# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a partir
de 12/01/2027.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

# DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Callithrix aurita* ACESSADA POR MARCADORES MITOCONDRIAIS E DE MICROSSATÉLITES

**Camila Shyu Fiorindo**

**Bacharel em Zootecnia**

**2024**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

# DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Callithrix aurita* ACESSADA POR MARCADORES MITOCONDRIAIS E DE MICROSSATÉLITES

**Discente: Camila Shyu Fiorindo**

**Orientador: Prof. Dr. Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva**

**Coorientadores: Prof. Dr. Rodrigo Giglioti e Profa. Dra. Patrícia Domingues de Freitas**

**Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal**

**2024**

F521d

Fiorindo, Camila Shyu

Diversidade genética em Callithrix aurita acessada por marcadores mitocondriais e de microssatélites / Camila Shyu Fiorindo. -- Jaboticabal, 2024

66 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva

Coorientador: Rodrigo Giglioti; Patrícia Domingues de Freitas

1. Sagui-da-serra-escuro. 2. Diversidade genética. 3. Marcadores moleculares. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**Câmpus de Jaboticabal**

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Callithrix aurita* ACESSADA POR MARCADORES MITOCONDRIAIS E DE MICROSSATÉLITES

**AUTORA: CAMILA SHYU FIORINDO**
**ORIENTADOR: JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA**
**COORIENTADOR: RODRIGO GIGLIOTI**
**COORIENTADORA: PATRÍCIA DOMINGUES DE FREITAS**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Genética e Melhoramento Animal pela Comissão Examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS S
Data: 19/07/2024 17:54:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. JOSINEUDSON AUGUSTO II DE VASCONCELOS SILVA (Participaçao Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutricao Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO BARBANTI DUARTE (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
JOSE MAURICIO BARBANTI DUARTE
Data: 19/07/2024 17:33:27-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. ALEXANDRA SANCHES (Participaçao Virtual)
Centro de Ciências da Natureza / Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Lagoa do Sino/SP

gov.br Documento assinado digitalmente
ALEXANDRA SANCHES
Data: 19/07/2024 12:35:18-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Jaboticabal, 12 de julho de 2024

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Camila Shyu Fiorindo, nascida em São Paulo - SP, no dia 12/01/1999. O início de sua vida acadêmica foi no ano de 2018, ingressando no curso de Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Botucatu, onde concluiu o bacharelado em 2021. Atualmente, conclui o curso de Mestrado em Ciência Animal, com foco na análise da diversidade genética da espécie *Callithrix aurita*, visando contribuir para maior compreensão, conservação e manejo da espécie.

“O presente estudo, contribui para a conservação da espécie *Callithrix aurita* fornecendo dados genéticos que podem auxiliar nas estratégias de manejo e políticas públicas. Além disso, promove avanços científicos na área da genética da conservação, contribuindo na conscientização sobre a preservação da biodiversidade.”

“The present study, contributes to the conservation of the species *Callithrix aurita* by providing genetic data that can support management strategies and public policies. Moreover, it advances scientific knowledge in the field of conservation genetics, raising awareness about the preservation of biodiversity.”

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Josineudson Augusto II de Vasconcelos Silva, e aos meus coorientadores Profa. Dra. Patrícia Domingues e Prof. Dr. Rodrigo Giglioti, pela orientação, conselhos valiosos e paciência ao longo desta jornada. Seus conhecimentos e dedicação foram fundamentais para a finalização e construção desse trabalho.

Também agradeço imensamente aos laboratórios do Instituto de Zootecnia (IZ) de Nova Odessa e ao Laboratório de Biologia Molecular e Conservação (LabBMC) da UFSCar, por me permitirem usufruir de suas instalações e recursos para o desenvolvimento da parte prática de todo o estudo. Assim como toda a equipe a estes relacionada que foram, desde o início, super acolhedores e solícitos, sendo parte essencial de todo o desenvolvimento, assim como para o aumento do meu conhecimento individual e do trabalho em equipe.

Deixo aqui uma parte especial para agradecer a Dra. Carla Gestich, Dr. Bruno Saranholli, Me. Nathalia Bulhões e demais pesquisadores associados ao LabBMC que tiveram um impacto significativo na minha jornada acadêmica, me auxiliando desde o início com todos os processos da pesquisa, além de me proporcionarem novas amizades e ótimos momentos no tempo que estive por lá.

Agradeço aos colaboradores Vet. Cláudia Igayara, Dra. Camila Vieira Molina, Dr. Márcio Port-Carvalho e Biól. Bianka Heimeshoff Schulz, que além de fornecerem todo o material, estiveram presentes em diversos momentos do estudo, fornecendo informações importantes que tornaram possível desenvolvimento deste projeto. E aos demais pesquisadores envolvidos na conservação do sagui-da-serra-escuro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. E com o apoio do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp de Jaboticabal (PPGCA).

Por último e não menos importante, à minha família e amigos, um obrigado especial pelo apoio emocional constante. Vocês foram meu alicerce, proporcionando amor e encorajamento nos momentos mais desafiadores desse processo.

## RESUMO

A espécie *Callithrix aurita*, endêmica da Mata Atlântica do sudeste brasileiro, vem enfrentando uma significativa redução populacional decorrente, principalmente, da rápida expansão das atividades humanas que tem levado à fragmentação e degradação de seu hábitat. Neste contexto, os estudos genético-moleculares se tornaram relevantes para auxiliar na orientação de estratégias de manejo, tanto em populações mantidas em cativeiro quanto em vida-livre, visando a manutenção da diversidade genética e consequentemente a viabilidade populacional e o potencial evolutivo das espécies. O presente estudo objetivou caracterizar a diversidade genética da dois grupos familiares de *Callithrix aurita* amostrados na região metropolitana de São Paulo em um fragmento florestal no município de Mairiporã, utilizando a região *D-loop* do DNA mitocondrial e marcadores de microssatélites heterólogos, caracterizados para *Leontopithecus* sp. Além desses espécimes, amostras de *C. aurita* provenientes de outros locais foram adicionadas ao estudo para acessar a diversidade matrilinear da espécie em uma escala geográfica mais ampla. Os resultados obtidos para a região *D-loop* evidenciaram uma possível expansão populacional, apoiada pelos testes de neutralidade e pela alta diversidade haplotípica (0,837) observada para a espécie. Os dados de microssatélites apresentaram amplificação satisfatória de 16 locos heterólogos, evidenciando um maior número de heterozigotos observados em relação ao esperado nos dois grupos do fragmento urbano, indicando o efeito de uma possível redução populacional recente. A análise de viabilidade desta população demonstrou que, com seu tamanho atual, esta não conseguirá reter 90% da diversidade genética nos próximos 11 anos. Estes achados destacam a necessidade de esforços para aumentar o tamanho populacional e ampliar o número de estudos nas demais populações de *C. aurita*, visando contribuir nas tomadas de decisão para a conservação da espécie e de suas populações.



**Palavras-chave:** Sagui-da-serra-escuro, diversidade genética, marcadores moleculares

## ABSTRACT

The species *Callithrix aurita*, endemic to the Southeast Brazilian Atlantic Forest, has been facing a significant population decline primarily due to the rapid expansion of human activities, leading to habitat fragmentation and degradation. In this context, genetic-molecular studies have become relevant to guide management strategies for both captive and wild populations, aiming to maintain genetic diversity and consequently ensure population viability and the evolutionary potential of the species. This study aimed to characterize the genetic diversity of two family groups of *Callithrix aurita* sampled in the metropolitan region of São Paulo in a forest fragment in the municipality of Mairiporã, using the *D-loop* region of mitochondrial DNA and heterologous microsatellite markers characterized for Leontopithecus sp. In addition to these specimens, samples from *C. aurita* from other locations were added to the study to assess the matrilineal diversity of the species on a broader geographic scale. The results obtained for the *D-loop* region indicated a possible population expansion, supported by neutrality tests and the high haplotype diversity (0.837) observed for the species. The microsatellite data showed satisfactory amplification of 16 heterologous loci, revealing a higher number of observed heterozygotes compared to expected in the two groups from the urban fragment, indicating the effect of a possible recent population reduction. The viability analysis of this population demonstrated that, with its current size, it will not be able to retain 90% of its genetic diversity over the next 11 years. These findings highlight the need for efforts to increase population size and expand the number of studies on other populations of *C. aurita*, aiming to contribute to decision-making for the conservation of the species and its populations.



