-serra-escuro; d) Espécie: *Callithrix flaviceps*, Nome popular: Sagui-da-serra-claro; e) Espécie: *Callithrix jacchus*, Nome popular: Sagui comum; f) Espécie: *Callithrix kuhlii*, Nome popular: Sagui-de-wied.

Apesar destes animais estarem inseridos na fauna brasileira nativa, eles representam exemplos de vertebrados que ao serem introduzidos em um novo habitat se tornaram espécies invasoras (MORAES JR., 2010), ao estarem fora da sua área de distribuição natural, se tornaram uma ameaça às espécies nativas e ao ecossistema da região pois possuem um alto grau de adaptação e baixo nicho ecológico.

Em Minas Gerais há quatro espécies nativas de saguis (*C. aurita*, *C. flaviceps*, *C. kuhlii* e *C. geoffroyi*), sendo que três dessas espécies se encontram em algum grau de ameaça de acordo com a IUCN: *C. aurita*, *C. kuhlii* e *C. flaviceps* (RYLANDS *et al.*, 1993, DETOGNE *et al.*, 2017). Outras duas espécies de *Callithrix* foram introduzidas em diversas áreas da Mata Atlântica, onde estão hibridizando com espécies locais ou ainda ocupando o lugar das mesmas, como é o caso do *C. jacchus* e *C. penicillata* (COIMBRA-FILHO *et al.*, 1993). Essas espécies foram introduzidas no Sudeste pelo homem, que vem diminuindo o isolamento geográfico natural e transportando diversas espécies, criando zonas de simpatria artificiais, muitas vezes oriunda da venda ilegal de filhotes retirados da mata, os quais são mantidos como pets e, posteriormente, liberados ou fogem para fragmentos de florestas urbanas (MALUKIEWICZ, 2019).

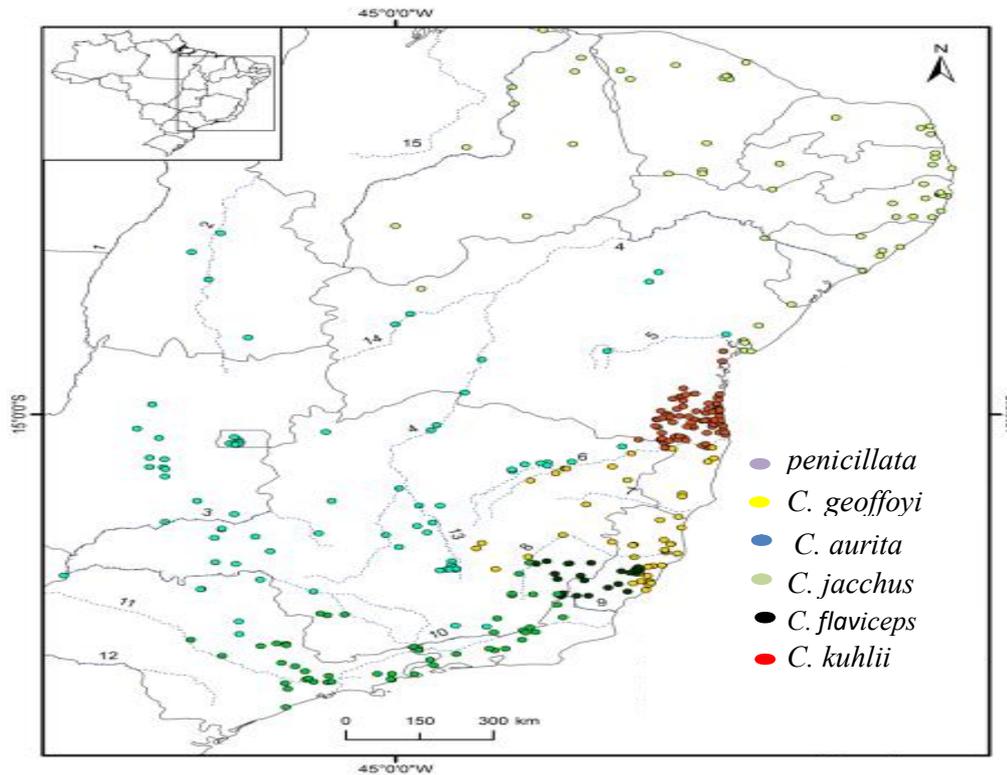


Figura 2: Mapa da distribuição natural dos animais do gênero *Callithrix*. **Fonte:** Distribuição Geográfica e Modelagem de Habitat das Espécies do Gênero *Callithrix*(Primates, Callitrichidae), Bertha Nicolaevsky, 2011.

Atualmente, *C. penicillata* possui uma ampla distribuição, ocorrendo nas regiões de cerrado do centro-leste do Brasil, nos estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, Piauí, Maranhão, norte de São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro e no Sul do país. Já os *C. jacchus*, por sua vez, é encontrado na Caatinga e regiões de Cerrado nos estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro e também no Sul do país. São espécies generalistas, com alto potencial dispersor, reprodutor e de hibridização, caracterizando-se como espécies invasoras o que pode acarretar a redução e até mesmo a extinção de saguis nativos. Estas duas espécies configuram dois dos principais exemplos de primatas PNM nativos de um país que se tornaram espécies invasoras, após a ocorrência de realocações indevidas de espécimes (ELTON, 1958; WILLIAMSON, 1999; MORAES JR., 2010).

Minas Gerais está localizada na faixa natural de *C. aurita*, embora avistamentos dessa espécie sejam raros nessa área (MALUKIEWICZ, 2019), porém desde a década de 1990 há relatos de avistamentos das espécies exóticas *C. geoffroyi*, *C. penicillata* e *C. jacchus* dentro dos limites e ao entorno do campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), conforme indicado na figura 3. Essas espécies têm se reproduzido interespecificamente e gerado descendentes com padrões fenotípicos intermediários, tal fator se deve a mistura dos

diferentes materiais genéticos, semelhantes a *C. geoffroyi*, ou semelhantes a *C. penicillata*, sugerindo que um "swarm" híbrido tenha se formado. (MALUKIEWICZ, 2019).

