

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS
BRASILEIROS
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-PIBIC/ICMBio**

**Estudo da variabilidade cariotípica de animais do gênero *Cebus*
encontrados no Centro de Triagem de Animais Silvestres – CETAS/PB**

**Emanuella Felix Moura
Amely Branquinho Martins**

João Pessoa
Agosto/2009

RESUMO

Atualmente os primatas neotropicais (infra-ordem Platyrrhini) estão distribuídos em uma vasta região do Novo Mundo e estão agrupados em cinco famílias: Aotidae, Atelidae, Callitrichidae, Cebidae e Pitheciidae. O gênero *Cebus* (Erxleben, 1777) agrupa os primatas neotropicais conhecidos popularmente como macacos-prego ou caiararas, sendo considerado um dos grupos com taxonomia mais confusa entre os mamíferos neotropicais. A espécie *Cebus kaapori*, que está ameaçada de extinção, possui uma das menores áreas de distribuição geográfica entre as espécies do gênero e, nunca foi alvo de um estudo ecológico ou comportamental específico. As primeiras tentativas para identificação de cariótipos ancestrais de mamíferos foram baseadas em semelhanças dos padrões de bandamento cromossômico entre espécies distantemente relacionadas. O presente trabalho teve por objetivo analisar o cariótipo da espécie *Cebus kaapori* Queiroz, 1992. Foram coletadas amostras de sangue periférico de *Cebus kaapori* provenientes do CETAS/IBAMA de Alagoas. As células em suspensão foram obtidas através de uma cultura temporária de linfócitos. Foram analisados três indivíduos da espécie *Cebus kaapori* utilizando a técnica citogenética tradicional de coloração convencional. No total, foram preparadas e analisadas 40 lâminas, onde 68 metáfases foram encontradas. O cariótipo para *Cebus kaapori*, pela primeira vez descrito na literatura, apresentou $2n = 52$ e $NF = 72$, possuindo 25 pares de autossomos, sendo esses constituídos por 7 pares de cromossomos submetacêntricos, 2 metacêntricos, 16 acrocêntricos, além do par de cromossomos sexuais submetacêntrico. Os resultados obtidos podem contribuir para a revisão taxonômica do gênero, para o fornecimento de informações para futuros estudos da espécie.

Palavras-chave: *Cebus kaapori*, citogenética.

ABSTRACT

Currently, the neotropical primates (Platyrrhini infra-order) are distributed in a large region of the New World and they are grouped in five families: Aotidae, Atelidae, Callitrichidae, Cebidae and Pitheciidae. The genus *Cebus* (Erxleben, 1777) belong to the new world primates popularly named capuchin monkeys and *caiararas* is considered the most complex group of neotropical mammals. *Cebus kaapori* Queiroz, 1992 is a threatened specie that has one of the smallest geographic distribution area than other *Cebus* species. This taxon was never target of long-term behavioral or ecological studies. Many tools, like cytogenetics, can be used to assist the knowledge of *Cebus* evolutionary processes. Therefore, this work aims to analyze the *Cebus kaapori* karyotype. Blood samples were collected by specimens found in the CETAS/IBAMA from Alagoas. It was performed a temporary lymphocytes culture to obtain cells in suspension. Conventional staining was applied and the most informative metaphases were photographed to assembly the karyotypes. It was analyzed 3 specimens of *C. kaapori* and 68 metaphases. This specie karyotype were firstly described in the literature and presented $2n=52$ e $FN=72$ distributed in 25 pairs of autosomes (7 pairs of submetacentric, 2 metacentric, 16 acrocentric and 1 pair of submetacentric sexual chromosomes). Our results can support future studies with taxonomy, regional breeding groups and cytogenetic.

Keywords: *Cebus kaapori*, cytogenetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Cebus kaapori</i>	12
Figura 2: Distribuição de <i>Cebus kaapori</i>	13
Figura 3: Cariótipo de uma fêmea de <i>Cebus kaapori</i>	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização das amostras.....	16
Tabela 2: Exemplares processados e analisados, número de exemplares, sexo (M= macho, F= fêmea) e procedência dos exemplares	20

SUMÁRIO

1	Introdução	6
1.1	Primatas Neotropici.....	6
1.2	Gênero <i>Cebus</i>	7
1.2.1	Aspectos Gerais e Taxonomia.....	7
1.3	<i>Cebus kaapori</i>	10
1.4	Citogenética.....	14
2	Material e Métodos.....	16
2.1	Caracterização dos indivíduos.....	16
2.2	Captura dos animais e Coleta das amostras	16
2.3	Obtenção de células em suspensão	17
2.4	Técnica de Coloração	18
2.5	Bandamento G	18
2.6	Análise das lâminas e fotografia das metáfases	18
2.7	Montagem dos cariótipos	19
2.8	Análise dos cariótipos.....	19
3	Resultados	20
3.1	Exemplares processados e analisados	20
3.2	Análise das lâminas	20
3.3	Análise dos cariótipos.....	20
4	Discussão	23
5	Conclusões	26
6	Agradecimentos	27
7	Referências Bibliográficas	28

1 Introdução

1.1 Primatas Neotropicais

Dentro da ordem Primates, a sub-ordem Anthroidea compreende os primatas símios do Novo Mundo (infra-ordem Platyrrhini) e do Velho Mundo (infra-ordem Catarrhini), separando-os dos pro-símios, sub-ordem Prosimii. As famílias de Platyrrhini, que significa nariz chato, constituem a super-família Ceboidea (ROWE, 1996; GOODMAN *et al.*, 1998).

A infra-ordem Platyrrhini (primatas neotropicais ou macacos do Novo Mundo) representa o táxon com o maior número de espécies entre os primatas (RYLANDS, *et al.*, 2000), onde este grupo apresenta um grande espectro de modificações morfológicas e comportamentais, o que às vezes dificulta a determinação das características morfológicas homólogas (FLEAGLE, 1988). Este grupo é considerado monofilético da infra-ordem Catarrhini, que une macacos do Velho Mundo, Grandes Macacos e Humanos (NOWAK, 1999).

Dados moleculares sugerem que o início da divergência entre Platyrrhini e Catarrhini ocorreu entre 35 e 50 milhões de anos atrás (STEIPER e YOUNG, 2006) e a análise dos fósseis indica que a maioria das linhagens já se encontrava diferenciada desde o Mioceno (FLEAGLE, 1988). Ainda não se sabe como os macacos do Novo Mundo colonizaram a América do Sul, entretanto, sabe-se que sua origem é africana, mas quando esses primatas apareceram na América do Sul os continentes da África e América do Sul já haviam sido separados (GRAPHODATSKY, 2007).