**Keywords**: Buffy-tufted-ear Marmoset, genetic diversity, molecular markers

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.1.** Ilustração da espécie *Callithrix aurita* (Ford *et al*., 2009). Desenho por Stephen Nash, Conservation International. .....4

**Figura 1.2.** Distribuição da espécie *Callithrix aurita*. (A) Distribuição de acordo com Biodiversitas Brasil (2008), IUCN. (B) Distribuição sugerida por Bechara (2012). .....6

**Figura 1.3.** Ilustração para o genoma mitocondrial completo de Mico-Leão-Preto Leontopithecus chrysopygus (Inferior) (Freitas *et al*., 2018). Estrutura da região não codificante do mtDNA do D-loop (Superior) (Nicholls e Minczuk, 2014).....11

**Figura 2.1.** Mapa de localização das amostras utilizadas do estado de São Paulo, indicando a cidade e o (N) número amostral de cada local. .....27

**Figura 2.2.** Rede de haplótipos gerada com todas as sequencias de D-loop para *C. aurita* e suas respectivas localizações. Ca: Bairro Capoavinha; MA: Mairiporã; MC: Mogi das Cruzes; SU: Suzano; SP: São Paulo; NP: Nazaré Paulista; EP: Espírito Santo do Pinhal; SJ: São José dos Campos; GU: Guapimirim; NF: Nova Friburgo; NA: Natividade; MG: Minas Gerais; Zoo: Nascidos em cativeiro (Zoológico Municipal de Guarulhos).....32

**Figura 2.3.** Rede de haplótipos gerada para as sequencias de D-loop dos indivíduos de *C. aurita* provenientes do bairro da Capoavinha (Ca), sendo Gc os pertencentes ao grupo ‘Cerrado, os Gb do grupo ‘Bairro’ e o Sg indivíduos sem grupo definido. .....32

**Figura 2.4.** Mapa com os haplótipos encontrados para parte da região controle do DNA mitocondrial de *C. aurita*. O diâmetro dos círculos é proporcional ao tamanho amostral (n) e os setores são diferentes haplótipos (H). H8*: Haplótipo encontrado apenas em cativeiro. .....33

**Figura 2.5.** Análise de clusterização por Inferência Bayesiana realizada no BAPS, sem informação a priori, com o uso de sequências de *D-loop* demonstrando cinco clusters (K=5), para os indivíduos de *Callithrix aurita*. (CA: Bairro Capoavinha; MA: Mairiporã;

MC: Mogi das Cruzes; SU: Suzano SP: São Paulo; Zoo: Zoológico Municipal de Guarulhos; NP: Nazaré Paulista; EP: Espírito Santo do Pinhal; SJ: São José dos Campos; GU: Guapimirim; NF: Nova Friburgo; NA: Natividade; MG: Minas Gerais; K1: Verde; K2: Azul; K3: Vermelho; K4: Rosa; K5: Amarelo). .....35

**Figura 2.6.** Árvore filogenética gerada por inferência bayesiana e os grupamentos designados a cada indivíduo.. Os nós marcados com um ponto representam uma probabilidade posterior ≥ 90% para a dada ramificação. .....35

**Figura 3.1**. Análise de clusterização, sem informação a priori, por Inferência Bayesiana realizada no Structure utilizando microssatélites para a população de *C. aurita* situada em um fragmento florestal da região metropolitana de São Paulo .....58

**Figura 3.2**. Análise de Coordenadas Principais (PCoA), representando 27,38% (Coord. 1) e 50,16% (Coord. 2) da variação total encontrada.. .....58

**Figura 3.3**. Análise de predição para retenção da diversidade genética atual (alelos observados e esperados, heterozigosidade observada e esperada) nos próximos 100 anos em uma população de *Callithrix aurita* do fragmento florestal da Capoavinha, Mairiporã - SP, considerando a ausência de redução (100%) populacional e a redução de 25%, 50% e 75% no tamanho populacional atual estimado.....59

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 2.1.** Dados das amostras de *Callithrix aurita* utilizadas neste estudo, indicando a cidade de origem das amostras, assim como o bairro e/ou grupo familiar no qual foram observados (Localização/Grupo), o código de identificação utilizado (ID), sexo, faixa etária no dia das coletas das amostras e o tipo de amostra utilizada. .....24

**Tabela 2.2.** Dados das sequencias do banco de dados (GenBank) as quais foram utilizadas no presente estudo. Indicando a localização em que foram encontrados, código no banco de dados e autores responsáveis. .....26

**Tabela 2.3.** Índices de diversidade genética para cada conjunto de amostras de *C. aurita*: Zoológico: para amostras de cativeiro. Indicando o número de sequências analisadas (N), número de haplótipos (H), número de sítios polimórficos (S), diversidade haplotípica (Hd), diversidade nucleotídica (Pi), diferença média de nucleotídeo (k).....34

**Tabela 2.4**. Grupos genéticos obtidos para as amostras de *C. aurita* avaliados no presente estudo, contendo informações sobre a probabilidade posterior dos nós das ramificações correspondentes de cada grupo (P.post), números de indivíduos compondo o grupo (N), identificação dos indivíduos (ID), suas localizações e o cluster a qual pertencem (K). .....36

**Tabela 2.5**. Valores para os testes de neutralidade D de Tajima e FS de Fu para os grupos genéticos estudados.....37

**Tabela 3.1.** Dados das amostras de *Callithrix aurita* utilizadas neste estudo, indicando a cidade de origem, assim como o grupo familiar no qual foram observados (Grupo), o código de identificação utilizado (ID), sexo, faixa etária no dia da coleta e o tipo de amostra utilizada.. .....48

**Tabela 3.2**. Informações dos locos de microssatélites utilizados no estudo. Para cada locos, a sequência do primer (5'->3') foward e reverse, o número de acesso do GenBank, a temperatura de anelamento (TA), a variação de tamanho dos alelos para

as espécies delineadas, o número de alelos e o corante fluorescente (M13) são fornecidos.....50

**Tabela 3.3**. Locos de microssatélites utilizados no presente estudo, com informações da espécie para a qual estes foram delineados, a temperatura de anelamento utilizada (TA), o tamanho e número de alelos encontrados para a espécie de *L.sp* correspondente e para a encontrada para espécie de estudo (*C. aurita*), assim como o marcador M13 utilizado. .....54

**Tabela 3.4**. Alelos de cada loco estudado e suas respectivas frequências para a população de *C. aurita* residente do bairro da Capoavinha, Mairiporã – SP (N= 13). .....55

**Tabela 3.5**. Índices de diversidade genética, utilizando marcadores microssatélites, calculados para cada loco nos animais do bairro da Capoavinha. (Na) número de alelos, (Ne) número de alelos efetivos, (He) heterozigosidade esperada, (Ho) heterozigosidade observada, (Ra) riqueza alélica, ($F_{IS}$) coeficiente de endogamia, ($P_{DH}$) valores de p para déficit de heterozigotos do coeficiente de endogamia $F_{IS}$, ($P_{DE}$) valores de p para excesso de heterozigotos do coeficiente de endogamia $F_{IS}$ e a (PIC) informação de conteúdo polimórfico de cada loco. .....56

**SUMÁRIO**

**CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS ..... 1**

**1.1 INTRODUÇÃO ..... 1**

**1.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES ..... 2**

**1.3 REVISÃO DE LITERATURA ..... 4**

**1.3.1. *Callithrix aurita* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812) ..... 4**

**1.3.1.1. Distribuição ..... 5**

**1.3.1.2. Status de Conservação ..... 7**

**1.3.1.3. Reprodução ..... 8**

**1.3.2. Marcadores Moleculares ..... 9**

**1.3.2.1. Microssatélite ..... 10**

**1.3.2.2. Região Controle (*D-loop*) do DNA Mitocondrial ..... 10**

**1.4 REFERÊNCIAS ..... 13**

**CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA MATRILINEAR E ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Callithrix aurita* NA REGIÃO METROPOLITANA DE SÃO PAULO. ..... 21**