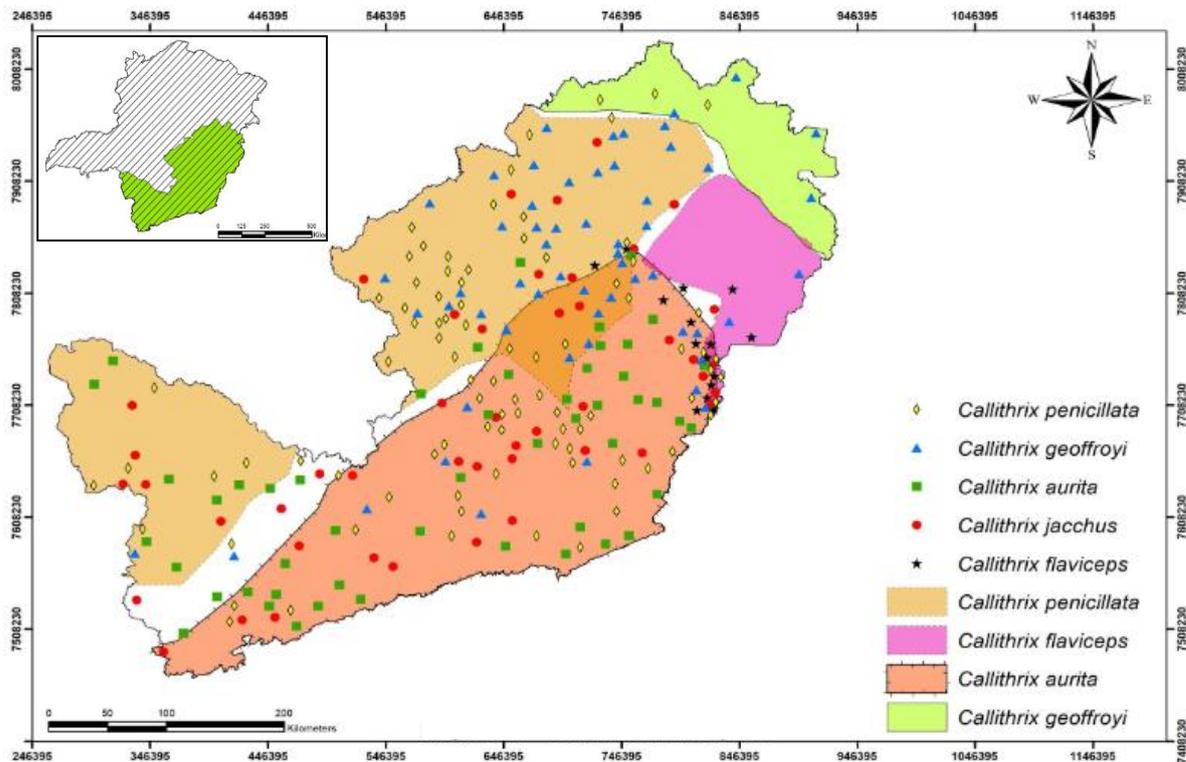


Figura 3: Mapa da distribuição atual das espécies *C. penicillata*, *C. geoffroyi*, *C. aurita*, *C. jacchus* e *C. flaviceps* no estado de Minas Gerais. **Fonte:** A Survey of Wild and Introduced Marmosets (*Callithrix*: Callitrichidae) in the Southern and Eastern Portions of the State of Minas Gerais, Brazil – Fernanda Silva et al. 2018.

A hibridização é o processo que configura a reprodução interespecífica entre grupos animais, e que pode ser distinguida em duas categorias: natural e antropomórfica (RODRI, 2017; MALUKIEWICZ, 2019). A hibridização natural é um dos fatores responsáveis pela variabilidade genética existentes nas espécies vivas (MALUKIEWICZ *et al.*, 2014) quando há contato secundário das espécies em áreas de ecótonos. Já a hibridização antropomórfica, a qual não se limita a uma região específica. Nesse caso há também a formação do fenômeno “swarms”, que são populações com muita variabilidade, nas quais a genética consiste em um produto subsequente da segregação gênica, recombinação e cruzamentos entre híbridos, que ficam em oposição aos parentais. Dentre estes dois métodos de hibridização, o que mais agrava a conservação das espécies nativas é a antropomórfica, uma vez que a sua falta de controle causa uma maior homogeneização gênica na comunidade afetada, levando a eliminação da filogenia de espécies como o *C. aurita* (THOMAS BOHN, 2007). É importante ressaltar que, diferente dos primatas do velho mundo (PVM) que possuem cerca de vinte e

seis de suas duzentas e trinta e três espécies sofrendo algum processo de hibridização, os primatas do grupo PNM não são conhecidos por passarem por processos de hibridização natural facilmente, apenas oito das cento e trinta e duas espécies conhecidas acasalam entre si e geram híbridos (GARCI e RODRI, 2007).