Existem diversas sugestões sobre a classificação e agrupamento dos gêneros de macacos do Novo Mundo, baseadas em diferentes tipos de dados: imunológicos (CRONIN & SARICH, 1975); morfológicos (HERSHKOVITZ, 1977; ROSENBERG, 1981; KAY, 1990); cariotípicos (DE BOER, 1974; DUTRILLAUX, 1988); e

moleculares (SCHNEIDER *et al.*, 1993, 1996; HARADA *et a l.*, 1995; VON DORNUM & RUVOLO, 1999; MEIRELES *et al.*, 1999; CANAVEZ *et al.*, 1999a; SCHNEIDER, 2000). Outras inferências foram realizadas através da combinação de dados de distintas fontes, como na combinação de dados moleculares e morfológicos (SCHNEIDER & ROSENBERG, 1996), moleculares e paleontológicos (GOODMAN *et al.*, 1998) ou morfológicos, moleculares e parasitológicos (HUGOT, 1998).

Os primatas neotropicais ocorrem desde o sul do México até o sul do Brasil e norte da Argentina. São encontrados em todas as principais áreas florestadas da América do Sul (com exceção do Chile e do Uruguai) e da América Central, incluindo algumas ilhas do Caribe (MITTERMEIER, 1986a; ROWE, 1996). Devido a grande distribuição dos primatas neotropicais, a radiação filética desta infra-ordem explica, morfológica e cariotipicamente, a ampla diversidade dos diferentes *taxa* (DUMAS *et al.*, 2005; SEUÁNEZ *el at.*, 2005).

Os macacos do Novo Mundo estão atualmente agrupados em cinco famílias: Aotidae (gênero *Aotus*), Atelidae (gêneros *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix* e *Brachyteles*), Callitrichidae (gêneros *Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Callimico*, *Saguinus* e *Leontopithecus*), Cebidae (gêneros *Cebus* e *Saimiri*) e Pitheciidae (gêneros *Pithecia*, *Cacajao*, *Chiropotes* e *Callicebus*) (PRIMATE-SG, 2009).

1.2 Gênero *Cebus*

1.2.1 Aspectos Gerais e Taxonomia

O gênero *Cebus* (Erxleben, 1777) possui uma longa história evolutiva. De acordo com análises morfométricas, foi um dos gêneros que primeiro divergiu durante a diferenciação dos Platyrrhini (KAY, 1990).

Agrupa os primatas neotropicais conhecidos popularmente como macacos-prego ou caiararas. Os macacos-prego e caiararas são mamíferos de médio porte, com peso corpóreo entre 2 e 4 kg e cauda semi-preênsil, não tão sensitiva e tátil como a de *Ateles*, *Lagothrix*, *Brachyteles* e *Alouatta*, são arborícolas, diurnos, dieta onívora e possuem pêlos eriçados no alto da cabeça chamados de “tufo”, que variam de formato nas distintas espécies (FREESE e OPPENHEIMER, 1988). Estudos recentes têm evidenciado a grande capacidade cognitiva destes primatas, sendo este o único macaco platirrino capaz de utilizar ferramentas na natureza com o intuito de facilitar a exploração de recursos (FRAGASZY *et al.*, 2004a).

O gênero *Cebus* apresenta a segunda maior distribuição geográfica entre os primatas do Novo Mundo ocorrendo desde Honduras, na América Central, até o norte da Argentina (EISENBERG e REDFORD, 1999; EMMONS e FEER, 1997; GROVES, 2005; NOWAK, 1999; SILVA JÚNIOR, 2001). Ao longo de sua distribuição, os macacos-prego e caiararas ocupam diversos tipos de ambientes, que incluem desde os mais secos, como as florestas da costa da Colômbia e da Venezuela, Cerrados e Caatingas no Brasil, até os mais úmidos, como a Amazônia e a Mata Atlântica (BICCA-MARQUES *et al.*, 2006; FREESE e OPPENHEIMER, 1988).

Cebus é considerado um dos grupos com taxonomia mais confusa entre os mamíferos neotropicais (SILVA JÚNIOR, 2001; TORRES ASSUMPCÃO, 1983). A questão sobre a diversidade de táxons neste gênero tem sido investigada por vários autores, que divergem entre si quanto ao número de espécies e subespécies reconhecidas como válidas, propondo diferentes arranjos taxonômicos. De acordo com Torres de Assumpção (1983) e Silva Júnior (2001), problemas de amostragem e grande polimorfismo são as principais fontes de confusão acerca do conhecimento da diversidade taxonômica de *Cebus*.

A partir do trabalho de Hershkovitz (1949), tornou-se consenso a existência de dois grupos de espécies dentro de *Cebus*, principalmente com base na presença ou não de um conjunto de pêlos alongados na região frontal da cabeça, chamados de tufo. Neste trabalho, o grupo com tufo, apesar de polimórfico, foi considerado constituído por uma única espécie, *C. apella* (Linnaeus, 1758); e o grupo sem tufo constituído por três espécies e 23 subespécies, sendo cinco subespécies de *C. capucinus* (Linnaeus, 1758), cinco de *C. nigrivittatus* Wagner, 1848 e 13 de *C. albifrons* (HUMBOLDT, 1812).

Mais recentemente, Rylands *et al.* (2000) avaliaram a diversidade de táxons de primatas do Novo Mundo a partir da compilação de informações presentes na literatura, considerando quatro espécies (*C. apella*, *C. libidinosus*, *C. nigritus* e *C. xanthosternos*) com 14 subespécies para o grupo de *Cebus* com tufo, e três espécies (*C. albifrons*, *C. capucinus* e *C. olivaceus*) com 19 subespécies para o grupo de *Cebus* sem tufo.

Utilizando-se de caracteres morfológicos, morfométricos, moleculares, comportamentais e ecológicos, Silva Júnior (2001) indicou que os grupos com tufo e sem tufo deveriam ser tratados como subgêneros de *Cebus*, devido às grandes diferenças observadas em vários sistemas biológicos e ao padrão de distribuição simpátrida. O grupo sem tufo foi classificado como o subgênero nominal. O nome subgenérico disponível aplicado ao outro grupo (*Cebus* com tufo) foi *Sapajus* Kerr, 1792. Dessa forma, quatro espécies foram reconhecidas por este autor no subgênero *Cebus*: *C. capucinus* (Linnaeus, 1758), *C. albifrons* (Humboldt, 1812), *C. olivaceus* Schomburgk, 1818 e *C. kaapori* Queiroz, 1992. Para o subgênero *Sapajus*, foram reconhecidas sete espécies: *Cebus apella* (Linnaeus, 1758), *C. macrocephalus* Spix, 1823, *C. libidinosus* Spix, 1823, *C. cay* (Illiger, 1815), *C. xanthosternos* Wied, 1820, *C. robustus* Kuhl, 1820 e *C. nigritus* (Goldfuss, 1809).