**RESUMO ..... 21**

**2.1 INTRODUÇÃO ..... 22**

**2.2 MATERIAL E MÉTODOS ..... 23**

**2.2.1. Declarações Éticas ..... 23**

**2.2.2. Amostragem ..... 23**

**2.2.3. Extração do DNA ..... 27**

**2.2.4. Amplificação e Sequenciamento da Região *D-loop* ..... 29**

**2.2.5. Análises Genéticas ..... 29**

**2.3 RESULTADOS ..... 31**

**2.3.1. Caracterização da Estrutura Matrilinear ..... 31**

**2.3.2. Diversidade Haplotípica ..... 33**

**2.3.3. Diferenciação Genética entre Populações ..... 34**

**2.4 DISCUSSÃO ..... 37**

**2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 39**

**2.6 REFERÊNCIAS ..... 41**

**CAPÍTULO 3 - DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM *Callithrix aurita* ACESSADA POR MARCADORES DE MICROSSATÉLITES ..... 45**

**RESUMO ..... 45**

**3.1 INTRODUÇÃO ..... 46**

**3.2 MATERIAL E MÉTODOS ..... 47**

**3.2.1. Diretrizes Éticas ..... 47**

**3.2.2. Amostras ..... 48**

**3.2.3. Extração de DNA ..... 49**

**3.2.4. Amplificação dos Microssatélites e Genotipagem ..... 50**

**3.2.5. Análises Genéticas ..... 52**

**3.3 RESULTADOS ..... 54**

**3.3.1. Polimorfismo e Frequência Alélica ..... 54**

**3.3.2. Diversidade Genética e Estruturação Populacional ..... 56**

**3.3.3. Análise Preditiva de Viabilidade Populacional ..... 58**

**3.4 DISCUSSÃO ..... 59**

**3.4.1. Transferibilidade de Microssatélites ..... 59**

**3.4.2. Diversidade Genética e Estrutura Populacional ..... 61**

**3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 62**

**3.6 REFERÊNCIAS ..... 63**

# CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

## 1.1 INTRODUÇÃO

O crescente processo de fragmentação, degradação e destruição de habitats, aliado à introdução de espécies invasoras e disseminação de doenças, tem promovido acentuada ameaça à biodiversidade global (Frankham, Briscoe, e Ballou, 2002; Primack, 2010). Tal cenário implica, frequentemente, na formação de populações isoladas, com baixa diversidade genética, e, consequentemente, potencial adaptativo reduzido (Groom *et al.*, 2005; Primack, 2010). No caso de espécies dependentes de florestas, esta realidade coloca em perigo diversas espécies, aumentando seu risco de extinção em consequência da diminuição no tamanho de suas populações e consequências genéticas negativas, como, por exemplo, a perda de variabilidade genética, que pode comprometer o potencial adaptativo das populações, tornando-as mais vulneráveis a mudanças ambientais e outros fatores adversos (Frankham, Briscoe, e Ballou, 2002; Honnay *et al.,* 2005; Malekian *et al.,* 2015).

Uma espécie que se insere no contexto apresentado é a *Callithrix aurita*, um pequeno primata endêmico da Mata Atlântica, que habita principalmente regiões de alta altitude e baixas temperaturas (Grelle e Cerqueira, 2006). Esta espécie tem sido extensivamente estudada (Coimbra-Filho, 1991; Corrêia, 1995; Olmos e Martuscelli, 1995; Brandão e Develey, 1998; Port-Carvalho e Kierulff, 2009; Carvalho, 2015), dado seu status preocupante em relação à sua conservação (ICMBio, 2014), sendo classificada como uma das 25 espécies de primatas mais ameaçadas do mundo para os anos de 2018 a 2020 conforme a publicação "Primates in Peril" (Schwitzer *et al*., 2019). Apesar do expressivo número de estudos, avaliações relativas à diversidade genética e seu padrão de distribuição nas populações remanescentes permanecem incipientes.

Nos últimos anos, a genética da conservação tem desempenhado papel crucial nas decisões de manejo de espécies de primatas ameaçadas de extinção, por meio do uso de abordagens da biologia molecular, tanto em populações de cativeiro (Ayala-Burbano *et al*., 2017, 2020; Aliaga-Samanez *et al*., 2023), quanto de vida-livre (Di

Fiore, 2009; Pereira, 2010; Ayala-Burbano *et al*., 2017). Tais análises são fundamentais para avaliar os níveis de diversidade e estrutura genética das populações, favorecendo a melhor compreensão da viabilidade populacional e potencial evolutivo de uma espécie ao longo do tempo (Frankham, Briscoe, e Ballou, 2002), principalmente perante as constantes mudanças ambientais e alterações climáticas (Brown e Brown, 1992; Myers, 2000).

Em primatas, análises com diferentes tipos de marcadores moleculares, incluindo sequências repetitivas de microssatélites e do DNA mitocondrial (*mtDNA*), têm sido empregadas para estudos de filogenia (Freitas *et al*., 2018), e abordagens populacionais (Grativol, Ballou e Fleischer, 2001; Di Fiore, 2009; Pereira, 2010; Ayala-Burbano *et al*., 2017), permitindo inferências sobre os níveis de diversidade genética, relações de parentesco e endogamia, tamanhos populacionais efetivos, taxas de migração, fluxo gênico, entre outros. Tais análises fornecem informações importantes sobre a biologia das espécies, sendo relevantes para táxons com algum risco de ameaça (Frankham, Briscoe, e Ballou, 2002; Desalle e Amato, 2004).

## 1.2 OBJETIVOS E HIPÓTESES

Tendo em vista as problemáticas citadas, este estudo teve como objetivo geral caracterizar a diversidade genética da espécie *Callithrix aurita*, utilizando marcadores mitocondriais (*D-loop*) e de microssatélites, visando fornecer dados possam ser utilizados como subsídios para estratégias de conservação da espécie. Para alcançar esse objetivo, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Analisar a diversidade e a estrutura genética de espécimes provenientes de diferentes localidades dentro da área de ocorrência da espécie (São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais) utilizando a região *D-loop* do DNA mitocondrial;
- Identificar padrões populacionais que possam estar relacionados a eventos históricos, a fim de elucidar como esses fatores podem influenciar a diversidade genética das populações contemporâneas da espécie;

- Validar um conjunto de microssatélites heterólogos que permitam estimar os níveis de diversidade e estrutura genética da espécie, bem como fornecer informações adicionais sobre sua biologia;
- Avaliar a diversidade e a estrutura genética de uma população residente em um fragmento florestal na região metropolitana de *São Paulo* (Mairiporã – SP), utilizando marcadores de microssatélites.

Fazendo isso, tenta-se responder as seguintes hipóteses do trabalho:

- Existe variação significativa na diversidade genética matrilinear entre as diferentes regiões de ocorrência da espécie?
- Uma população fragmentada de *Callithrix aurita* apresenta baixa diversidade genética matrilinear devido ao possível isolamento?
- A população de *Callithrix aurita* residente no fragmento florestal da Capoavinha (Mairiporã – SP) apresenta diversidade genética reduzida?

## 1.3 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.3.1. *Callithrix aurita* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812)

*Callithrix aurita* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1812), também conhecido como sagui-da-serra-escuro ou sagui-caveirinha, é um pequeno primata pertencente à família Callitrichidade (Platyrrhini), endêmico das florestas montanhosas da Mata Atlântica brasileira. Morfologicamente esta espécie se distingue dos demais membros de seu gênero pela coloração de sua pelagem (Figura 1.1), que varia de tons pardos a inteiramente negros ao longo do corpo, com a face branca e uma mancha na parte superior de sua cabeça, que varia do amarelado ao dourado. A presença de tufos auriculares curtos de coloração, variando do branco amarelado ao marrom claro, e coloração das mãos e pés nesses mesmos tons, também são características marcantes desta espécie (Coimbra-Filho, 1991; Melo e Rylands, 2008).




**Figura 1.2.** (A) Ilustração da espécie *Callithrix aurita* (Ford *et al*., 2009). Desenho por Stephen Nash, Conservation International. (B) Indivíduo da espécie *Callithrix aurita* (Josh Vandermeulen, 2023).

