

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/12/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**“CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DE UMA POPULAÇÃO
DO GÊNERO *Callithrix* DO SUDESTE DO BRASIL”**

BRUNA MENDONÇA SANTOS

**BOTUCATU, SP
Novembro, 2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**“CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E MORFOLÓGICA DE UMA POPULAÇÃO
DO GÊNERO *Callithrix* DO SUDESTE DO BRASIL”**

BRUNA MENDONÇA SANTOS

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Animais Selvagens, área de Clínica-Cirúrgica, Saúde e Meio Ambiente, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, campus de Botucatu, como parte dos critérios para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Ass. Lígia Souza Lima Silveira da Mota

**BOTUCATU, SP
Novembro, 2021**

S237c Santos, Bruna Mendonça
Caracterização genética e morfológica de uma população do gênero *Callithrix* do Sudeste do Brasil. / Bruna Mendonça Santos. -- Botucatu, 2021
47 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientadora: Lígia Souza Lima Silveira da Mota

1. Primatas. 2. Híbridos. 3. Hibridação antropogênica. 4. Biologia molecular. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os jovens cientistas brasileiros que têm desenvolvido seu trabalho com muito esforço e persistência, mesmo em meio ao crescente corte de verbas que busca diminuir a qualidade de nossa educação e pesquisas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Universo, por todas as possibilidades ofertadas a mim e pelo caminho que tem me guiado, o qual se mostrou tão complexo e belo.

Agradeço à minha família e amigos pelo apoio nesta jornada cheia de curvas, pelos ouvidos atentos e braços abertos quanto às minhas queixas, titubeações e pequenas vitórias.

Agradeço também a minha orientadora, Dra. Lígia Mota, por ter me acolhido em uma área onde eu não tinha conhecimento algum, e me ensinou por meio de palavras e exemplos, desde técnicas laboratoriais e escrita acadêmica, até a persistência que uma cientista e educadora devem ter.

Sou muito grata por ter integrado o Laboratório de Genética Animal (LGA) e ter conhecido pessoas incríveis que sempre me ajudaram em todas as etapas do meu projeto, se mostrando solícitas. A vida acadêmica tem seus percalços, mas estes são muito mais fáceis de enfrentar ao lado de companheiros gentis e resilientes, que te fazem sentir confortável e bem-vinda todo o tempo.

Agradeço à UNESP e ao JBMB por terem aceito a mim e ao meu projeto, bem como fornecido suporte para realização do mesmo.

Agradeço aos funcionários de ambas as instituições e todos que colaboraram financeiramente para que esta dissertação fosse concluída.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal forma que, num dado momento, a tua fala seja a tua prática.

Paulo Freire

SANTOS, B. M. Caracterização genética e morfológica de uma população do gênero *Callithrix* do Sudeste do Brasil. Botucatu, 2021. 47p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Os sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) e sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) são espécies endêmicas do Nordeste e do Centro-Oeste e parte do Nordeste, respectivamente, no Brasil. Atualmente ambas espécies estão distribuídas em diferentes regiões do país. A introdução de animais exóticos é a segunda maior causa de perda de biodiversidade no mundo e pode impulsionar a hibridação. Em Bauru, São Paulo (SP), há registro de ambas espécies, bem como animais apresentando padrões intermediários entre estas. Assim, este trabalho visou identificar indivíduos do gênero *Callithrix* presentes no Jardim Botânico Municipal de Bauru (JBMB) quanto à classificação pura ou híbrida, por meio de marcadores morfológicos e moleculares. Foram amostrados 10 indivíduos, sendo 4 de espécies puras para controle e 6 de vida livre, os quais foram fotografados, medidos morfometricamente e dos quais foram amplificados fragmentos dos genes mitocondriais COI e a região D-loop. Como resultado, todos os animais mostraram padrões intermediários entre ambas as espécies, as sequências obtidas para D-loop mostraram uma alta diversidade haplotípica (h), baixa diversidade nucleotídica (π) e valores de F_s de F_u e D de Tajima não significantes, logo é possível inferir que os animais estudados continuam recebendo fluxo gênico e que a população se iniciou a partir de um efeito fundador. Dados morfológicos e moleculares indicam que os indivíduos amostrados são híbridos. A partir dos dados gerados por esta pesquisa, é possível inserir o manejo destes animais na Unidade de Conservação (UC), com o intuito principal de evitar o crescimento da população e consequências decorrentes.