A produção de híbridos férteis em *Callithrix* deve-se a sua grande similaridade genética (figura 4) e baixa diferenciação pré-zigótica entre as espécies (BRAZ et al, 2018), isso ocorre devido a recente dispersão evolutiva das espécies deste gênero, que se deu a aproximadamente 5,6 milhões de anos, não garantindo um isolamento reprodutivo completo (MALUKIEWICZ, 2019). Estudos de Malukiewicz (2019) mostram que híbridos de *C. aurita* X *C. jachhus*, geralmente, possuem o cromossomo Y de *C. aurita* e os halótipos mitocondriais de *C. jachhus*, o que geraria um padrão fenotípico intermediário. Apesar de representarem uma grande ameaça à conservação das espécies nativas de saguis, Buckner et al. (2015) observou que apenas os híbridos de espécies com filogenia extremamente próxima são uma ameaça, uma vez que possuem alto fitness e taxa de sobrevivência, os demais híbridos apresentam uma elevada taxa de mortalidade no primeiro ano de vida, fazendo com que não sejam um agravante às populações nativas. O “swarm” encontrado na UFV é composto por híbridos *C. penicillata* X *C. jachhus*, os quais devido à proximidade filogenética dos parentais possuem alta taxa de sobrevivência, se tornando uma espécie invasora e um agravante para a conservação da espécie de sagui nativa, o sagui-da-serra-escuro (*C. aurita*).

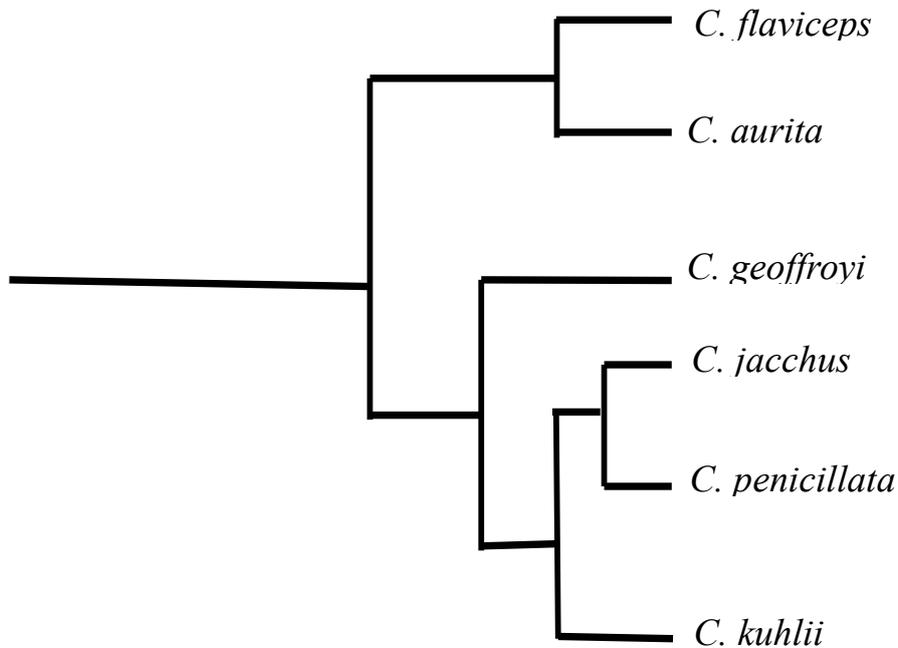


Figura 4: Cladograma das espécies brasileiras do gênero *Callithrix*. **Fonte:** Malukiewicz, 2019 com modificações.

Em vista de todos os problemas que a produção de híbridos férteis causa ao ambiente, o conhecimento da morfologia e a histologia do trato reprodutivo das fêmeas é essencial para que se possa entender os hábitos e o comportamento reprodutivo das espécies, contribuindo para a construção de áreas de conservação e manejo animal (LEAL e FRANÇA, 2005). Contudo, estudos sobre a morfologia de primatas, sobretudo, saguis exóticos, são escassos e o esclarecimento a respeito dos aspectos estruturais do trato reprodutor tornam-se de suma importância para traçar paralelos fidedignos e que de fato ajudem na criação de planos de manejo para garantir a conservação e manutenção das espécies nativas.

O trato reprodutor feminino dos saguis é semelhante ao apresentado por espécimes do grupo PVM, incluindo o ser humano (CUI e MATHEUS, 1994). Ele é constituído por vulva, vagina, útero, tubas uterinas e ovários (CUI e MATHEUS, 1994) (Figura 5). Os ovários dos saguis, assim como nos humanos, são as gônadas femininas, sendo responsáveis pela ovogênese e pela produção dos hormônios estrógeno e progesterona (GARCIA e FERNANDÉZ, 2011). Estes sofrem alterações cíclicas conforme o estágio do ciclo ovariano (GARCIA e FERNANDÉZ, 2011).

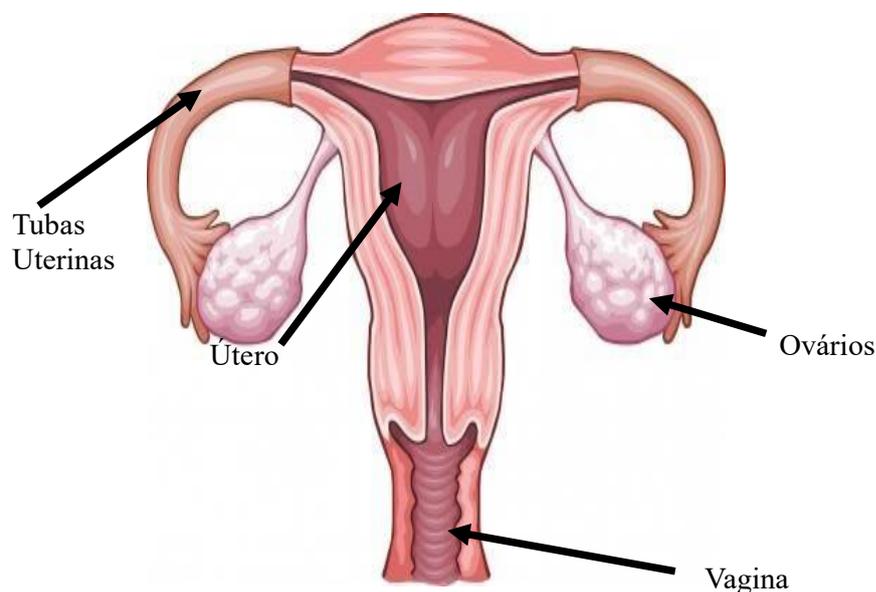


Figura 5: Sistema reprodutor feminino de primatas – parte interna. **Fonte:** Cui e Matheus, 1994; Louredo, 2019 com modificações