O sagui-da-serra-escuro destaca-se como um dos maiores representantes do gênero *Callithrix*, com comprimento corporal variando entre 50 e 60 cm e peso na faixa de 400 a 450 gramas (De Vivo, 1991; Garber, 1992). Assim como outros calitriquídeos, *C. aurita* caracteriza-se por hábitos alimentares oportunistas, ou seja, que aproveitam situações favoráveis para obter alimento, como por exemplo, a fuga de presas de formigas (Martins, 1999). Embora Martins (1999) tenha sugerido a preferência desse primata por insetos, principalmente relacionado as suas características morfológicas, como a dentição menos especializada, que diminui o consumo de goma por exemplo, outros trabalhos indicam que *C. aurita* tende a ser mais generalista, incorporando em sua dieta uma variedade de itens como frutas, flores, goma e pequenos vertebrados, como rãs e lagartas (Coimbra-Filho, 1991; Muskin, 1983; Brandão e Develey, 1998; Martins, 1999; Corrêia, Coutinho e Ferrari, 2000; Martins e Setz, 2000).

#### 1.3.1.1. Distribuição

O sagui-da-serra-escuro habita florestas semidecíduas e ombrófilas densas, sendo frequente sua presença também em bambuzais, ocorrendo nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, com indícios de sua ocorrência em algumas localidades do Espírito Santo (Olmos e Martuscelli, 1995; Brandão e Develey, 1998). Contudo, a distribuição e os limites geográficos da espécie são temas frequentemente debatidos. Melo e Rylands (2008) descrevem que *C. aurita* ocorre desde a foz do rio Piracicaba no rio Doce, até os extremos do Espinhaço, ambos em Minas Gerais, e nas áreas de transição do cerrado em São Paulo, sendo também encontrada nas partes superiores das encostas da Serra do Mar, no Rio de Janeiro, onde foram observados grupos à 80 metros acima do nível do mar, no sul do estado (Melo e Rylands, 2008). Nos demais estados, a maior parte dos registros da espécie reporta sua ocorrência em altitudes que variam de 800 a 1375 metros acima do nível do mar (Olmos e Martuscelli, 1995; Brandão e Develey, 1998).

Considerando esses aspectos, Brandão e Develey (1998) indicam a maior presença do sagui-da-serra-escuro em regiões montanhosas e de baixas temperaturas, sugerindo que este fator pode ser limitante para a distribuição

geográfica da espécie, podendo estar associado com uma predileção por esses ambientes ou ao avanço acentuado do desmatamento, que por consequência, tende a deixar as áreas de morros mais preservadas (Grelle e Cerqueira, 2006). Junto a isto, Bechara (2012) constatou redução significativa na área de ocupação histórica da espécie, calculando perda de aproximadamente 43% da distribuição original ao longo de 18 anos (Figura 1.2, mapa B), declínio que se correlaciona com os dados de degradação e fragmentação da Mata Atlântica, bioma que se encontra amplamente ameaçado (Brown e Brown, 1992; Myers, 2000).

Considerando a área de ocorrência da espécie, sua amplitude de ocupação

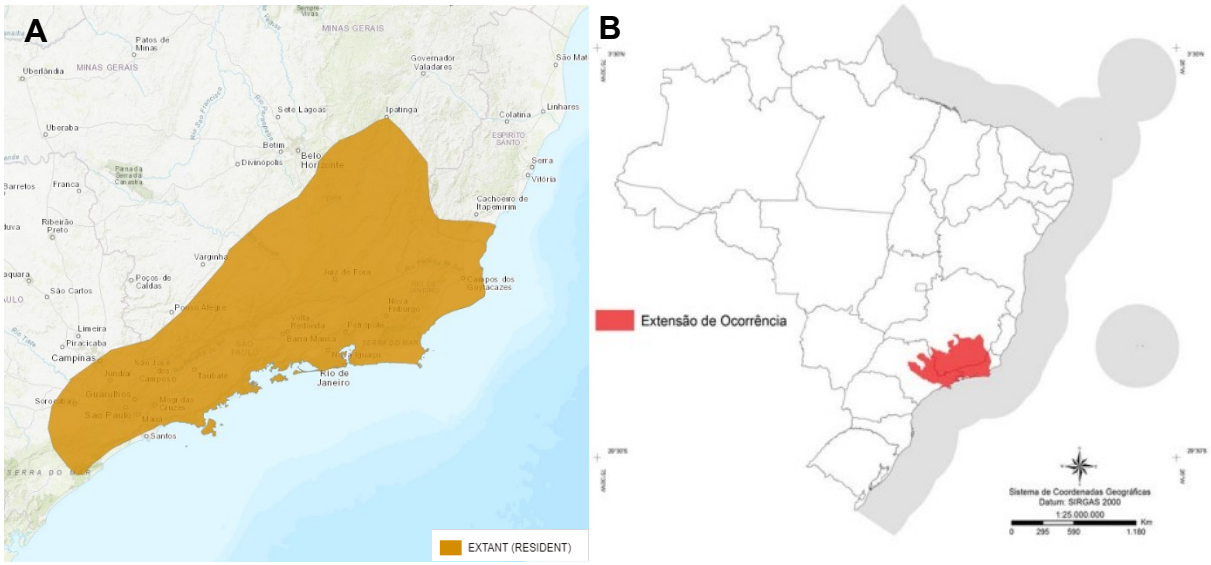



**Figura 1.5.** Distribuição da espécie *Callithrix aurita.* (A) Distribuição de acordo com Biodiversitas Brasil (2008), IUCN. (B) Distribuição sugerida por Bechara (2012).

em habitats de mata densa e a maior presença em áreas com baixas temperaturas, é possível supor que, em decorrência da grande perda de seus habitats assim como da presença de espécies alóctones, esses animais vêm enfrentados situações que afetam diretamente seu tamanho populacional, apresentando uma diminuição significativa de sua população, fazendo com que a espécie se encontre em situação de ameaça (Pereira, 2006; Pereira, Oliveira e Ruiz-Miranda, 2008; Pereira, 2010; Silva, 2014).

#### 1.3.1.2. Status de Conservação

No último censo realizado pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN), *C. aurita* foi classificada como em perigo (EN) em âmbito mundial (Rylands *et al*., 2008). Da mesma forma, em âmbito nacional e estadual, a espécie encontra-se em perigo, de acordo com a última Portaria nº 43/2014 do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2022) e pelas federações dos estados em que ocorre, a saber, Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro, sendo apenas neste último ainda classificada como vulnerável (VU) (MMA, 2022; SMA-SP, 2018; SEMARJ, 2018).

Com base em dados de Melo *et al.* (2021), estima-se que a população efetiva remanescente de *C. aurita* seja de aproximadamente 10.000 indivíduos, distribuídos em 176 subpopulações. No entanto, há indicações de redução de pelo menos 50% do tamanho populacional total estimado, ao longo do intervalo de 18 anos da data de coleta de dados (Port-Carvalho e Kierulff, 2009, Bechara, 2012). As maiores ameaças a esta espécie se devem a perda e fragmentação de seu habitat, e a presença de espécies invasoras (Pereira, Oliveira e Ruiz-Miranda, 2008; Pereira, 2010), que além de competirem por espaço, criam zonas propícias à hibridização, contribuindo também para a redução da metapopulação de *C. aurita* (Nogueira *et al*., 2011; Silva *et al*., 2014; Malukiewicz *et al*., 2021).

Para enfrentar os desafios desse cenário, em 2010 foi iniciada a implementação de um amplo programa de conservação para *C. aurita,* com o planejamento estratégico para a conservação de espécies ameaçadas de extinção, conduzido pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, MMA), entrando inicialmente no Plano de Ação Nacional para Conservação dos Mamíferos da Mata Atlântica Central (PAN MAMAC), e, posteriormente, em 2017, no atual Plano de Ação Nacional para Conservação de Primatas da Mata Atlântica e Preguiça-de-coleira (PAN PPMA).