SANTOS, B. M. Caracterização genética e morfológica de uma população do gênero *Callithrix* do Sudeste do Brasil. Botucatu, 2021. 47p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The Common marmoset (*Callithrix jacchus*) and Black-tufted marmoset (*Callithrix penicillata*) are endemic species in the Northeast, East Central and part of the Northeast, respectively in Brazil. Currently, both species are distributed in different regions of the country. The introduction of exotic animals is the second biggest cause of biodiversity loss in the world and can lead to hybridization. In Bauru, São Paulo (SP), there is a record of both species, as well as animals showing intermediate patterns between them. Thus, this work aimed to identify individuals of the genus *Callithrix* present in The Municipal Botanical Garden of Bauru (MBGB) as pure or hybrids, through morphological and molecular markers. Ten individuals were sampled, 4 of which were pure species for control and 6 free-living, which were photographed, morphometrically measured and from which the fragments of the mitochondrial genes COI and D-loop region were amplified. As results, all animals showed intermediate patterns between both species. After analyzing the sequences obtained for D-loop and obtaining a high haplotypic diversity (h), low nucleotide diversity (π), Tajima D and Fu's F_s statistic, it is possible to infer that the animals in the area continue receiving gene flow and the population began from a founder effect. Morphological and molecular data indicate that the individuals sampled are hybrids. From the data generated by this research, it is possible to include the management of these animals in the Conservation Unit (UC), with the main purpose of avoiding population growth and its outcomes.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figure 1:** The delimitation of Municipal Botanical Garden of Bauru and sample capture area highlighted in a red circle15
- Figure 2 (C1 to C8):** *Callithrix* sp. samples showing intermediate characteristics between *Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*21
- Figure 3:** Individuals C2 and C6 showing pattern differences on their bodies and tails.....22
- Figure 4:** Haplotype (H) network for *Callithrix* sp. based on a 795 base pair (bp) sequence of the mitochondrial DNA control region (D-loop). Circle size is proportional to haplotype frequency. The haplotypes correspond to H1 (C1 and C3), H2 (C4), H3 (C7), H4 (C8), H5 (CH195), H6 (CJ156) and H7 (M99, M108 and M177) respectively.....23

CAPÍTULO III

- Figura 1** - Espécimes característicos das espécies sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*) e sagui-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*), respectivamente.....33
- Figura 2** - Distribuição espacial das espécies *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*.....34

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO II

- Table 1:** Biometrical data from the MBGB individuals 20
- Table 2:** Variable sites found in 7 haplotypes (H) of *Callithrix* sp. The first 6 sequences belong to hybrids (from MBGB and Cempas), the others belong to 1 *Callithrix jacchus* (from CEMPAS) and 3 *Callithrix penicillata* (from Sagui Legal) respectively.....30

ABREVIATURAS E SIGLAS

APA – Área de Proteção Ambiental

COI - Citocromo C oxidase subunidade I

cm - centímetros

D-loop – região controle do DNA mitocondrial

g - gramas

h – diversidade haplotípica

HHV-1 - Herpes simplex -1

HVR1/HVR2 - Hypervariable region 1; hypervariable region 2.

IUCN - International Union for Conservation of Nature and Natural Resources.