O ciclo ovariano é uma das grandes diferenças entre os dois grandes grupos de primatas, os PVM realizam apenas o ciclo menstrual, no qual o sangramento indica que a

fêmea não está mais no período fértil (GUIMARÃES, 2007), já os PNM podem realizar tanto o ciclo menstrual, como é o caso do macaco-prego (*Sapajus libidinosus*), quanto o ciclo estral, no qual o sangramento indica a fertilidade da fêmea (GUIMARÃES, 2007). Tal ciclo é subdividido em cinco estágios: Pró-estro, é o início do ciclo e caracteriza-se pelo crescimento folicular e hipertrofia do endométrio; Estro, período do ciclo onde há maturidade dos folículos, pico de produção e secreção de estrógeno, liberação do hormônio luteinizante (LH) e ocorrência da ovulação; Metaestro, fase do ciclo que é prolongada caso a fêmea engravide, caracteriza-se pela produção máxima de progesterona e pela transformação do folículo ovariano em corpo lúteo; Diestro, ocorre apenas quando não há fecundação, neste caso o corpo lúteo será transformado em corpo albicans; Anestro: é o período estacionário do ciclo que antecede o próximo pró-estro. (GARCIA e FERNANDÉZ,2011).

No ciclo estral dos saguis é visto que há possibilidade de cópula durante todos os períodos do ciclo, podendo haver copula fértil durante os período pós-parto ou lactação tal fator facilitaria a produção de híbridos (GUIMARÃES, 2007). O ciclo ovariano gera um enorme gasto energético e, por este motivo, apesar de existência de possíveis cópulas férteis durante todo o tempo do ciclo, a gravidez é condicionada a questões ambientais, tais como a disponibilidade de alimentos e clima da região (BERCOVITCH *et al.*, 1987; KOENIG *et al.*, 1997; STRIER e ZIEGLER, 1994; TAKAHASHI, 2002; ZIEGLER e HODGES & WINKLER, 2000). Os fatores condicionantes do ciclo estral estão relacionados a sazonalidade, uma vez que a disponibilidade de alimento e o clima variam nas estações seca e chuvosa, e uma vez que as saguis fêmeas são receptivas aos machos durante todo o ano, inclusive nos períodos pós-parto e lactação (GARCIA & FERNANDÉZ, 2011),

Tendo em vista que a sazonalidade pode ser um fator condicionante do ciclo estral, uma vez que a disponibilidade de alimento e o clima variam nas estações seca e chuvosa, o presente trabalho visa descrever morfológicamente os ovários de saguis *Callithrix* sp. híbridos capturados nos fragmentos de floresta urbana da UFV, e relacionar a morfologia aos processos reprodutivos desses animais híbridos.

2 HIPÓTESE

Segundo a literatura, as fêmeas de sagui (*Callithrix sp.*) se reproduzem apenas na estação chuvosa, onde há uma maior abundância de alimentos indispensáveis para a manutenção da gestação e somente a fêmea dominante é capaz de engravidar, suprimindo o ciclo ovariano das demais fêmeas. Com base nisto o presente trabalho apresenta as seguintes hipóteses: A sazonalidade interfere no padrão reprodutivo das fêmeas híbridas? E em grupos com fêmeas híbridas também ocorre a supressão do ciclo ovariano das fêmeas subordinadas?

3 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho traz novas abordagens a respeito do conhecimento dos padrões reprodutivos dos híbridos de *Callithrix sp.*, e sobre como eles influenciam seu ambiente e as espécies ao seu redor, em destaque a espécie nativa da região do município de Viçosa -Minas Gerais, *Callithrix aurita*.

Ao se conhecer o padrão reprodutivo das espécies é possível compreender os padrões de socialização destes animais e como tal padrão afeta no sucesso reprodutivo do bando híbrido frente à possível supressão do comportamento sexual das fêmeas híbridas subordinadas. Sendo que tal sucesso pode interferir na conservação da espécie nativa, uma vez que a existência dos híbridos gera sobreposição populacional, acarretando competição interespecífica entre as espécies, nativas e invasora, presentes na região.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Analisar e compreender os padrões reprodutivos de híbridos de *Callithrix sp.* durante as estações seca e chuvosa.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a morfologia dos ovários de saguis híbridos com ênfase na presença de folículos em crescimento e a presença de corpos lúteos.
- Analisar a interferência da sazonalidade na reprodução destes indivíduos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e eutanásia dos espécimes

Os animais utilizados no desenvolvimento do projeto foram coletados em fragmentos de mata urbana no entorno da Universidade Federal de Viçosa (Figura 6), por meio de armadilhas colocadas em locais conhecidos popularmente como Mata da Biologia e Mata da Reitoria durante as estações seca e chuvosa, entre os meses agosto de 2016 e fevereiro de 2017, sob licença nº 53584-1, emitida pelo SISBIO-ICMBIO-MMA.



Figura 6: Mapa da Universidade Federal de Viçosa com as áreas de estudo. Área 1: Mata da reitoria; Área 2: Mata da biologia. **Fonte:** Próprio autor.

Foram capturados oito espécimes de saguis híbridos adultos, sendo cinco fêmeas e três machos. Estes receberam um código para identificação composto pela letra “S” seguida de um numeral e foram encaminhados para eutanásia e posterior retirada dos ovários. A eutanásia foi realizada com uma alta dose do anestésico pentobarbital.