Em 2015 foi estabelecido o livro de registro genealógico (*Studbook*) para a espécie, sob a supervisão da veterinária Claudia Igayara, o qual contou também com a colaboração da Dra. Jennifer Mickelberg, responsável pelo *Studbook* do mico-leão-dourado *Leontopithecus rosalia*. Em 2018, o *Studbook* do sagui-da-serra-escuro foi

reconhecido pelo Centro de Conservação de Primatas (CPB) do ICMBio, em parceria com a Associação de Zoológicos e Aquários do Brasil (AZAB).

#### 1.3.1.3. Reprodução

De acordo com estudos comportamentais em condições *in situ* e *ex situ*, *C. aurita* vive em pequenos grupos de 3 a 7 indivíduos, podendo ocasionalmente chegar a 11 indivíduos, variando de acordo com as condições ambientais e permanecendo por curtos períodos deste tamanho (Muskin, 1983; Torres de Assumpção, 1983; Coimbra-Filho, 1991; Stallings e Robinson, 1991; Corrêa *et al.*, 2000; Oliveira, 2012). Dentro de cada grupo familiar há a presença de múltiplos casais reprodutores, podendo ocorrer tanto a poligenia quanto a poliandria (Carvalho *et al*., 2015). Apesar disso, estudos de indivíduos mantidos em cativeiro e algumas observações na natureza, demonstram uma tendência para existir apenas uma fêmea dominante, a qual pode diminuir ou até mesmo inibir o período fértil das demais fêmeas do grupo, sendo a fêmea dominante a que apresenta maior sucesso reprodutivo (Detogne, 2015; Reis *et al*., 2015).

Dados reprodutivos consideram o gênero como um todo e são descritos para indivíduos de vida-livre que apresentam expectativa de vida em torno de 5 a 7 anos e atingem maturidade sexual entre um ano e um ano e três meses de idade, com manutenção da atividade reprodutiva por cerca de 6 anos. Em geral, os nascimentos ocorrem no início da estação chuvosa, momento mais abundante em recursos alimentares, principalmente de insetos (Muskin, 1983; Corrêia, 1995; Brandão e Develey, 1998). O intervalo de nascimentos dura em média 5 meses, sendo esse um indicativo de ovulação pós-parto, evidenciando um tempo gestacional de 4,7 a 5 meses (Reis *et al*., 2015).

Em ambiente cativo, há relatos de indivíduos que atingiram a idade de 16 a 17 anos (Rothe, Koening e Darms, 1993; Tardif *et al.,* 2003; Ross *et al.,* 2007). Para o gênero, a maioria dos partos é gemelar (Reis, 2015), porém dados de observações de grupos familiares de *C. aurita* reportaram um número maior de nascimentos de um

único filhote por fêmea para a espécie (Corrêia, 1995). Adicionalmente, diferente do relatado para outros calitriquídeos, onde as fêmeas entregam seus filhotes no mesmo dia do nascimento para os demais membros do grupo familiar (Santos e Martins, 2000; Yamamoto *et al.*, 2014), segundo Corrêia (1995) foram observadas fêmeas de *C. aurita* que permaneceram com seus filhotes por cerca de 10 a 28 dias após o nascimento, situação essa possivelmente realizada como uma tentativa de driblar o infanticídio dentro das famílias.

### 1.3.2. Marcadores Moleculares

A utilização de abordagens genéticas como ferramentas de auxílio para a conservação da biodiversidade tem ganhado destaque nos últimos anos, impulsionada pelo desenvolvimento de robustas tecnologias da genética molecular. Essas ferramentas possibilitam uma avaliação da saúde genética de populações e projeções futuras para diversas espécies ameaçadas (Zhang; Hewitt, 2003; Wan *et al.,* 2004; Alliaga-Samanez *et al*., 2023). De acordo com a Teoria Genética da Seleção Natural de Fisher (1930), a taxa evolutiva em uma população é diretamente proporcional à variabilidade genética disponível. Considerando que a biodiversidade e a extinção estão intrinsecamente ligadas à diversidade genética, a genética da conservação tem como objetivo principal manter essa variabilidade nas populações, permitindo sua adaptação a diferentes mudanças e pressões ambientais. Além disso, as análises genético-moleculares contribuem significativamente para a compreensão de aspectos fundamentais da biologia das espécies, fornecendo informações importantes para o manejo e conservação de espécies, incluindo a resolução de questões taxonômicas, a análise da diversidade genética, estrutura populacional e fluxo gênico (Hedrick, 2001; Frankham, Briscoe e Ballou, 2002; Desalle e Amato, 2004). Dentre as principais classes de marcadores moleculares usados nos estudos genético-populacionais estão os microssatélites e a região controle do DNA mitocondrial (*D-loop*).

#### 1.3.2.1. Microssatélite

Os microssatélites são marcadores codominantes, que permitem a diferenciação de indivíduos homozigotos e heterozigotos. Esses marcadores são caracterizados por serem sequências curtas, em geral de 2 a 6 pares de base, repetitivas em tandem, ocorrendo uniformemente em todo o genoma, principalmente em regiões não codificadoras, apresentando assim alta taxa de mutação (Ellegren, 2004). Por se tratar de região altamente repetitiva e polimórfica (Selkoe; Toonen, 2006), os microssatélites se encontram entre os tipos de sequências mais variáveis no genoma, permitindo estimativas de heterozigosidade e detecção de múltiplos alelos, os quais fornecem informações valiosas para avaliações de fluxo gênico, caracterização de diversidade genética, entre outras análises que exploram a história mais recente de diferentes populações (Ellegren, 2004).

Além das características já destacadas, as sequências flanqueadoras dos microssatélites tendem a ser conservadas entre espécies relacionadas, possibilitando a utilização de um marcador específico de uma espécie em outra que seja relacionada (Selkoe & Toonen, 2006). A transferibilidade destes locos tem facilitado estudos de genética populacional de grupos taxonômicos não amplamente estudados ou com poucos dados genéticos disponíveis (Gravena, 2007; Lemes, Orou e Gaoue, 2011), como é o caso da espécie alvo deste trabalho.

#### 1.3.2.2. Região Controle (*D-loop*) do DNA Mitocondrial

O DNA mitocondrial (*mtDNA*) contém genes essenciais ao processo celular de fosforilação oxidativa, tendo sua estrutura formada por uma fita dupla circular composta de 37 genes que codificam para RNAs transportadores e ribossomais assim como para proteínas. Além de estar presente em quase todos os organismos eucariotos, o *mtDNA* possui herança exclusivamente materna, apresentando taxa mutacional elevada, chegando a ser quatro vezes maior do que no DNA nuclear, tornando diversas regiões, principalmente as não codificantes, importantes para análises de evolução e filogenia (Avise, 1994).

Em particular, o marcador *D-loop*, não codificador, se situa na região de controle da replicação, sendo uma sequência muito utilizada principalmente para estudos populacionais e evolutivos, devido ao fato de ser um pequeno fragmento uniparental que apresenta alto polimorfismo intraespecífico (Karaiskou *et al*., 2003), além da falta de recombinação (Wolstenholme, 1992; Marques, 2002). Esta região do *mtDNA*, possui uma terceira fita, denominada 7S, que é frequentemente incorporada à região não codificante, a qual, no processo de replicação, forma um laço, dando a origem do nome "*D-loop*" (Figura 1.3).