JBMB ou MBGB – Jardim Botânico Municipal de Bauru; Municipal Botanical Garden of Bauru

MMA – Ministérios do Meio Ambiente

mtDNA – DNA mitocondrial

nDNA – DNA nucleico

PNH ou NHP – primata(s) não-humano(s); non human primates

RVS – Refúgio de Vida Silvestre

SNUG – Sistema Nacional de Unidades de Conservação (National System of Conservation Units)

UC – Unidade de Conservação

π – diversidade nucleotídica

$\approx$ - aproximadamente

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	06
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	06
2. OBJETIVOS	08
2.1. Gerais	08
2.2. Específicos	08
 CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTIFICO	 10
Abstract	11
Introduction	12
Methods	15
Results	19
Discussion	24
References	27
 CAPÍTULO III – REVISÃO DE LITERATURA	 31
1. PRIMATAS	31
2. GÊNERO <i>CALLITHRIX</i>	32
2.1. <i>Callithrix</i> sp. como exóticos e invasores	32
3. HIBRIDAÇÃO	35
4. BIOLOGIA MOLECULAR	36
4.1. Marcadores mitocondriais	37
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS	38

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os saguis são primatas pertencentes ao gênero *Callithrix* (Erxleben, 1777) e estão restritos ao território brasileiro (NAKAMURA, 2009). *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) e *Callithrix penicillata* (Étienne Geoffroy, 1812) são animais de pequeno porte e podem ser encontrados em matas ciliares, florestas de galeria, florestas semidecíduas, cerrado e em contato com áreas urbanas, adequando-se aos locais com atividade antrópica (AHLBORN, ROTHE, 1999; MIRANDA, FARIA, 2001; NAKAMURA, 2009). Atualmente, de acordo com a IUCN (International Union for Conservation of Nature - União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais), possuem *status* pouco preocupante (LC – Least Concern), apesar das populações estarem em declínio.

Indivíduos pertencentes à espécie *C. penicillata* (Sagui-de-tufo-preto) são considerados endêmicos da região Centro-Oeste e parte do Nordeste do Brasil, ocorrendo comumente nas áreas de Cerrado e Mata Atlântica (floresta semidecídua e floresta pluvial perenifólia atlântica), além de Caatinga (DE VIVO, 1991; SILVA, SILVA, TERRA, 2018), enquanto, os indivíduos *C. jacchus* (Sagui-de-tufo-branco), são endêmicos da região Nordeste do Brasil, estando hoje distribuídos também pelas regiões Norte e Sudeste do país (MALUKIEWICZ et al., 2014). A distribuição atual destas espécies por diferentes regiões do país se dá principalmente por serem animais frequentemente traficados e vendidos como pet (LEVACOV, JERUSALINSKY, FIALHO, 2011).

A introdução de animais exóticos pode interferir no ambiente de diversas formas, alterando processos ecológicos importantes, sendo considerada a segunda maior causa de perda de biodiversidade no mundo (VITOUSEK et al., 1997; PEREIRA et al., 2005; SILVA, 2009). Tal introdução de espécies em áreas não naturais pode inclusive impulsionar a ocorrência de hibridação. A

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, R., ALBACH, D., ANSELL, S., ARNTZEN, J. W., BAIRD, S. J. E., et al (2013). Hybridization and speciation. **Journal of Evolutionary Biology**, 26(2), 229–246.

AGUIAR TEREZA D'ÁVILA DE FREITAS, COSTA EDMARA CHAVES, ROLIM BENEDITO NEILSON, ROMIJN PHYLLIS CATHARINA, DE MORAIS NÉLIO BATISTA, TEIXEIRA MARIA FÁTIMA DA SILVA. Risco de transmissão do vírus da raiva oriundo de sagui (*Callithrix jacchus*), domiciliado e semidomiciliado, para o homem na região metropolitana de Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2011 mai-jun;44:356-363.

AHLBORN, S.; ROTHE, H. Food selection of semifree common marmosets (*Callithrix jacchus*): Indications for optimal foraging. **Primates**, v. 40, n. 3, p. 479–486. 1999.

ANDREA, M. V. et al. Análise do complexo sinaptonêmico de *Tayassu pecari* (queixada) e de um híbrido entre *T. pecari* e *T. tajacu* (cateto). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, n. 3, p. 104, 1996.