4.2 Preparo e processamento histológico

Os ovários das cinco fêmeas coletadas foram coletados e fixados em solução fixadora de Carlson (CARSON et al., 1973) por 24 horas. Após a fixação o material foi desidratado em

séries crescentes de alcoóis, começando pela imersão dos fragmentos em álcool 70% e terminando com a imersão em álcool absoluto. Em seguida, os órgãos foram infiltrados e incluídos em resina acrílica. Secções de 2 µm foram obtidas com o auxílio de um micrótomo semiautomático rotativo (EasyPath), cada lâmina recebeu oito secções de tecido, totalizando quarenta secções por bloco. Os cortes foram corados com Azul de Toluidina 1% e as lâminas montadas com Entellan®, ao final do processamento dos órgãos foram obtidas quarenta lâminas e duzentos cortes.

4.3 Análise e fotografia das lâminas

A observação e a análise das lâminas foram feitas por meio de um microscópio óptico Olympus CX31. A presença de corpos lúteos e folículos antrais foi aferida e em seguida as lâminas foram fotografadas com uma câmera digital (AmScope MU300) acoplada ao microscópio.

5 RESULTADOS

Os resultados das análises histológicas realizadas nos ovários de todas as fêmeas híbridas coletadas no entorno da Universidade Federal de Viçosa mostraram que em ambas as estações, haviam folículos em diversas fases do desenvolvimento, caracterizando a ovogênese ativa e, conseqüentemente, o potencial reprodutivo dessas fêmeas. Isso pode ser evidenciado pela observação dos corpos lúteos nos ovários indicando que a regulação hormonal do ciclo estral, assim como a ovulação tem ocorrido nas fêmeas estudadas. Apesar de terem sido observados corpos lúteos durante o decorrer do ano, na estação chuvosa foi observado uma predominância dessas glândulas endócrinas temporárias (Figura 7A), indicando que variações sazonais podem influenciar o ciclo reprodutivo desses animais, tais como disponibilidade de alimento e temperatura (BERCOVITCH, 1987; KOENIG *et al*, 1997; STRIER E ZIEGLER, 1994; ZIEGLER *et al*, 2000; TAKAHASHI, 2002).

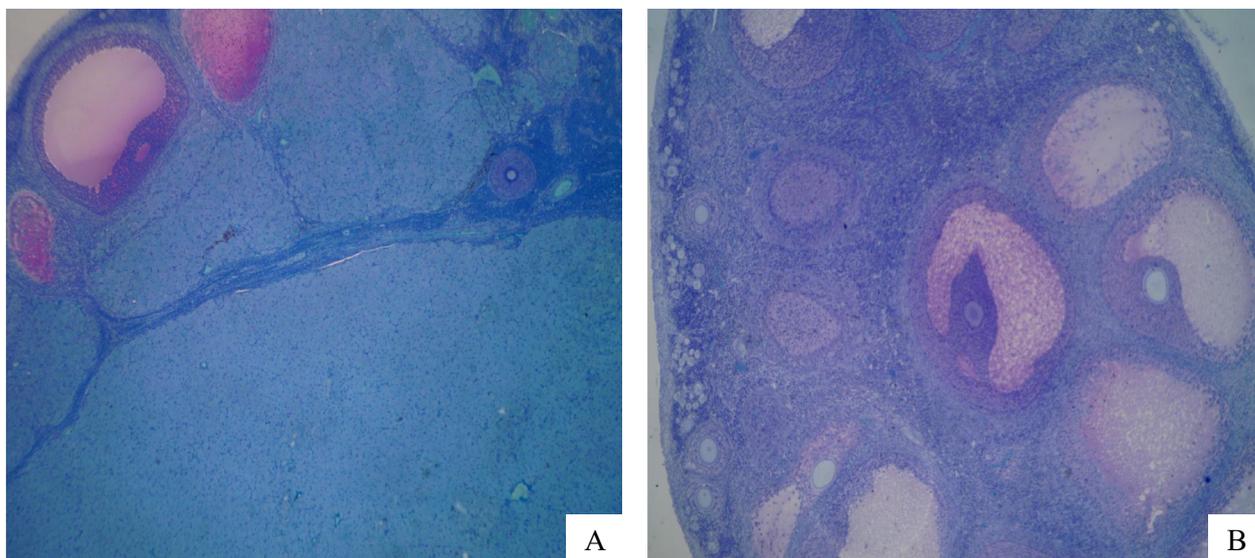


Figura 7: Corpos lúteos e folículos antrais presentes nos ovários das fêmeas híbridas coletadas nas estações seca e chuvosa. **A)** Corpos lúteos presentes no ovário de uma sagui capturada na estação chuvosa. **B)** Folículos antrais encontrados no ovário de uma fêmea capturada na estação seca. Aumento de 10X. **Fonte:** Próprio autor

6 DISCUSSÃO

O gênero *Callithrix* é muito homogêneo, a maioria das espécies tem o genótipo $2n = 46$ (Figura 8), se diferenciando apenas quanto a morfologia do cromossomo Y e o padrão da região organizadora do nucléolo (NAGAMACHI e FERRARI, ARDITO *et al.*, 1987; NOGUEIRA, 2011). Tal grau de similaridade gênica dá aos animais deste gênero a habilidade de ser reproduzir interespecificamente produzindo descendência fértil com fenótipos intermediários (FUZESSY *et al.*, 2014).