1.3 Cebus kaapori

A espécie *Cebus kaapori* (Figura 1) foi descrita recentemente em 1992 por Queiroz e foi imediatamente classificada como ameaçada de extinção (QUEIROZ, 1992; MMA, 2003). Como os demais táxons do gênero, é um primata arbóreo de tamanho médio e hábitos generalistas. O caiarara ka'apor, como é conhecida popularmente, é uma espécie do grupo “sem tufo”, apresentando uma pelagem aguti, como coloração marrom-acizentada nas partes superiores e nos dois terços proximais da cauda, e cinza-prateada na garganta, tórax, abdômen, espáduas, região frontal da parte próxima aos membros anteriores e do pincel caudal (QUEIROZ, 1992; SILVA JÚNIOR, 2001).

A raridade natural do caiarara ka'apor tem sido reconhecida por todos os autores que trabalham com a espécie em campo (LOPES, 1993; LOPES e FERRARI, 1993; FERRARI e QUEIROZ, 1994; FERRARI e LOPES, 1996; LOPES e FERRARI, 1996; SILVA JÚNIOR e CERQUEIRA, 1998; CARVALHO JÚNIOR *et al.*, 1999; CARVALHO JÚNIOR, 2003). Uma revisão da literatura sobre mamíferos da Amazônia oriental produzida desde o início do século XVII indicou que, antes de sua descrição, em 1992, *Cebus kaapori* havia sido citado em uma única obra (GOELDI e HAGMANN, 1906) sendo identificado como *Cebus capucinus*.

Este táxon nunca foi alvo de um estudo ecológico ou comportamental específico de longo prazo, assim, as informações disponíveis sobre o seu modo de vida ainda são escassas (LOPES, 1993; LOPES e FERRARI, 1996; SILVA JÚNIOR e CERQUEIRA, 1998; CARVALHO JÚNIOR *et al.*, 1999). Os estudos já realizados mostram que os grupos são pequenos e que o táxon é pouco abundante (LOPES, 1993; LOPES e FERRARI, 1996; SILVA JÚNIOR e CERQUEIRA, 1998; CARVALHO JÚNIOR *et*

al., 1999; CARVALHO JÚNIOR, 2003), sendo as baixas densidades atribuídas, em parte, à competição interespecífica com *Cebus apella* (CARVALHO JÚNIOR *et al.*, 1999).

Cebus kaapori possui uma das menores áreas de distribuição geográfica entre as espécies do gênero *Cebus*. Sua restrita área de distribuição, a leste do Tocantins, no Pará, e a oeste de São Luis, capital do Maranhão, coincide com o chamado “Arco do desmatamento” nestes estados (Figura 2) (JERUSALINSKY, L. *et al.*, 2005). Essa área coincide com a região de ocupação humana mais antiga e mais intensa da Amazônia oriental. A maior ameaça ao caiarara ka’apor parece ser a perda e a fragmentação de seu habitat, pois as atividades humanas na Amazônia oriental têm causado enorme devastação de áreas de florestas, com presença de grandes centros urbanos, áreas de garimpo e grandes empreendimentos envolvendo exploração madeireira e atividades agropecuárias (MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P., 2008). .

A principal necessidade em relação à conservação do caiarara ka’apor diz respeito à ampliação do conhecimento atual. É necessário compreender o modo de vida da espécie e os efeitos da fragmentação nas populações mediante estudos de longo prazo sobre sua ecologia e comportamento (MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P., 2008).