ANDREA, M. V. et al. Genética e Espermatogênese de *Tayassu tajacu* (cateto) e *Tayassu pecari* e de um híbrido interespecífico. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, n. 3, p. 76, 1997.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Chapman and Hall, New York, 511 p. 1994.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition)**. Sinauer, Sunderland, MA, 684 p. 2004.

BEGOTTI, R. A.; LANDESMANN, L. F. Predação de ninhos por um grupo híbrido de sagüis (*Callithrix jacchus/penicillata*) introduzidos em área urbana: implicações para a estrutura da comunidade. **Neotropical Primates**, v. 15, n. 1, p. 28-29, 2008.

BUCKLIN, A.; STEINKE, D.; BLANCO-BERCIAL, L. DNA barcoding of marine metazoa. **Annu. Rev. Mar. Sci.** v. 3, p. 471-508, 2011.

CARDOSO, V. S. **O Programa de Educação Ambiental do Jardim Botânico Municipal de Bauru (Bauru-SP): a busca por uma identidade**. 2013. 153 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências, 2013.

CASAGRANDE RENATA A., PANNUTI CLÁUDIO S., KANAMURA CRISTINA, FREIRE WILTON S., GRESPAN ANDRÉ, MATUSHIMA ELIANA R. Fatal Human herpesvirus 1 (HHV-1) infection in captive marmosets (*Callithrix jacchus* and *Callithrix penicillata*) in Brazil: clinical and pathological characterization. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2014 novembro;34:1109-1114.

CORTÉS-ORTIZ LILIANA, ROOS CHRISTIAN, ZINNER DIETMAR. Introduction to Special Issue on Primate Hybridization and Hybrid Zones. **International Journal of Primatology**. 2019;40:1-8.

DE CASTRO CARLA SORAIA SOARES, ARAÚJO ARRILTON. Diet and feeding behavior of marmoset, *Callithrix jacchus*. **Revista Brasileira de Ecologia**. 2007;

DE VIVO, M. Taxonomia de *Callithrix* (Erxleben, 1777) (Callitrichidae, Primates). Belo Horizonte, **Fundação Biodiversitas**, v. 105, p. 1991.

DE PAULA, H. M. G. et al. Estudos Preliminares da Presença de Sagüis no Município de Bauru, São Paulo, Brasil. **Neotropical Primates**, Bauru, v. 13, n. 3, p. 6-11, 2005.

DETWILER, K. M., BURRELL, A. S., & JOLLY, C. J. (2005). Conservation implications of hybridization in African cercopithecine monkeys. *International Journal of Primatology*, 26(3), 661–684.

FERAL, J. P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, p. 121-145, 2002.

FLEAGLE, J. G.; SEIFFERT, E. R. The Phylogeny of Primates. **Evolutionary Neuroscience**. 2020.

GARBER, P. A. et al. **South American primates, comparative perspectives in the study of behavior, ecology, and conservation**. New York: Springer, 2009. 531 p.

HICKMAN JR. CLEVELAND P., ROBERTS LARRY S., KEEN SUSAN L., EISENHOUR DAVID J., LARSON ALLAN, L'ANSON HELEN. **Princípios Integrados de Zoologia**. 16th ed. Guanabara Koogan; 2017. 3123 p.

IUCN, **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2021. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 28, fevereiro, 2021.

JACK, K. M.; ISBELL, L. A. Dispersal in Primates: Advancing an Individualized Approach: Preface. **Behaviour**. 2009;146:429-436.

KEARNS, A. M., RESTANI, M., SZABO, I., SCHRØDER-NIELSEN, A., KIM, J. A., et al (2018). Genomic evidence of speciation reversal in ravens. **Nature Communications**, 9(1), 906.

LAU, C. H. et al. Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): mitochondrial DNA D-loop and cytochrome b sequence variation. **Animal Genetics**, v. 29, p. 253-264, 1998.

LEVACOV DIANA, JERUSALINSKY LEANDRO, FIALHO MARCOS DE SOUZA. Levantamento dos primatas recebidos em centros de triagem e sua relação com o tráfico de animais silvestres no Brasil. **A Primatologia no Brasil**; 2011; Belo Horizonte, MG. 2011. 32 p. v. 11.