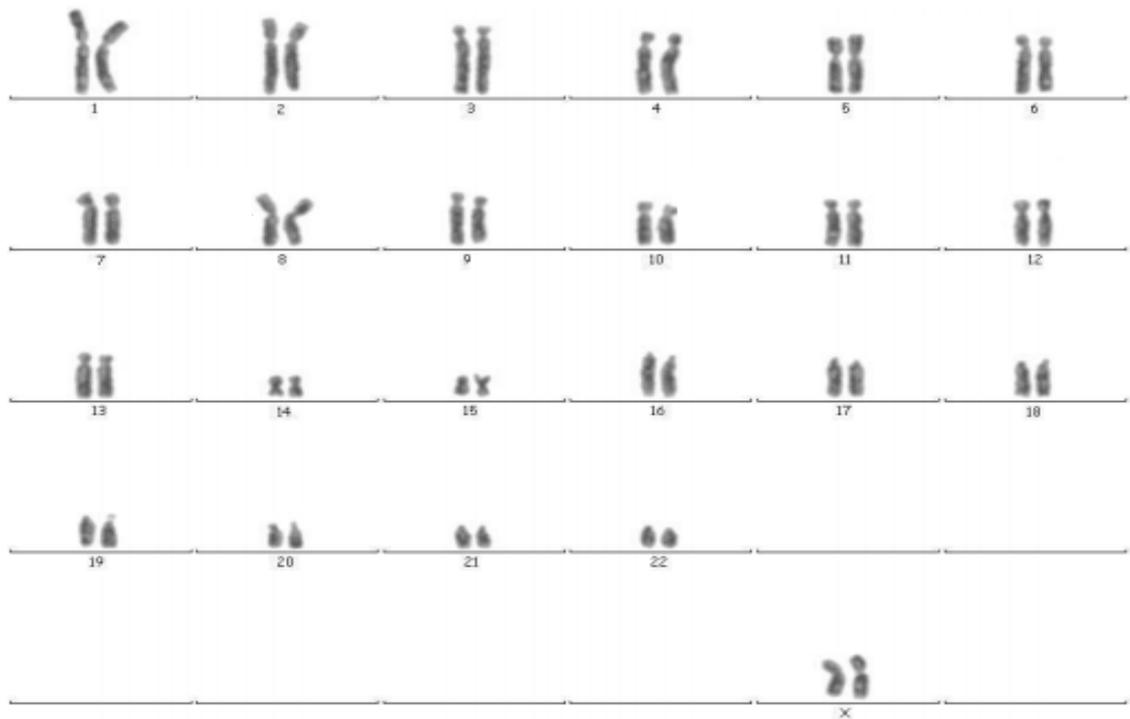


Figura 8: Cariótipo das espécies do gênero *Callithrix*, $2n= 46$. Cariótipo pertencente a um espécime fêmea. Fonte: Evolução Cromossômica: Estudo da variabilidade cariótica em *Platyrrhini* e das homeologias e sintenias com cromossomos humanos - Cristiani Iughetti. 2008. Com alterações

O custo energético do ciclo reprodutivo das fêmeas é elevado devido às gestações gemelares e ao período de lactação, pois estes processos representam uma grande perda de cálcio para as fêmeas de calitriquídeos (GABER, 1984). Na estação chuvosa os saguis se alimentam predominantemente de insetos e outros pequenos animais (SILVA *et al.*, 2018), o que pode interferir diretamente na eficiência energética do ciclo estral e, conseqüentemente na produção de gametas destes animais e manutenção da gravidez (FEDIGAN e ROSE, 1995; BERCOVITCH, 1987; KOENIG *et al.*, 1997; STRIER e ZIEGLER, 1994; ZIEGLER *et al.*, 2000; TAKAHASHI, 2002; ANDERSON *et al.*, 2005). Deste modo, a predominância de

corpos lúteos nos ovários das fêmeas coletadas na estação chuvosa pode ser explicada pelo fato de que durante a estação seca, a dieta destes animais é basicamente feita de exsudatos vegetais, tais como goma, seiva e látex devido à escassez de outros alimentos. Apesar desta dieta oferecer uma ingestão calórica eficiente, a taxa proteica é baixa quando comparada a dieta destes animais no período chuvoso, a qual é composta por insetos, os quais são ricos em aminoácidos essenciais e minerais importantes (GABER e TEAFORD, 1986).

Além da disponibilidade de alimentos, outros fatores podem influenciar na reprodução dos primatas do gênero *Callithrix*. De acordo com Decanini e Macedo (2008), os animais de status social mais baixo possuem uma alimentação pobre em proteínas, pois consomem menos presa animal do que os de status maior. Outro fator que influencia no ciclo reprodutivo das fêmeas é a supressão social da reprodução. Saguis são animais sociais e seus grupos podem conter de três a quinze indivíduos, eles são liderados por um casal dominante e monogâmico (STEVENSON e RYLANDS, 1988; FERRARI e LOPES FERRARI, 1989; SMITH *et al.*, 2011), em que a fêmea dominante apresenta ciclo estral e inibe o ciclo ovariano das fêmeas subordinadas quando estas estão no mesmo grupo (CARLSON, 1997; GUIMARÃES, 2007; LI *et al.*, 2005). Torii *et al.* (1996) observou, por meio de análises laparoscópicas, que nenhuma fêmea subordinada possuía corpos lúteos ou folículos maduros em seus ovários. No entanto, diferente das observações de Torii e colaboradores, neste estudo foi verificado que todas as fêmeas híbridas apresentavam características claras de ciclicidade ovariana com diferenças no padrão da fase proliferativa do ciclo entre as estações chuvosa e seca. Portanto, com base nessas observações, constatadas a partir das análises histológicas, é possível propor duas hipóteses acerca do padrão reprodutivo das fêmeas híbridas: (1) as fêmeas coletadas não pertenciam ao mesmo grupo, apesar de terem sido capturadas no mesmo local; (2) um único grupo teria mais de uma fêmea reprodutora, neste caso a regra de uma fêmea dominante e reprodutora por grupo não se aplicaria às fêmeas híbridas.