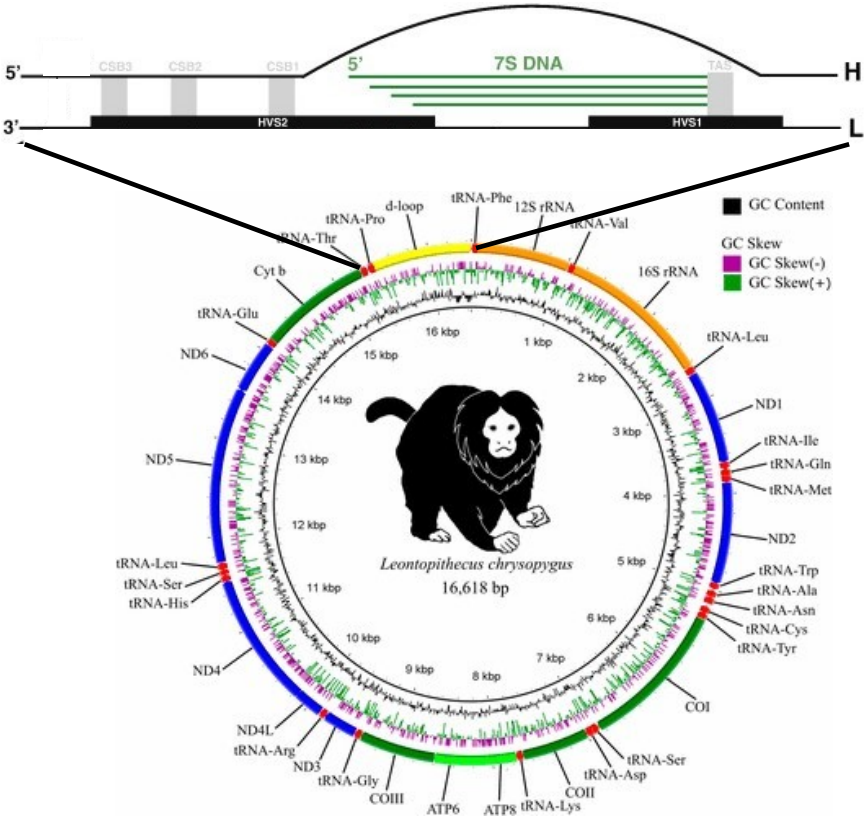



**Figura 1.6.** Ilustração para o genoma mitocondrial completo de Mico-Leão-Preto *Leontopithecus chrysopygus* (Inferior) (Freitas *et al.*, 2018). Estrutura da região não codificante do mtDNA do *D-loop* (Superior) (Nicholls e Minczuk, 2014).

A região *D-loop* se estende aproximadamente da extremidade (OH) 5' do 7S até a sequência de nucleotídeos associada à terminação (TAS), próxima ao gene para tRNAPro, na extremidade 3', conforme ilustrado na Figura 1.3 (Doda *et al*., 1981). A replicação do mtDNA é iniciada nessa região, que também abriga as regiões hipervariáveis (HVI e HVII), conferindo ao *D-loop* uma alta taxa de mutação e uma

variação significativa entre os indivíduos, resultando em mudanças rápidas ao longo do tempo. Além disso, essa região tem mostrado estruturas mais estáveis no mtDNA de animais, sendo abundantemente presente e facilmente amplificada (Nicholls e Minczuk, 2014).

## 1.4 REFERÊNCIAS

Aliaga-Samanez, G. G., Bulhões Javarotti, N., Orecife, G., Chávez-Congrains, K., Pissinatti, A., Monticelli, C., Cristina Marques, M., Galbusera, P., Galetti, P. M., and Domingues de Freitas, P. (2023), Genetic diversity in ex situ populations of the endangered *Leontopithecus chrysomelas* and implications for its conservation. **PLOS ONE**, 18: e0288097. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288097

Avise, J. C. (1994) **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Boston, MA: Springer US, v. 32.

Aximoff, I.; Soares, H.M.; Pissinatti, A.; Bueno, C. (2016) Registros de *Callithrix aurita* (Primates, Callitrichidae) e seus híbridos no Parque Nacional do Itatiaia. **Oecologia Australis**, v. 20, n. 4, p. 520-525.

Ayala-Burbano P.A., Caldano L., Junior P.M.G., *et al.* (2017) Genetic assessment for the endangered black lion tamarin *Leontopithecus chrysopygus* (Mikan, 1823), Callitrichidae, Primates. **Am J Primatol**.

Bechara, I.M. (2012) **Abordagens metodológicas em Biogeografia da Conservação para avaliar risco de extinção de espécies: um estudo de caso com *Callithrix aurita* (Primates: Callitrichidae)**. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Unesp, Jaboticabal, 140p.

BERGALLO, H.G.; ROCHA, C.F.D.; ALVES, M.A.S.; VAN SLUYS, M. (2000) A fauna ameaçada de extinção do Estado do Rio de Janeiro. **1ªed. Ed UERJ (Editora Universidade do Estado do Rio de Janeiro)**, 168p.

Brandão, L.D.; Develey, P.F. (1998) Distribution and conservation of the buffy-tufted-ear marmoset, *Callithrix aurita*, in lowland coastal Atlantic forest, south-east Brazil. **Neotropical Primates**, 6 (3): 86–88.

Brown, K.S.J.; Brown, G.G. (1992) Habitat alteration and species loss in Brasilizan forests. In: WHITMORE, T.C.; SAYER, J.A.(Eds.). Tropical deforestation and species extinction. {s.l.} **Chapman & Hall**, P.119-142.

Buckner, J.C.; Lynch Alfaro, J.W.; Rylands, A.B.; Alfaro, M.E. (2015) Biogeography of the marmosets and tamarins (Callitrichidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, Part B, p. 413-425.

Burbano, P.A.A. (2015) **Variabilidade Genética e Verificação de Paternidade da Colônia Cativa de Mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*) (Primates, Callitrichidae) Utilizando Marcadores Microssatélites**. Dissertação (Mestrado em Genética Evolutiva e Biologia Molecular) - UFSCAR, São Carlos, 100 f.

Carvalho, R.S. (2015) **Conservação do sagüi-da-serra-escuro – *Callithrix aurita* (Primates): uma análise molecular e colorimétrica de populações do gênero Callithrix e seus híbridos**. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Instituto de

Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 213 f.

Coimbra-Filho, A.F. Apontamentos sobre *Callithrix aurita* (E. Geoffroyi, 1812), um sagui pouco conhecido (Callitrichidae, Primates). (1991) p.145–158. **In**: Rylands, A.B.; Bernardes, A.T. (eds.). **A Primatologia no Brasil. Fundação Biodiversitas e Sociedade Brasileira de Primatologia**.

COPAM-MG. (2010) Deliberação Normativa Copam No 147, de 30 de abril de 2010: Aprova a Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna do Estado de Minas Gerais. Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Corrêa, H.K.M. (1995) **Ecologia e comportamento alimentar de um grupo de saguis-da-serraescuros (***Callithrix aurita* **E. Geoffroy, 1812) no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Cunha, São Paulo, Brasil**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais.

Corrêa, H.K.M.; Coutinho, P.E.G.; Ferrari, S.F. (2000) Between-year differences in the feeding ecology of highland marmosets (*Callithrix aurita* and *Callithrix flaviceps*) in southeastern Brazil. **Journal of Zoology**, 252: 421-427.

Coutinho, P.E.G.; Corrêa, H.K.M. (1995) Polygyny in a free-ranging group of buffy-tufted-ear marmosets, *Callithrix aurita*. **Folia Primatologica**, 65 (1): 25-29.

Cunha, V.G.; Dias, P.R.; Mello Filho, R.B.; Nascimento, J.L.; Grelle, C.E.V. (2021) New records of buffy-tufted-ear marmoset *Callithrix aurita* (É. Geoffroy, 1812), in a protected area of Teresópolis, Brazilian Atlantic Forest, Brazil. **Mammalogy Notes**, v.7, n.1.

De Vivo, M. (1991) *Taxonomia de Callithrix Erxleben, 1777 (Callitrichidae, Primates)*. **Fundação Biodiversitas**, 105p.

Desalle, R. e Amato, G. (2004) The expansion of conservation genetics. **Nature** 5: 702-712.

Detogne, G.A. (2015) A Review of Experimental, Natural, and Anthropogenic Hybridization in *Callithrix* Marmosets. **International Journal of Primatology**.

Di Fiore, A. (2009) Population Genetics, Dispersal, and Kinship Among Wild Squirrel Monkeys (*Saimiri sciureus macrodon*): Preferential Association Between Closely Related Females and Its Implications for Insect Prey Capture Success. **International Journal of Primatology**.

Doda, J.N.; Wright, C.T.; Clayton, D.A. (1981) Elucidation of the mechanism of mitochondrial DNA replication in mouse L cells. **Journal of Molecular Biology**, 151(2), 273-306.

Ellegren, H. (2004) Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nat Rev Genet**, 5, 435-445.