Figura 1: *Cebus kaapori*

Ocorrência *Cebus kaapori*

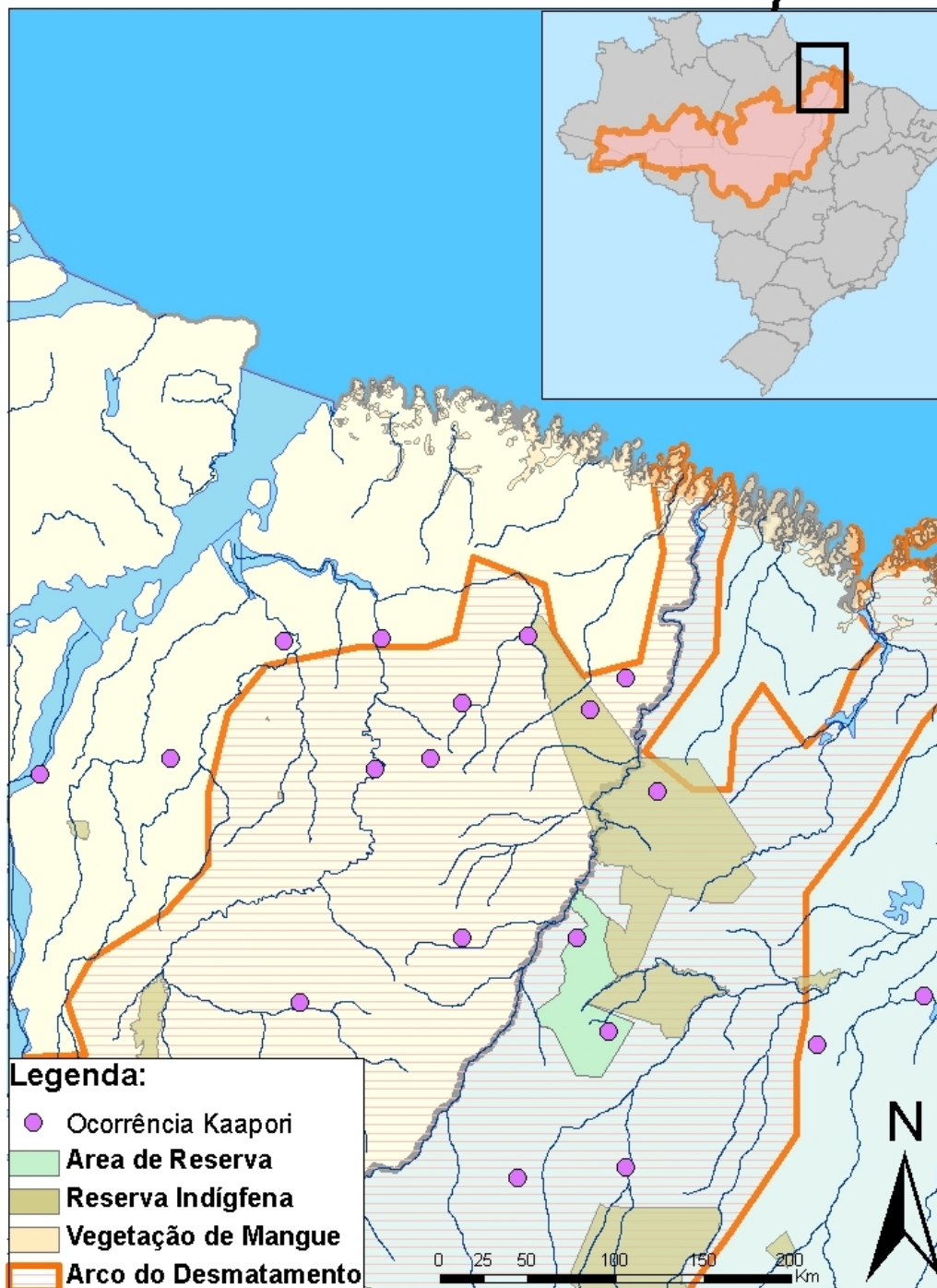


Figura 2: Distribuição de *Cebus kaapori*

1.4 Citogenética

As comparações cariotípicas foram desenvolvidas há séculos para investigar e identificar espécies relacionadas e progressivamente mais distintas (DUTRILLAUX E COUTURIER, 1981; O'BRIEN E STANYON, 1999; FERGUSON-SMITH E TRIFONOV, 2007). Mas nas primeiras décadas da citogenética, para muitos autores, o cariótipo não tinha qualquer significado evolutivo, pois se entendia que os cromossomos não eram relevantes, mas sim os genes que eles continham. A importância da citogenética na evolução foi aventada somente após a descoberta do efeito de posição (STURTEVANT, 1925 *apud* BENAZZI, 1973), segundo o qual “o efeito de um locus não depende apenas da natureza do gene, mais também da sua posição em relação a outros genes”. Desde então ficou evidente que a base física da evolução é representada não apenas por genes, mais também por cromossomos como entidades morfológicas bem definidas, caracterizadas por determinadas associações e seqüências gênicas, posições dos centrômeros e distribuições de eucromatina e heterocromatina dentro do genoma de cada espécie. (AMARAL, 2002).

As primeiras tentativas para identificação de cariótipos ancestrais de mamíferos foram baseadas em semelhanças dos padrões de bandamento entre espécies distantemente relacionadas, que indicaram a conservação evolucionária de alguns cromossomos (DUTRILLAUX *et al.*, 1980; NASH e O'BRIEN, 1982). A citogenética molecular se tornou essencial para o estabelecimento destes cariótipos (CONSIGLIERE *et al.*, 1996; MORESCALCHI *et al.*, 1997; CHOWDHARY *et al.*, 1998).

Os cariótipos das espécies de *Cebus* possuem como características comuns a presença de uma grande quantidade de heterocromatina constitutiva de poucos

cromossomos metacêntricos, uma grande quantidade de acrocêntricos e presença de constrição secundária em dois pares acrocêntricos pequenos (GARCIA *et al.*, 1983).

Os estudos citogenéticos do gênero *Cebus* mostram que o número diplóide varia de 52 a 54 cromossomos (AMARAL *et al.*, 2008; 2002). Contudo, as informações confiáveis sobre a identidade dos cariótipos de *Cebus* indicaram a existência da diferenciação entre os *Cebus* com e sem tufo (SILVA JÚNIOR, 2001). Com base em comparações de bandas G e Q, Torres Cabellero e colaboradores (1976) sugeriram que ambos grupos tiveram evoluções cromossômicas independentes. Os *Cebus* com tufo parecem possuir um número diplóide constante ($2n = 54$), enquanto os sem tufo apresentam número diplóide variável ($2n = 52$ ou 54) (SILVA JÚNIOR, 2001).

Com base nisto, o presente trabalho teve por objetivo analisar o cariótipo de espécies do gênero *Cebus*, com exceção do *Cebus flavius* e *Cebus libidinosus*, encontrados no Centro de Triagem de Animais Silvestres da Paraíba – CETAS/IBAMA no período entre agosto de 2009 e junho de 2010, em especial as espécies ameaçadas de extinção. No referido período foram encontradas apenas animais da espécie *Cebus kaapori*, que se tornou, portanto, alvo da presente pesquisa.

2 Material e Métodos

2.1 Caracterização dos indivíduos

Para a realização do trabalho foram analisados os cariótipos de três indivíduos da espécie *Cebus kaapori* utilizando a técnica de citogenética tradicional e coloração convencional.

As amostras de sangue periférico das espécimes utilizadas foram provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres de Alagoas CETAS-AL/IBAMA (Tabela 1).

Tabela 1: Caracterização das amostras

Número de registro	Espécie	Sexo	Data de coleta	Procedência
CPB 443	<i>Cebus kaapori</i>	Macho	06/10/2009	CETAS/AL
CPB 414	<i>Cebus kaapori</i>	Fêmea	06/10/2009	CETAS/AL
CPB 276	<i>Cebus kaapori</i>	Fêmea	06/10/2009	CETAS/AL

2.2 Captura dos animais e Coleta das amostras

Os animais foram capturados através do uso de puçás e anestesiados com Cloridrato de Cetamina (IM), na dosagem de 1,5 mg/kg por um médico veterinário. Todos os indivíduos foram submetidos a exame clínico geral, registro de dados morfométricos e coleta de sangue periférico. Ao término do processo, os animais foram observados e colocados de volta no seu cativeiro após completa recuperação da anestesia.

O material biológico coletado foi depositado no banco de materiais biológicos do CPB (BIOPRIM).

Para estudos citogenéticos foi coletado entre 1 e 2 mL de sangue periférico dos animais em tubos heparinizados.

Todos os procedimentos de captura e coleta de material biológico estão autorizados pelo SISBIO de número 19927-1.

2.3 Obtenção de células em suspensão

Na obtenção de células em suspensão foi realizada uma cultura de 1 mL de sangue periférico em 10 mL de meio RPMI 1640 completo (20% Soro Bovino Fetal, SBF; 2% de fitohemaglutinina; 30 Unidades de Heparina, 100UI/mL de penicilina e 50mg/mL de estreptomicina) por 72 horas a 37°C.

Após as 72 horas de cultivo das células do sangue periférico foi adicionado 0,5 mL de colchicina a 0,5M e então inverteu-se os tubos e deixou-se em repouso na estufa por 1 hora e meia a 2 horas.

A cultura foi colocada na centrífuga a 2000 rpm por 10 min. Após a centrifugação do material, o sobrenadante foi descartado e uma solução hipotônica com 10 mL de KCl foi adicionada, deixado em banho-maria a 37°C por 30 min. Em seguida, o fixador Carnoy (1 parte de ácido acético para 3 partes de metanol) foi adicionado. O material foi deixado em repouso por 1-5 min e então centrifugado, retirado o sobrenadante e acrescido de fixador novamente. A lavagem com o fixador foi feita por mais duas vezes até que o “pellet” ficasse limpo. Mas, na última lavagem o sobrenadante não foi totalmente retirado, restando um pouco de fixador sobre o sedimento celular para que uma suspensão concentrada de células seja pingada sobre lâmina limpa. O material restante foi armazenado em freezer a -20°C.

2.4 Técnica de Coloração por Análise Convencional

Para a análise convencional dos cromossomos, a lâmina foi corada com solução tampão fosfato (Na_2HPO_4 0,03 M e NaH_2PO_4 0,03 M) e Giemsa por aproximadamente 5 min, em seguida a lâmina foi lavada em água corrente e deixada para secar em temperatura ambiente.