O “swarm” encontrado na UFV possui híbridos *C. penicillata* X *C. jachhus* e *C. penicillata* X *C. geofroyi* (Figura 9), os quais devido à proximidade filogenética dos parentais possuem alta taxa de sobrevivência, se tornando uma espécie invasora e um agravante para a conservação da espécie de sagui nativa, *C. aurita*.

Com base nestes dados é possível inferir que para que haja copula fértil as fêmeas dependem apenas da disponibilidade de machos férteis e de uma alimentação adequada, favorecida pela a grande disponibilidade de alimento ao redor do campus da UFV.

. Atualmente existem inúmeras iniciativas para proteger e preservar o sagui-da-serra-escuro (*C. aurita*), ameaçados pela presença dos híbridos, as quais trabalham com riqueza,

abundância e densidade populacional destes animais nas zonas de Mata Atlântida (STALLINGS *et al.* 1991; COSENZA e MELO 1998; CHIARELLO 1999; CHIARELLO e MELO 2001), contudo estes projetos possuem poucos dados comparativos sobre os padrões comportamentais desta espécie, o que dificulta o entendimento completo dos danos totais que a perda de habitat, a introdução de espécies exóticas e o processo de hibridização causam



Figura 9 - Híbridos de *C. geoffroyi* X *C. penicillata*, encontrados em um dos fragmentos de floresta urbana da UFV. Fonte: Vanessa Lopez

Os projetos de conservação consistem no controle das espécies invasoras, fazendo o manejo adequado destas populações, e desenvolvimento de ações de educação ambiental, para conscientizar a população a respeito da presença da espécie nativa da região e sobre os riscos que o comércio ilegal e soltura inadequada de animais silvestres podem trazer para as populações endêmicas da localidade (ICMBIO – 2015). Neste âmbito foram criados o Plano Nacional para a Conservação dos Mamíferos da Mata Atlântica (PAN MAMAC) em 2010 e o Projeto Aurita realizado na Universidade Federal de Viçosa, para que possam ser criados planos de manejo animal para a realocação dos animais exóticos e seus híbridos, evitando

assim a competição demasiada entre estes animais e a possível extinção local da espécie nativa, *Callithrix aurita*.

6 CONCLUSÃO

As análises realizadas no presente trabalho mostraram que, possivelmente, as fêmeas híbridas possuem um padrão reprodutivo diferente do comportamento apresentados pelas saguis puras do gênero *Callithrix*, pois estão aptas a ter copulas féteis durante todas as estações do ano. Por tanto é possível que este comportamento reprodutivo das fêmeas híbridas, as tornem importantes ameaças, ainda maiores do que já se imaginava, às espécies nativas ao dividirem o mesmo nicho ecológico, uma vez que é possível que não haja supressão hormonal das fêmeas subordinadas. Entretanto, novos estudos com um maior número de animais precisam ser realizados para o completo entendimento do processo reprodutivo destas fêmeas.

7 REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. P., NORDHEIM, E. V., & BOESCH, C. Environmental factors influencing the seasonality of estrus in chimpanzees. **Primates**, v. 47, n. 1, p. 43-50, 2006
- ARDITO, G., LAMBERTI, L., BIGATTI, P., STANYON, R., & GOVONE, R. (2014) Nor distribution and satellite associations in *Callithrix jacchus*. **Caryologia: International Journal Cytosystematics cytogenetics**. v. 40, n.3. 185-194.
- ARNOLD, M. L. Natural Hybridization and Evolution. **Oxford University Press**, Oxford. 1997
- BARTON, N. H. The role of hybridization in evolution. **Molecular Ecology**. v. 10. 551–568, 2001.
- BERCOVITCH, F. B. SLADKY, K. K.; ROY, M. M., GOY, R. W. Intersexual Aggression and Male Sexual Activity in Captive Rhesus Macaques. **Aggressive Behavior** v. 13, n. 7 p. 347–358, 1987.
- BUCKNER, J. C. Lynch Alfaro, J. W. Rylands, A. B. Alfaro, M. E. Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 82. 413-425. 2015
- CARSON, F. L.; MARTIN, J. H. & LYNN, J. A. Formalin fixation for electron microscopy: are evaluation. **American Journal of Clinical Pathology**. v.59. p. 365-373. 1973.
- CARLSON A. A., ZIEGLER T. E., & SNOWDON C. T. Ovarian Function of Pygmy Marmoset Daughters (*Cebuella pygmaea*) in Intact and Motherless Families. **American Journal of Primatology**, v. 43, n. 4, p. 347–355. 1997
- CERQUEIRA, R.; MARROIG, G.; PINDER, L. Marmosets and lion-tamarins distribution (Callitrichidae, Primates) in Rio de Janeiro State, south-eastern Brazil. **Mammalia**, v. 62, n. 2, p. 213–226, 1998.
- CHAVES, R. CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL DISSERTAÇÃO. Estudo Histológico dos Sistemas Reprodutores Masculino e Feminino de *Callithrix jacchus* (LINNAEUS, 1758). 35 p. 2006.
- CORTÉS-ORTIZ, L. DUDA JR., T. F., ESPINOSA-CANALES, D., GARCI, F.; RODRÍGUEZ-LUNA, E.; BERMINGHAM, E. Hybridization in Large-Bodied New World Primates. **Genetics**. v.176. n.4. p. 2421 - 2425, 2007.
- DETOGNE, N. et al. Spatial distribution of buffy-tufted-ear (*Callithrix aurita*) and invasive marmosets (*Callithrix* spp.) in a tropical rainforest reserve in southeastern Brazil. **American Journal of Primatology**, v. 79. n. 12. 1–11. 2017.