Ferrari, S.F.; Corrêa, M.K.M.; Coutinho, P.E.G. (1996) Ecology of the southern marmosets (*Callithrix aurita* and *Callithrix flaviceps*) - How different, how similar? **In**: NORCONK, M.A.; ROSENBERGER, A.L.; GARBER, P.A. (eds.). **Adaptive Radiations of Neotropical Primates**. Plenum Press, p. 157-171.

Ferraz, F.S. (2015) **Morfofisiologia Testicular De Saguis Híbridos De Vida Livre (Callitrichidae: Primatas), Rio De Janeiro - Rj, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2015.

Ford, S.M.; Porter, L.M.; Davis, L.C. (2009) *The Smallest Anthropoids: The Marmoset/Callimico Radiation*. **Springer**, New York, NY.

Formenti, G. *et al*. (2022) The era of reference genomes in conservation genomics. **Trends in Ecology & Evolution**, v.37, n.3, p.197-202.

Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. (2006) **Fundamentos da Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, SP, Editora SBG.

Freitas, P. D. de, Mendez, F. L., Chávez-Congrains, K., Galetti, P. M., Coutinho, L. L., Pissinatti, A., and Bustamante, C. D. (2018), Next-Generation Sequencing of the Complete Mitochondrial Genome of the Endangered Species Black Lion Tamarin *Leontopithecus chrysopygus* (Primates) and Mitogenomic Phylogeny Focusing on the Callitrichidae Family. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, 8: 1985–1991. https://doi.org/10.1534/g3.118.200241

Garber, P.A. (1992) Vertical clinging, small body size, and the evolution of feeding adaptations in the Callitrichinae. **American Journal of Physical Anthropology**, 88: 469–482.

Grelle, C.E.V.; Cerqueira, R. (2006) Determinantes da distribuição geográfica de *Callithrix flaviceps* (Thomas) (Primates, Callitrichidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 23 (2): 414–420.

Groom, B.; Hepburn, C.; Koundouri, P.; Pearce, D. (2005) Declining discount rates: the long and the short of it. **Environmental and Resource Economics**, v.32, p.445-493.

Hancock, J.M. *et al*. (1996) The maintenance of the sequence diversity and structure of microsatellite loci. **Journal of Evolutionary Biology**.

Hedrick, P.W. (2001) Conservation genetics: where are we now? **Trends Ecol. Evol**.

Honnay, O., Jacquemyn, H., Bossuyt, B., and Hermy, M. (2005), Forest fragmentation effects on patch occupancy and population viability of herbaceous plant species. **New Phytologist**, 166: 723-736. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01352.x

Lemes, M. R., Esashika, T., and Gaoue, O. G. (2011), Microsatellites for mahoganies: Twelve new loci for Swietenia macrophylla and its high transferability to Khaya senegalensis. **American Journal of Botany**, 98: e207-e209. https://doi.org/10.3732/ajb.1100074

Lubrecht, D.; Barretto, G.; Dias, I.; Chiarini, A. (2017) O problema da invasão biológica de *Callithrix penicillata* (Primates) na área de ocorrência do *Callithrix aurita*. **In**: Encontro Brasileiro de Primatologia, 17., p. 204-205.

Magalhães, J.V. De; Guimaraes, C.T.; Lanza, M.A.; Schuster, I. (2018) Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Embrapa Milho e Sorgo**.

Malekian, M., Cooper, S. J. B., Saint, K. M., Lancaster, M. L., Taylor, A. C., and Carthew, S. M. (2015), Effects of landscape matrix on population connectivity of an arboreal mammal, Petaurus breviceps. **Ecology and Evolution**, 5: 3939-3953. https://doi.org/10.1002/ece3.1622

Malukiewicz, J. (2019). A Review of Experimental, Natural, and Anthropogenic Hybridization in *Callithrix* Marmosets. **Int J Primatol**, 40, 72–98. https://doi.org/10.1007/s10764-018-0068-0

Malukiewicz, J. *et al*. (2021) Mitogenomic phylogeny of *Callithrix* with special focus on human transferred taxa. **BMC Genomics**. 2021 Apr 6;22(1):239. doi: 10.1186/s12864-021-07533-1. PMID: 33823806; PMCID: PMC8025498.

Martins, M.M. (1999) Forrageio sobre formigas de correição por *Callithrix aurita*: ocorrência sazonal? p.66. **In**: Livro de Resumos do IX Congresso Brasileiro de Primatologia. Santa Teresa, ES. **Sociedade Brasileira de Primatologia**.

Martins, M.M.; Setz, E.Z.F. (2000) Diet of buffy-tufted-eared marmosets (*Callithrix aurita*) in a forest fragment in South-eastern Brazil. **International Journal of Primatology**, 21 (3): 467–476.

Melo, F.R.; Ferraz, D.S.; VALENÇA-MONTENEGRO, M.M.; OLIVEIRA, L.C.; PEREIRA, D.G.; PORT-CARVALHO, M. (2018) *Callithrix aurita*. **In**: Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. ICMBio.

Melo, F.R.; Port-Carvalho, M.; Pereira, D.G.; Ruiz-Miranda, C.R.; Ferraz, D.S.; Bicca-Marques, J.C.; Jerusalinsky, L.; Oliveira, L.C.; Valença-Montenegro, M.M.; Valle, R.R.; da Cunha, R.G.T.; Mittermeier, R.A. (2021) Callithrix aurita (amended version of 2020 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T3570A191700629. https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T3570A191700629.en.

Melo, F.R.; Rylands, A.B. (s.d.) *Callithrix aurita* (Geoffroy in Humboldt, 1812), p.735–737. In: MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. (eds.). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Ministério do Meio Ambiente e Fundação Biodiversitas**.

Mendes, S.L. (1997) **Padrões biogeográficos e vocais em** *Callithrix* **do Grupo** *jacchus* **(Primates, Callitrichidae)**. Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade Estadual de Campinas.

Mishmar, D.; Ruiz-Pesini, E.; Golik, P.; Macaulay, V.; Clark, A.G.; Hosseini, S.; Brandon, M.; Easley, K.; Chen, E.; Brown, M.D.; Sukernik, R.I.; Olckers, A.; Wallace,

D.C. (2003) Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. **Proc Natl Acad Sci USA**.

Mittermeier, R.A.; Coimbra-Filho, A.F.; Constable, I.D.; Rylands, A.B.; Valle, C.M.C. (1982) Conservation of primates in the Atlantic forest region of eastern Brazil. **Int Zoo Yearb**.

MMA, Ministério do Meio Ambiente. (2003) Instrução Normativa N° 003, de 27 de maio de 2003. Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. Diário Oficial da União. Seção 1, 101, 28: 88–97.

Muskin, A. (1983) Preliminary field observations of *Callithrix aurita* (Callitrichinae, Cebidae), p.79–82. In: DE MELLO, M.T. (ed.). A Primatologia no Brasil. **Sociedade Brasileira de Primatologia**.

Muskin, A. (1984) Field notes and geographical distribution of *Callithrix aurita* in eastern Brazil. **American Journal of Primatology**, 7: 377–380.

Myers, N. *et al*. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858.

Nagamachi, C.Y.; Pieczarka, J.C.; Muniz, J.A.P.C.; Barros, R.M.S.; Mattevi, M.S.; Schwarz, M.; Barros, R.M.S.; Mattevi, M.S. (1997) Comparative chromosomal study of five taxa of genus *Callithrix*, group jacchus (Playtrrhini, Primates). **American Journal of Primatology**, 41: 53–60.

Nagamachi, C.Y.; Pieczarka, J.C.; Muniz, J.A.P.C.; Barros, R.M.S.; Mattevi, M.S. (1999) Proposed chromosomal phylogeny for the South American primates of the Callitrichidae family (Platyrrhini). **American Journal of Primatology**, 49: 133–152.

Nicholls, T.J.; Minczuk, M. (2014) In D-loop: 40 years of mitochondrial 7S DNA. **Exp Gerontol**.

Nievergelt, C., Mundy, N. Woodruff. D. (1998) Microsatellite primers for genotyping common marmosets (*Callithrix jacchus*) and other callitrichids. **Molecular Ecology**, 7: 1431-1439.