2.5 Bandamento G

Para uma melhor precisão na identificação dos cromossomos, utilizamos a técnica de bandamento G descrita por Seabright (1971), com modificações.

Foram pingadas algumas gotas da solução de células fixadas em uma lâmina, onde esta foi deixada na estufa por aproximadamente 24 horas. Em seguida, a lâmina foi colocada em banho-maria a 65°C submersa a uma solução de 2xSSC (cloreto de sódio 0,3 M e citrato trissódico 0,03 M) por 5 minutos. Após esse tempo, a lâmina foi submetida a quatro banhos sequenciais: 2xSSC a temperatura ambiente, água destilada, solução de tripsina 0,025% em tampão fosfato Sorensen (pH 6,8) a temperatura ambiente por alguns segundos e novamente mergulhada em água destilada. Logo em seguida, a lâmina foi corada com Giemsa por aproximadamente 10 minutos e secada a temperatura ambiente.

2.6 Análise das lâminas e fotografia das metáfases

As lâminas foram analisadas através do uso de um microscópio de marca Olympus, modelo BX-41. As melhores metáfases foram fotografadas com câmera digital acoplada, modelo Q-color – 5 com 05 megapixels de resolução, em objetiva de imersão, com aumento de 1000x.

2.7 Montagem dos cariótipos

As fotografias foram trabalhadas no programa Photoshop CS3, com a finalidade de corrigir a densidade, aumentar o contraste e montar os cariótipos de acordo com o padrão utilizado na literatura.

2.8 Análise dos cariótipos

Para a montagem do cariótipo foi levado em consideração o tamanho do cromossomo e a posição do centrômero. Na análise do cariótipo foi observado o número de cromossomos (número diplóide) e o número de braços que cada par possui (número fundamental).

3. Resultados

3.1 Exemplos processados e analisados

Os processos citogenéticos foram realizados a partir do sangue periférico de 3 exemplares (2 fêmeas e 1 macho) de *Cebus kaapori*. Todos os indivíduos foram analisados citogeneticamente (Tabela 2).

Os indivíduos analisados são provenientes do CETAS/AL.

Tabela 2: Exemplos processados e analisados, número de exemplares, sexo (M= macho, F= fêmea) e procedência dos exemplares

Espécie	Espécimes processadas	Espécimes analisadas	Procedência
<i>Cebus kaapori</i>	3 (2F e 1M)	3 (2F e 1M)	CETAS/AL
Total	3	3	

3.2 Análise das lâminas

Foram preparadas 40 lâminas, onde estas foram analisadas citogeneticamente utilizando a técnica de coloração convencional e bandamento G. No entanto, os resultados obtidos do bandamento G não foram conclusivos.

Das 40 lâminas analisadas, 68 metáfases foram encontradas e examinadas. Entretanto, nem todas as metáfases apresentaram boa qualidade para serem utilizadas, com cromossomos separados e morfologia nítida.

3.3 Análise dos cariótipos

Foi montado o cariótipo do *Cebus kaapori*, onde os cromossomos foram agrupados pelo tamanho e posição do centrômero. Em seguida da montagem do cariótipo, foi realizada uma análise dos cromossomos para a obtenção do número diplóide (2n) e o número fundamental (NF).

Foi montado o cariótipo de uma espécime fêmea (Figura 3), onde esta apresentou $2n = 52$ e $NF = 72$, possuindo 25 pares de autossomos, sendo esses constituídos por 7 pares de cromossomos submetacêntricos, 2 pares metacêntricos e 16 pares de acrocêntricos. O par de cromossomos sexuais mostrou-se sendo submetacêntrico.

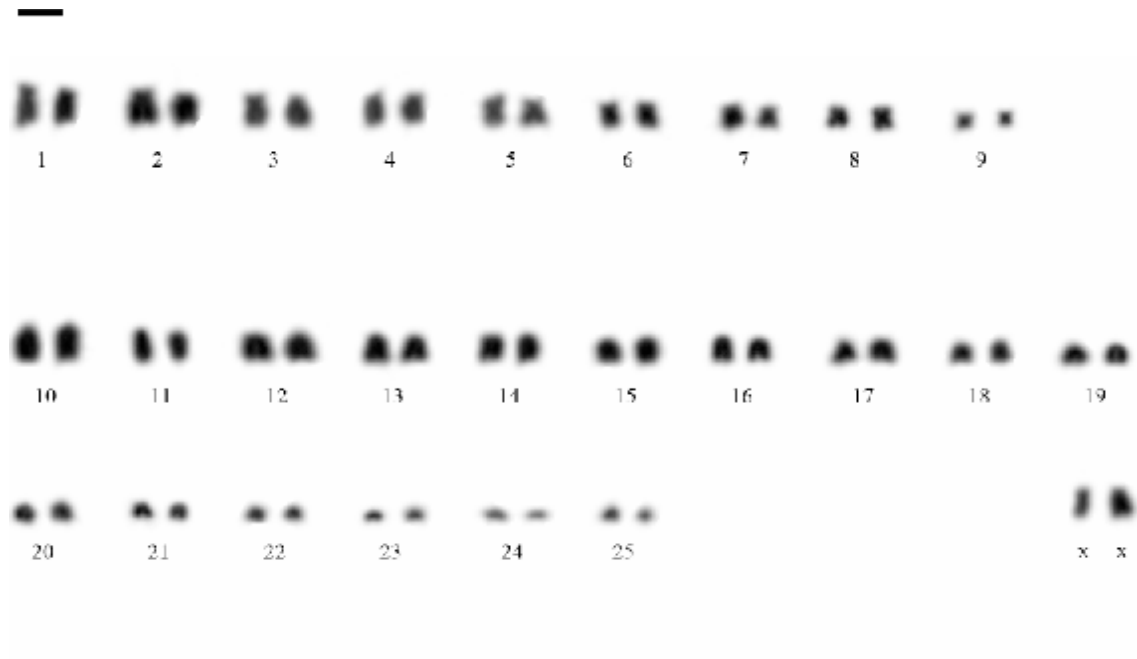


Figura 3: Cariótipo de uma fêmea de *Cebus kaapori*. Barra = 1 μ m.

4. Discussão

Através dos resultados obtidos, pôde-se descrever pela primeira vez na literatura o cariótipo de *Cebus kaapori*. Com base na metodologia utilizada, coloração convencional, o cariótipo foi montado a partir da padronização e comparação do número e morfologia dos cromossomos.

Entretanto, não podemos deixar de mencionar as dificuldades encontradas, como a dependência da disponibilidade de animais do CETAS, o que ocasionou o pequeno número amostral, onde os 3 espécimes capturados tiveram que suprir esse déficit. Outra questão refere-se a montagem do cariótipo de um macho, essa dificuldade se deu pelo fato de apenas um espécime ser macho e suas metáfases não apresentarem boa qualidade.