LOIOLA, S. et al. Barcode analysis using mini-amplicons strategy for museum samples of neotropical primates *Callithrix* spp. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 5, p. e225-e227, 2015.

LYRA-NEVES, R. M. D. et al. Interspecific behaviour between *Callithrix jacchus* (Linnaeus) (Callitrichidae, Primates) and some birds of the Atlantic forest, Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, p. 709–716, 2007.

MALUKIEWICZ, J. et al. 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**, 2014.

MIRANDA, G. H. B. de; FARIA, D. S. de. Ecological aspects of black-pincelled marmoset (*Callithrix penicillata*) in the cerrado and dense cerrado of the Brazilian Central Plateau. **Brazilian Journal of Biology**. São Carlos, v. 61, n. 3, 2001.

MMA, Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Espécies exóticas invasoras: situação brasileira**. Brasília: MMA, 2006. 24 p. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/174/_publicacao/174_publicacao17092009113400.pdf Acesso em: 22 de maio 2019.

NAKAMURA, E. M. **Convívio entre saguis e pessoas: experiências no Parque Ecológico do Córrego Grande e Entorno, Florianópolis - SC**. 2009. 66 p. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis, 2009.

NOVAES, C. M. **Análise cariotípica de saguis híbridos do gênero *Callithrix* no Sudeste brasileiro**. 2014. 62 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2014.

NUNES, A. M. **Ecologia cognitiva e forrageio social em híbridos de *Callithrix penicillata* x *Callithrix jacchus* (Primates: Cebidae: Callitrichinae) introduzidos na ilha de Santa Catarina**. 2006. 55 p. Dissertação (mestrado), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

PEREIRA, D. G. et al. Impactos de espécies exóticas invasoras sobre espécies nativas: o caso dos calitriquídeos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. In: **Simpósio Brasileiro Sobre Espécies Exóticas Invasoras**, 2005, Brasília, DF. Sessão de Painéis.

PERIC, M. et al. Review of Croating Genetic Heritage as Revealed by Mitochondrial DNA and Y Chromosomal Lineages. **Croat Med J**, v. 46, n. 4, p. 502-513, 2005.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. 2001. **Biologia da Conservação**, Editora Planta, Londrina, 2001, 327p.

RUIZ-MIRANDA C, AFFONSO A, DE MORAIS M, VERONA C, MARTINS A, BECK B. Behavioral and ecological interactions between reintroduced golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia* Linnaeus, 1766) and introduced marmosets (*Callithrix* spp, linnaeus, 1758) in Brazil's Atlantic coast forest fragments. **Braz Arch Biol Techn**. 2006; 49: 99–109.

SANTOS B. M., CARDOSO V.S., KNOLL F.R.N., Análise Etológica Da Interação Entre Pessoas E Saguís (*Callithrix*). Anais Da XII JOIA - Jornada De Integração Dos Os Alunos Da Graduação E Pós-Graduação. 2020.

SILVA, D. F.; SILVA, E. B.; TERRA, A. P. Controle populacional de espécies silvestres invasoras por meio de laqueadura e vasectomia em primatas *Callithrix penicillata*: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, v. 25, n. 1, p. 9-15, 2018.

SILVA, G. L. **Avaliação dos impactos causados pela introdução do Saguí-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*) sobre a comunidade de aves e serpentes nativas do interior de SP.** Anuário da produção de iniciação científica discente. Faculdade Anhanguera de Bauru, Bauru, v. 12, n. 15, p. 29-37, 2009.

SOUZA, R. C. C. L.; CALAZANS, S. H.; SILVA, E. P. Impacto das espécies invasoras no ambiente aquático. **Ciência e Cultura**, v. 61, n. 1, p. 35-41, 2009.

VITOUSEK, P. M. et al., Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. **Issues in Ecology**, v.1, p. 1-16, 1997.