Oliveira, A.B.L. (2012) **Presença ou ausência do** *Callithrix aurita* **em fragmentos de Mata Atlântica – formando uma estratégia de conservação da biodiversidade para o município de Sapucaia – RJ – Brasil**. Dissertação (Mestrado em Gestão e Conservação dos Recursos Naturais). Universidade Técnica de Lisboa, 57p.

Oliveira, M.L.; Mendes, S.L. (2011) O uso de vocalizações em estudos populacionais do *Callithrix aurita* (Primates, Callitrichidae). **In**: Congresso Brasileiro de Zoologia, 28., **Resumos**. Brasília: Universidade de Brasília.

Olmos, F.; Martuscelli, P. (1995) Hábitat and distribution of the buffy-tufted-ear marmoset *Callithrix aurita* in São Paulo State, Brazil, with notes on its naturais history. **Neotropical Primates**, 3 (3): 75–79.

PCSS. (2014) **Programa de Conservação dos Saguis-da-Serra**. Disponível em: https://www.mountainmarmosetsconservation.com/nossa-missao. Acesso em: 28 maio 2022.

Pereira, D.G. (2006) **Calitriquídeos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ: interações entre espécies exóticas invasoras e espécies nativas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Federal Fluminense, 76p.

Pereira, D.G. (2010) **Densidade, genética e saúde populacional como ferramentas para propor um plano de controle e erradicação de invasão biológica: o caso de *Callithrix aurita* (Primates) no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ, Brasil**. Tese (Doutorado em Meio Ambiente). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 158p.

Pereira, D.G.; Oliveira, M.E.A.; Ruiz-Miranda, C.R. (2008) Interações entre calitriquídeos exóticos e nativos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ. **Espaço & Geografia**, 11 (1): 67–94.

Perez-Sweeney, B. M.; Valladares-Padua, C.; Burrell, A. S.; Di Fiore, A.; Satkoski, J.; Van Coeverden De Groot, P. J.; Melnick, D. J. (2005) Dinucleotide microsatellite primers designed for a critically endangered primate, the black lion tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*). **Molecular Ecology**, v. 5, n. 2, p. 198–201.

Piñero, D., Caballero-Mellado, J., *et al*. (2008) La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad. **Capital natural de México I: Conocimiento actual de la biodiversidad**. 437-494.

Port-Carvalho, M.; Kierulff, M.C.M. (2009) *Callithrix aurita* (É. Geoffroy, 1812) Primates, Callitrichidae, p.46. In: BRESSAN, P.M.; KIERULFF, M.C.M.; SUGIEDA, A.M. (eds.). Fauna Ameaçada de Extinção no Estado de São Paulo: Vertebrados. **Fundação Parque Zoológico de São Paulo e Secretaria do Meio Ambiente**.

Primack, R.B. (2010) Essentials of Conservation Biology. 5. ed. **Sunderland, MA: Sinauer Associates**, Inc., 23 Plumtree Road, p.538.

PROJETO AURITA UFV - CCSS. (2021) **O sagui-da-serra-escuro**. Disponível em: https://www.matanativa.com.br/sagui-da-serra-escuro/. Acesso em: 28 maio 2022.

Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Batista, C.B.; Rosa, G.L.M. (2015) Primatas do Brasil: guia de campo. Rio de Janeiro: **Technical Books**.

Rodrigues, F. M. (2008) **Transferibilidade de Marcadores STR para duas Espécies de Canídeos do Cerrado Brasileiro**. Dissertação (Doutorado em Genética) - UFG, Chapadão do céu, 153 f.

Rosa, A.J.M.; Paiva, S.R. (2009) Marcadores Moleculares e suas Aplicações em Estudos Populacionais de Espécies de Interesse Zootécnico. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 35 p.

Ross, C.N.; Fite, J.E.; Jensen, H.; French, J.A. (2007) Demographic review of a captive colony of callitrichids (*Callithrix kuhlii*). **American Journal of Primatology**, 12: 481-502.

Roth, K.H.; Koening, A.; Darms, K. (1993) Infant survival and number of helpers in captive groups of common marmosets (*Callithrix jacchus*). **American Journal of Primatology**, v. 30, n. 2, p. 131-137.

Rylands, A.B.; Kierulff, M.C.M.; Mendes, S.L.; De Oliveira, M.M. (2008) *Callithrix aurita*. **The IUCN Red List of Threatened Species**.

Santos, C. V. (1994) **Estudo comparativo do cuidado parental e desenvolvimento de filhotes de calitriquideos (*Callithrix e Leontopithecus*) em função do tamanho do grupo**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

Santos, C.V.; Martins, M.M. (2000) Parental care in the buffy-tufted-ear marmoset (*Callithrix aurita*) in wild and captive groups. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 4, p. 667-672.

Schwitzer, C. *et al.* (eds.). (2019) *Primates in Peril: The World's 25 Most Endangered Primates 2018–2020*. **IUCN SSC Primate Specialist Group**, International Primatological Society, Global Wildlife Conservation, and Bristol Zoological Society, Washington, DC, 130p.

Selkoe, K.A.; Toonen, R.J. (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letters**.

SEMARJ. (2018) Lista das Espécies da Fauna Ameacada de Extincao do Estado do Rio de Janeiro. **Instituto Life**. Disponível em: https://institutolife.org/wp-content/uploads/2018/11/Lista-da-Fauna-Ameacada-de-Extincao-RJ.pdf. Acesso em: 20 jun. 2023.

Silva, F.F.R. (2014) **Distribuição do gênero *Callithrix* no estado de Minas Gerais: introdução de espécies e hibridação**. Dissertação (Pós-Graduação em Biologia Animal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 120 f.

Silva, M.O.M. (2018) **Análise fenotípica e genética em indivíduos de *Callithrix* (Callitrichidae – Primates) de vida livre: uma proposta de plano de manejo para a conservação da biodiversidade**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 134p.

SMA-SP. (2014) Decreto No 60.133 de 7 de fevereiro de 2014. Declara as espécies da fauna silvestre ameaçadas de extinção, as quase ameaçadas e as deficientes de dados para avaliação no Estado de São Paulo e dá providências correlatas. Disponível em: Decreto No 60.133 de 7 de fevereiro de 2014.

Smith, T.E.; Schaffner, C.M.; French, J.A. (1997) Social and developmental influences on reproductive function in female Wied's black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). **Hormone Behaviour**, v.31, p.159–168.

Souza, M.F.R.; De Queiroz, B.V.; Chaguri, A.; Salgado, M.; De Campos Velho, N.M.R. (2020) Análise comportamental de um grupo de *Callithrix aurita* (É. Geoffroy, 1812) cativo. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 3, p. 6442-6457.

Stallings, J.R.; Robinson, J.G. (1991) Disturbance, forest heterogeneity and primate communities in a Brazilian Atlantic Forest Park. p.357–368. In: RYLANDS, A.B.; BERNARDES, A.T. (eds.). **A Primatologia no Brasil 3**. Sociedade Brasileira de Primatologia.

Tardif, S.D.; Smucny, D.A.; Abbott, D.H.; Mansfiled, K.; Schultz-Darken, N.; Yamamoto, M.E. (2003) Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Comparative Medicine**, v.53, n.4, p.364–368.

Torres De Assumpção, C. (1983) **An ecological study of the primates of southeastern Brazil, with a reappraisal of *Cebus apella* races**. Tese (Doutorado em Zoologia). University of Edinburgh, 337p.

Tóth, A.; Rabitsch, K.P.; Gálová, M.; Schleiffer, A.; Buonomo, S.B.; Nasmyth, K. (2000) Microsatellite markers for molecular ecology. **International Journal of Molecular Sciences**.

Veríssimo, A.P. (2013) **Estrutura e dinâmica de habitat de um grupo de *Callithrix aurita* na Mata Atlântica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal de São Carlos.

Wan, X. *et al.* (2004) Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. **Molecular Ecology**.

Yamamoto, M.E. *et al*. (2014) A Review of Experimental, Natural, and Anthropogenic Hybridization in *Callithrix* Marmosets. **International Journal of Primatology**.

Zane, L., Bargelloni, L., and Patarnello, T. (2002), Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, 11: 1-16. https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01418.x

Zhang, D.X.; Hewitt, G.M. (2003) Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. **Molecular Ecology**.