Os macacos neotropicais formam um dos grupos taxonômicos mais variáveis cariologicamente (MA *et al.*, 1975; CONSIGLIERE *et al.*, 1996; BARROS *et al.*, 2000), considerados em pleno processo de especiação cromossômica. Apresentam espécies irmãs quase idênticas morfologicamente e divergentes geneticamente (DUMAS *et al.*, 2005; CONSIGLIERE *et al.*, 1998), com uma implicação importante para a teoria da especiação e conservação desses primatas (CONSIGLIERE *et al.*, 1998). Padrões diferentes de rearranjo envolvidos na evolução cromossômica dos Platyrrhini foram analisados (DE OLIVEIRA *et al.*, 1995; NIEVES *et al.*, 2005) e diferenças cromossômicas entre populações consideradas subespécies pela taxonomia baseada em critérios morfológicos foram descritas (SEUÁNEZ *et al.*, 1993).

Essa variabilidade evidencia a necessidade da análise cromossômica de indivíduos de uma mesma espécie ou subespécie na composição de grupos regionais de

acasalamento, com a finalidade de repovoamento de áreas ou manutenção em cativeiro de espécies ameaçadas de extinção (GIFALLI, 2003).

A evolução cariotípica dos Platyrrhini ainda não é completamente compreendida (WIENBERG E STANYON, 1998; STANYON *et al.*, 2000; MUDRY *et al.*, 2001), parecendo não ser contínua e, conseqüentemente, a quantidade de mudanças cromossômicas pode não ser proporcional ao tempo decorrido desde a divergência das espécies (JAUCH *et al.*, 1992). Os cariótipos de algumas espécies têm mudado pouco ao longo dos anos (DUTRILLAUX E COUTURIER, 1981; SEUÁNEZ *et al.*, 1988; CANAVEZ *et al.*, 1996), embora alguns grupos apresentem uma proporção mais rápida de reorganizações cromossômicas (O'BRIEN E STANYON, 1999; STANYON *et al.*, 2000). Inclusive, algumas variações na morfologia dos cromossomos e nos números diplóides estão associados com a origem geográfica dos espécimes (DE OLIVEIRA *et al.*, 1995).

De acordo com Silva-Júnior (2001) há uma diferenciação no número diplóide entre os *Cebus* com e sem tufo, onde os com tufo parecem possuir um número diplóide constante ($2n = 54$), enquanto os sem tufo apresentam número diplóide variável ($2n = 52$ ou 54).

A metodologia aplicada, coloração cromossômica convencional, apesar de sua simplicidade, foi de suma importância para a descrição pela primeira vez na literatura do cariótipo de *Cebus kaapori*, sendo possível, assim, obter informações genéticas da espécie que, até o momento, eram inexistentes.

Tento em vista que as informações disponíveis de *Cebus kaapori* são escassas, fica clara a importância do nosso trabalho, principalmente em relação as informações genéticas pois essa espécie é considerada criticamente ameaçada de extinção.

Nossos resultados podem contribuir para a revisão taxonômica do gênero, para o fornecimento de informações úteis para futuros estudos sobre a composição de grupos de acasalamento, manutenção em cativeiro, além de fornecer subsídios para futuros estudos citogenéticos.

5. Conclusões

- O cariótipo da espécie *Cebus kaapori* foi descrito pela primeira vez na literatura, sendo composto por $2n = 52$ e $NF = 72$, possuindo 25 pares de autossomos, sendo esses constituídos por 7 pares de cromossomos submetacêntricos, 2 pares metacêntricos e 16 pares de acrocêntricos. O par de cromossomos sexuais mostrou-se sendo submetacêntrico.
- Fica clara a necessidade da realização de novos estudos relacionados à espécie.
- Os resultados obtidos podem contribuir para a revisão taxonômica do gênero, para o fornecimento de informações úteis para futuros estudos sobre a composição de grupos de acasalamento e manutenção em cativeiro.

6. Agradecimentos

À equipe técnica do CPB pelo apoio na captura dos animais e coleta do material biológico, aos Profs. Drs. Demetrius Antonio Machado de Araújo e Alfredo Ricardo Langguth Bonino pelo acesso aos laboratórios para a realização dos experimentos e análises e à Amely Martins Branquinho pela orientação.

7. Referências Bibliográficas

AMARAL, P. J. S.; FINOTELO, L. F. M.; OLIVEIRA; et al. Phylogenetic studies of the genus *Cebus* (Cebidae-Primates) using chromosome painting and G-banding. **BMC Evolutionary Biology**.v. 8, p.169, 2008.

AMARAL, P.J.S. **Estudos Citogenéticos em *Cebus Apella* e *Cebus Nigrivittatus* (Cebidae, Primates)**. Trabalho de Conclusão de Curso. UFPA. Belém, 2002.

BARROS, R. M. S.; PIECZARK, J. C.; BRÍGIDO, M. C. O.; MUNIZ, J. A. P. C.; RODRIGUES, L. R. R.; NAGAMACHI, C. Y. A new karyotype in *Callicebus torquatus* (Cebidae: Primates). **Hereditas**: 133: 55-58, 2000.

BICCA-MARQUES, J. C.; SILVA, V. M. e GOMES, D. F. 2006. Ordem Primates. **In Mamíferos do Brasil**. Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A. e Lima, I. P. (eds). Londrina, Paraná. 437 pp. 2006.

CANAVEZ, F. C.; ALVEZ, C.; FANNING, T. G.; SEUÁNEZ, H. N.; Comparative karyology and evolution of the Amazonian *Callithrix* (Platyrrhini, Primates). **Chromosoma** 104: 348-357, 1996.

CANAVEZ, F.C.; MOREIRA, M.A.M.; LADASKY, J.J.; PISSINATTI, A.; PARHAM, P. & SEUANEZ, H.N. Molecular phylogeny of New World primates (Platyrrhini) based on b2-microglobulin DNA sequences. **Mol. Phylogen. Evol.** 12(1):74-82, 1999a.

CARAVALHO JÚNIOR, O. A.C.B. PINTO and M. GALETTI. New observations on *Cebus kaapori* in eastern Brazilian Amazonia. **Neotropical Primates**. 7 (2): 41-43, 1999.

CARVALHO JÚNIOR, O. Primates in a forest fragment in eastern Amazonian. **Neotropical Primates** 11 (2): 100-103, 2003.

CHOWDHARY, B. P.; *et al.*. Emerging patterns of comparative genome organization in some mammalian species as revealed by Zoo-FISH. **Genome Res.** 8: 577-589, 1998.

CONSIGLIERE, S.; *et al.* Chromosome painting defines genomic rearrangements between red howler monkeys subspecies. **Chromosome Res.** 4: 264-270, 1996.