- DUNBAR, R. L. M. Primate Social Systems. 2ª edição. Croom Helm London, Sidney, 373p. 1988
- FEDIGAN, L. M. & ROSE, L. M. Interbirth interval variation in three sympatric species of Neotropical monkey. **American Journal of Primatology**. v. 37, n. 1, p. 9–24. 1995
- FUZESSY, L. F. et al. Morphological Variation in Wild Marmosets (*Callithrix penicillata* and *C. geoffroyi*) and Their Hybrids. **Evolutionary Biology**. v. 41, n. 3, p. 480–493, 2014.
- GARCIA, S. L.; FERNÁNDEZ, C. G. Embriologia. 3ª edição. Porto Alegre. Artmed. 2012.
- GUIMARÃES, M. A. B. V. Reprodução de primatas não-humanos. **Resvista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 17. 339–343. 2007.
- INSTITUTO CHICO MENDES < <http://www.icmbio.gov.br>>
- KOENIG, A. et al. Ecology, nutrition, and timing of reproductive events in an asian primate, the Hanuman langur (*Presbytis entellus*). **Journal of Zoology**, v. 243. n. 2. 215–235. 1997.
- LEAL, M. C., FRANÇA, L. R. The Seminiferous Epithelium Cycle Length in the Black Tufted-Ear Marmoset (*Callithrix penicillata*) Is Similar to Humans. **Biology of Reproduction**. v. 74. n. 4. 616-624. 2005.
- LI, L. H., DONALD, J. M., & GOLUB, M. S. Review on Testicular Development, Structure, Function, and Regulation in Common Marmoset. *Birth Defects Research (Part B)*. v. 74, 450–469. 2005.
- MALUKIEWICZ, J. Boere, V. Fuzessy, L. F. Grativol, A. D. French, J. A. Oliveira e Silva, I. Pereira, L. C. M. Ruiz-Miranda, C. R. Valenca, Y. M. Stone, A. C. Hybridization effects and genetic diversity of the common and black-tufted marmoset (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*) mitochondrial control region. **American Journal of Physical Anthropology**. n.155. 522-536. 2014.
- MALUKIEWICZ, J. A review of experimental, natural, and anthropogenic hybridization in callithrix marmosets. **International Journal of Primatology**. v. 40. 72-98. 2019
- NAGAMACHI, C. Y., & FERRARI, Y. Cytogenetics studies of *Callithrix jacchus* (Callitrichidae, Platyrrhini) from two different sites in Brazil. I. Morphological variability of Y chromosome. **Revista Brasileira de Genética**. v. 7, p. 497-507. 1984
- NOGUEIRA, D. M., FERREIRA, A. M. R., GOLDSCHMIDT, B., PISSINATTI, A., CARELLI, J. B., & VERONA, C. E. Cytogenetic study in natural hybrids of *Callithrix* (Callitrichidae: Primates) in the Atlantic forest of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Iheringia, Serie Zoologica**, p. 101, v. 3, p. 156-160. 2011

- NORRIS, D., ROCHA-MENDES, F., ALMEIDA NOBRE, R., & GALETTI, M.. Density and spatial distribution of buff-tufted-ear marmosets in a continuous atlantic forest (*Callithrix aurita*). **International Journal of Primatology**. v. 32, n. 4, p. 811-829. 2011
- OLIVEIRA, L. C. & GRELE, C. E. V. Introduced primate species of an Atlantic Forest region in Brazil: present and future implications for the native fauna. **Tropical Conservation Science**. v.5, n. 1, p. 112-120. 2012
- ROTHMAN, J. M., RAUBENHEIMER, D., BRYER, M. A., TAKAHASHI, M., & GILBERT, C. C. (2014). Nutritional contributions of insects to primate diets: Implications for primate evolution. **Journal Human Evolution**. v. 71, p. 59-69. 2014
- SILVA, M. A. F., VERONA, C. E., CONDE, M., & PIRES, A. S. (2018). Frugivory and potential seed dispersal by the exotic-invasive marmoset *Callithrix jacchus* (Primates, Callitrichidae) in an urban Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. **Mammalia**. v. 82, n. 4, p. 343-349. 2018
- SMITH, A. D., BIRNIE, A. K., & FRENCH, J. A. Social isolation affects partner-directed social behavior and cortisol during pair formation in marmosets, *Callithrix geoffroyi*. **Physiology & Behavior**. v. 104, n. 5, p. 955-961. 2011
- STRITER, K. B., & ZIEGLER, T. E. Behavioral and Endocrine Characteristics of the Reproductive Cycle in Wild Muriqui Monkeys, *Brachyteles arachnoides*. **American Journal of Primatology**. v. 42, n. 4, p. 299-310. 1997
- TAKAHASHI, H. Female reproductive parameters and fruit availability: Factors determining onset of estrus in Japanese macaques. **American Journal of Primatology**, v. 57, n. 3, p. 141–153, 2002
- TORII, R., ABBOTT, D., & NIGI, H. Morphological Changes of the Ovary and Hormonal Changes Through the Ovarian Cycle of the Common Marmoset (*Callithrix jacchus*). **Primates**. v. 37, n. 1, p. 49-56. 1996
- TRAAVIK, T.; CHING, L. L. BIOSAFETY FIRST: Holistic Approaches to Risk and Uncertainty in Genetic Engineering and Genetically Modified Organisms. 1ª edição. Tromsø. 2007
- ZIEGLER, T.; HODGES, K.; WINKLER, P. HEISTERMANN, M. Hormonal Correlates of Reproductive Seasonality in Wild Female Hanuman Langurs (*Presbytis entellus*). **American Journal of Primatology** v. 51. n. 2. 119–134, 2000.
- ZINNER, D. Groeneveld, L. F.; Keller, C. Roos, C. Mitochondrial phylogeography of baboons (*Papio* spp.) – Indication for introgressive hybridization? **BioMed Central**. v. 15. 1–15. 2009.