CONSIGLIERE, S.; STANYON, R.; KOEHLER, U.; ARNOLD, N.; WIENBERG, J. In situ hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between *Alouatta belzebul* (Platyrrhini, Cebidae) and other primates and reveals extensive interchromosomal rearrangements between howler monkey genomes. **Am. J. Primatol.** v. 46, p. 119-133, 1998.

CRONIN, J.E. & SARICH, V.S. Molecular systematics of the New World monkeys. **J. Hum. Evol.** 4:357-375, 1975.

DE BOER, L.E.M. Cytotaxonomy of the platyrrhini (Primates). **Genen Phaenen** 17:1-115, 1974.

- DE OLIVEIRA, E. H. C.; LIMA, M. M. C.; SBALQUEIRO, I. J. Chromosomal variation in *Alouatta fusca*. **Neotrp. Prim.** v. 3, p. 181-183, 1995.
- DUMAS, F.; *et al.* Mapping genomic rearrangements in titi monkeys by chromosome flow sorting and multidirectional in-situ hybridization. **Chromosome Res.** 13: 85-96, 2005.
- DUTRILLAUX, B. Chromosome evolution in primates. **Folia Primatol.** 50:134-135, 1988.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J. The ancestral karyotype of Platyrrhine monkeys. **Cytogenet. Cell. Genet.** v. 30, p. 232-242, 1981.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J.; FOSSE, A. M. The use of high-resolution banding in comparative cytogenetics: comparison between man and *Lagothrix lagotricha* (Cebidae). **Cytogenet. Cell. Genet.** 27: 45-51, 1980.
- EISENBERG, J.F. e REDFORD, K.H. Mammals of the Neotropics; The central neotropics: Ecuador, Bolivia, Brazil. vol.1. University of Chicago Press. Chicago. 609 pp. 1999.
- EMMONS, L.H. e FEER, F. Neotropical Rainforest Mammals; a field guide. 2.ed. The University of Chicago Press. Chicago. 307 pp. 1997.
- FERGUSON-SMITH, M. A.; TRIFONOV, V. Mammalian karyotype evolution. **Nat. Rev. Genet.** v. 8, p. 950-952, 2007.
- FERRARI, S. F. e M. A. LOPES. Primate populations in eastern Amazonia, p. 53-67. In: M. A. NORCONK, A. L. ROSENBERGER and P. A. GARBER (ed.). **Adaptive Radiations of Neotropical Primates.** New York, Plenum Press, 1996.
- FERRARI; S. F. e H. L. QUEIROZ. Two new Brazilian primates discovered, endangered. **Oryx.** 28:31-36, 1994.
- FLEAGLE, J. G. Primate Adaptation and Evolution. San Diego: **Academic Press**, 1988.
- FRAGASZY, D. M.; VISALBERGHI, E. e FEDIGAN, L. M. Life history and demography In: The Complete Capuchin: The Biology of the Genus *Cebus*. **University of Cambridge Press**, UK. 339 p. 2004a.
- FREESE, C. H. e OPPENHEIMER, J. R. The capuchin monkeys, genus *Cebus*, pp. 331-390. In: Ecology and behavior of Neotropical primates, vol 1. A. F. Coimbra-Filho and R.A. Mittermeier (eds.), **Academia brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 1988.
- GARCÍA, M.; MIRÓ, R.; ESTOP, A.; PONSÁ, M. AND EGOZCUE, J. Constitutive Heterocromatin Polymorphism in *Lagothrix cana*, *Cebus apella* and *Cebus capucinus*. **American Journal of Primatology**, 4: 117-126, 1983.
- GIFALLI, C.C. Estudo da variabilidade cariotípica em Platyrrhini (Primates) e da homeologia com o cromossomo 15 humano. Dissertação de Mestrado. **Instituto de Biociências, Universidade de São paulo**, São paulo, 2003.

GOELDI, E. A. e G. HAGMANN. Prodrômo de um catálogo crítico, comentado, da coleção de mamíferos do Museu do Pará (1894-1903). **Bol. Emílio Goeldi (Mus. Para.) Hist. Nat. Ethnogr.** 4:38-122, 1906.

GOODMAN, M.; PORTER, C.A.; CZELUSNIAK, J.; PAGE, S.L.; SCHNEIDER, H.; SHOSHANI, J.; GUNNELL, G. & GROVES, C.P. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. **Mol. Phylogen. Evol.** 9(3):585-598, 1998.

GRAPHODATSKY, A. S. Comparative chromosomics. **Molecular Biology** 41: 361-375, 2007.

GROVES, C. P. Order Primates. In: Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference. Wilson, D. E. e Reeder, D. M. (eds). **Third edition**. Vol. 1. 111-184 pp, 2005.

HARADA, M.L.; SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, I.; CZELUSNIAK, J. & GOODMAN, M.. DNA evidence on the phylogenetic systematics of the New World monkeys: Support for the sister-grouping of *Cebus* and *Saimiri* from two unlinked nuclear genes. **Mol. Phylogen. Evol.** 4 (3):331-349, 1995.

HERSHKOVITZ, P. Mammals of the northern Colombia preliminary report n° 4: monkeys (Primates), with taxonomic reviews of some forms. **Proc. U. S. Nat. Museum** 3232(98): 323-427, 1949.

HERSHKOVITZ, P. Living New World monkeys (Platyrrhini). Vol.1. **The University of Chicago Press**, Chicago, EUA, 1977.

HUGOT, J.-P.. Phylogeny of neotropical monkeys: the interplay of morphological, molecular, and parasitological data. **Mol. Phylogen. Evol.** 9(3) :408-413, 1998.

JAUCH, A.; WIENBERG, J.; STANYON, R.; ARNOLD, N.; TOFANELLI, S.; ISHIDA, T.; CREMER, T. Reconstruction of genomic rearrangements in great apes and gibbons by chromosome painting. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 89: 8611-8615. 1992.

JERUSALINSKY, L.; FIALHO, M. S.; LAROQUE, P. O. Projeto kaapori – Inventário e mapeamento de áreas de ocorrência de *Cebus kaapori* Queiroz 1992. **1° Workshop do Comitê de Primatas Amazônicos Ameaçados. Manaus**, 2005.

KAY, R.F. The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini). **J. Hum. Evol.** 19:175-208, 1990.

LOPES, M. A. **Conservação do cuxiú-preto, *Chiropotes satanas satanas* (Cebidae, Primates), e de outros mamíferos na Amazônia Oriental**. Dissertação de Mestrado. Belém, Universidade Federal do Pará, 1993.

LOPES, M. A. e S. F. FERRARI. Preliminary observations on the Ka'apor capuchin *Cebus kaapori* Queiroz, 1992 from eastern Brazilian Amazonia. **Biological Conservation.** 76: 321-324, 1996.

LOPES, M. A. e S. F. FERRARI. Primate conservation in Eastern Brazilian Amazonia. **Neotropical Primates.** 1 (4): 8-8, 1993.

M.M.A Áreas Prioritárias para Conservação, Uso sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização Portaria MMA n 9, de 23 de janeiro de 2007./**Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas. – Brasília: MMA, 2007.**

MA, N. S. F.; JONES, T. C.; THORINGTON, R. W.; MILLER, A. C.; MORGAN, L. M.; Y-autosome translocation in the howler monkeys, *Alouatta palliate*. **J. Med. Primatol.** 4: 299-307, 1975.

MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção – 1.ed. – Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte, MG: **Fundação Biodiversitas**, 2008.

MEIRELES, C.M.; CZELUSNIAK, J.; SCHNEIDER, M.P.C.; MUNIZ, J.A.P.C.; BRIGIDO, M.C.; FERREIRA, H.S. & GOODMAN, M. Molecular phylogeny of Atelinae New World monkeys (Platyrrhini, Atelinae) based on g-globin gene equences: evidence that *Brachyteles* is the sister group of *Lagothrix*. **Mol. Phylogen. Evol.** 12(1):10-30, 1999.

MITTERMEIER, R.A. Primate conservation priorities in the neotropical region. In: BENIRSCHKE, K. (ed.). **Primates: the road to self sustaining populations**:1024-1037. Nova York, EUA, 1996a.

MORESCALCHI, M.; et al.. Mapping chromosomal homology between humans and the black-handed spider monkey by fluorescence in situ hybridization. **Chromosome Res.** 5: 527-536, 1997.

MUDRY, M. D.; RAHN, I. M.; SOLARI, A. J. Meiosis and chromosome painting of sex chromosome systems in Ceboidea. **Am. J. Primatol.** v. 54, p. 65-78, 2001.

NASH, W. G.; O'BRIEN, S. J.; Conserved regions of homologous G-banded chromosome between orders in mammalian evolution: carnivores and primates. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 79: 6631-6635, 1982.

NIEVES, M.; MUHLMANN, M. AND MUDRY, M. D. Heterochromatin and chromosome evolution: a FISH probe of *Cebus apella paraguayanus* (Primate: Platyrrhini) developed by chromosome microdissection **Genetics and Molecular Research** v.4, n.4, p. 675-683, 2005.

NOWAK, R. M. Primates of the world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, **Md**, 100-101, 1999.

O'BRIEN, S. J.; STANYON, R. Ancestral primate viewed. **Nature** 402: 365-366, 1999.

PRIMATE SPECIALIST GROUP. Primates of the Neotropical. **Taxonomy and Conservation Status**. January 2009. Disponível em: <http://www.primatesg.org/diversity.htm>. Acesso em jan. 2010.

QUEIROZ, H. I. A new species of capuchin monkey, genus *Cebus* Erxleben, 1777 (Cebidae: Primates), from eastern Brazilian Amazonia. **Goeldiana Zoologia**, 14: 1-17, 1992.

ROSENBERG, A.L. Systematics: The higher taxa. In: COIMBRA-FILHO, A.F. (ed.). Ecology and behavior of neotropical primates:9-27. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, Brasil, 1981.

ROWE, N. The pictorial guide to the living primates. **Pagonias Press**, New York, EUA,1996

RYLANDS, A. B.; SCHNEIDER, H.; LANGGUTH, A.; MITTERMEIER, A. R.; GROVES, C. P. & RODRÍGUEZ-LUNA, E. An Assesment of the Diversity of New World Primates. **Neotropical Primates** 8(2): 61-93, 2000.

SCHNEIDER, H. & ROSENBERG, A.L.. Molecules, morphology and Platyrrhini systematics. In: NORCONK, M.A.; ROSENBERG, A.L. & GARBER, P.A. (eds.). Adaptive radiations of neotropical primates:3-19. **Plenum Press**, New York, EUA, 1996.

SCHNEIDER, H.. The current status of the New World monkey phylogeny. **An. Acad. Bras. Ci.** 72(2):165-172, 2000.

SCHNEIDER, H.; SCHNEIDER, M.P.C.; SAMPAIO, I.; HARADA, M.L.; STAHOPÉ, M.; CZEUSNIAK, J. & GOODMAN, M. Molecular phylogeny of New World monkeys (Platyrrhini, Primates). **Mol. Phyl. Evol.** 2(3):225-242, 1993.

SEUÁNEZ, H. N.; FORMAN, L.; ALVES, G. Comparative chromosome morphology in three Callitrichid genera: *Cebuella*, *Callithrix*, and *Leontopithecus*. **J. Hered.** v. 79, p. 418-424, 1988.

SEUÁNEZ, H. N.; ALVES, G.; O'BRIEN, S. J.; Genetic characterization off parental cell lines and biochemical analysis of somatic cell hybrids between mouse (RAG) cells and fibroblasts of *Atelles paniscus chamek* (Primates, Platyrrhini). **Am. J. Primatol.** 30: 181-194, 1993.

SEUÁNEZ, H. N.; BONVICINO, C. R.; MOREIRA, M. A. M. The primates of the Neotropics: genomes and chromosomes. **Cytogenet. Genome Res.** 108: 38- 46, 2005.

SILVA JÚNIOR, J. S. e R. CERQUEIRA. New data and a historical sketch on the geographical distribution of the Ka'apor capuchin, *Cebus kaapori* Queiroz, 1992. **Neotropical Primates.** 6 (4): 118-121, 1998.

SILVA-JÚNIOR, J. S. **Especiação nos Macacos-Prego e Caiararas, gênero *Cebus* ERXLEBEN, 1777 (Primates, Cebidae).** Tese de Doutorado em Genética, UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil. 377 pp. 2001.

STANYON, R.; CONSIGLIERE, S.; MULLER, S.; MORESCALCHI, A.; NEUSSER, M.; WIENBERG, J. Fluorescence in situ hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between the dusky titi and squirrel monkey. **Am. J. Primatol.**v, 50, p.95-107, 2000.

STEIPER, M. E.; YOUNG, N. M. Primate molecular divergence dates. **Mol. Phylogenet. Evo.** 41: 384-394, 2006.

STURTEVANT 1925 apud BENAZI, M. Cytotaxonomy and evolution: general remarks
In: Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution, 1ed. Vol. 1. (Eds: Chiarelli, A. B.;
Capanna, E.), **Academic Press**, Londres, p. 3-14,1973.

TORRES DE ASSUMPÇÃO, C. **An ecological study of the primates of Southeastern
Brazil, with a reappraisal of *Cebus apella* races**. Edinbough, University of Edinbough.
Ph.D. Thesis, 1983.

VON DORNUM, M. & RUVOLO, M. Phylogenetic relationships of the New World
monkeys (Primates, Platyrrhini) based on nuclear G6PD DNA sequences. **Mol.
Phylogen. Evol.** 11(3):459-476, 1999.

WIENBERG, J.; STANYON, R. Comparative chromosome painting of primate
genomes. **Har. J.** v. 39, p 77-91, 1998.