



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE  
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE  
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS BRASILEIROS

**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto Chico  
Mendes de Conservação da Biodiversidade- PIBIC/ICMBio**

**Relatório Final**  
**(2020-2021)**

**Genética da Conservação de *Sapajus flavius*:  
Caracterização genética de populações da espécie na Mata Atlântica**

**Lucas de Freitas Lacerda**

**Orientador(a): Amely Branquinho Martins**

**João Pessoa**  
**01/2021**

## RESUMO

As pressões antrópicas sofridas pelos remanescentes de mata atlântica no litoral nordestino brasileiro refletem-se em impactos no estado de conservação dos animais que compõem sua fauna, dentre estes os primatas neotropicais. Visando a conservação dos primatas ameaçados do Nordeste, o CPB/ICMBio coordena o Plano de Ação Nacional para Conservação dos Primatas do Nordeste (PAN PRINE). Uma das espécies alvo é o macaco-prego-galego (*Sapajus flavius*), categorizada como Em Perigo de extinção. Visando contribuir para a implementação de ações do PAN PRINE, o presente trabalho objetivou realizar a caracterização genética de indivíduos do gênero *Sapajus* encontrados na condição *ex situ*, para verificar a presença de animais híbridos e provável origem dos animais identificados como *S. flavius*. Foram utilizados marcadores genéticos de polimorfismo de nucleotídeo único, gerados a partir da técnica de ddRADseq. Foram realizadas três análises hierárquicas da estrutura genética. Na primeira, os indivíduos de cativeiro tiveram origem confirmada para a região nordeste, agrupando com *S. flavius* ou *S. libidinosus*. Na segunda análise, dos 59 indivíduos de cativeiro incluídos, 10 foram identificados como *S. flavius*, 14 como *S. libidinosus* e 35 indivíduos como híbridos entre estas espécies. Na terceira, os indivíduos de vida livre de *S. flavius* formaram três grupos bem definidos concordantes com as regiões geográficas de amostragem, e os animais de cativeiro tiveram herança genética preponderante para algum desses grupos, indicando potencial origem. Esses resultados são importantes por caracterizar populações que sofrem pressão de apanha e subsidiarão decisões de manejo de acordo com o perfil genético dos animais estudados.

Palavras-chave: Primatas neotropicais; genética da conservação; sequenciamento de nova geração.

## ABSTRACT

The anthropogenic pressures suffered by the remnants of the Atlantic Forest on the northeastern Brazilian coast are reflected in impacts on the conservation status of the animals that make up its fauna, including the neotropical primates. Aiming at the conservation of endangered Northeastern primates, the CPB / ICMBio coordinates the National Action Plan for the Conservation of Northeastern Primates (PAN PRINE). One of the target species is the capuchin monkey (*Sapajus flavius*), categorized as Endangered with extinction. Aiming to contribute to the implementation of PAN PRINE actions, the present work aimed to carry out the genetic characterization of the *Sapajus* genus type found in the *ex situ* condition, to verify the presence of hybrid animals and probable origin of the animals identified as *S. flavius*. Single nucleotide polymorphism genetic markers generated from the ddRADseq technique were used. Three hierarchical analyzes of the genetic structure were performed. In the first, the captive peculiarities have confirmed origin for the northeast region, grouping with *S. flavius* or *S. libidinosus*. In the second analysis, of the 59 included from captivity included, 10 were identified as *S. flavius*, 14 as *S. libidinosus* and 35 were investigated as hybrids between these species. In the third, free-living humans of *S. flavius* formed well-defined groups in agreement with the geographic regions of sampling, and captive animals had preponderant genetic origin for some different groups, indicating the potential of origin. These results are important for characterizing groups that provide pressure to harvest and subsidiary management decisions according to the genetic profile of the studied animals.

Keywords: Neotropical primates; conservation genetics; next generation sequencing.

## LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

- Figura 1.** Gráfico em barras da primeira análise do STRUCTURE para  $K=4$ , onde estão demarcados os indivíduos de acordo com as regiões: “1-MA” = Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco; “2-AM” = amazônicos; “3-CE-CA-NMA” = eixo Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco; e “4-CAT” = cativoiro. .... 22
- Figura 2.** Gráfico em barras da primeira análise do STRUCTURE para  $K=2$ , onde estão demarcados os indivíduos de acordo com as regiões: “1-MA” = Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco; “2-AM” = amazônicos; “3-CE-CA-NMA” eixo Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco; e “4-CAT” = cativoiro. .... 23
- Figura 3.** Gráfico de barras da segunda análise do STRUCTURE para  $K=2$ , onde estão demarcados os indivíduos de acordo com a origem (Cativoiro ou vida livre), bem como pela identificação da espécie: *S. flavius*, *S. libidinosus* e indivíduos sem identificação clara marcados, como *S. sp.* A identificação taxonômica dos indivíduos de cativoiro foi realizada pela equipe de campo no momento da coleta de amostras, com base nas características morfológicas de cada indivíduo. .... 25
- Figura 4.** Gráfico em barras da terceira análise do STRUCTURE para  $K=2$ . Aqui estão demarcados os indivíduos de cativoiro: “C-PB” CETAS da Paraíba; “C-PE” CETAS de Pernambuco. Além de três populações naturais geograficamente separadas: “As-Su” Mata da ASPLAN e Sucupira; “CdI” Mata do Córrego do Inferno; “Japungu” referente à RPPN do engenho Gargau/Japungu. .... 27
- Figura 5.** Gráfico em barras da terceira análise do STRUCTURE para  $K=3$ . Aqui estão demarcados os indivíduos de cativoiro: “C-PB” CETAS da Paraíba; “C-PE” CETAS de Pernambuco. Além de três populações naturais geograficamente separadas: “As-Su” Mata da ASPLAN e Sucupira; “CdI” Mata do Córrego do Inferno; “Japungu” referente à RPPN do engenho Gargau/Japungu. .... 28
- Figura 6.** Mapa demonstrando a média da proporção de herança genética de cada população de indivíduos de vida livre amostrados em comparação com o padrão de herança genética dos indivíduos de cativoiro (representados na legenda à direita). .... 31
- Figura 7.** Mapa demonstrando a proporção de herança genética de cada população amostrada, para cada indivíduo isoladamente, em comparação com o padrão de herança genética dos indivíduos de cativoiro (representados na legenda à direita). .... 32

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	5
1.1 Primatas e biodiversidade .....	5
1.2 Gênero Cebus ( <i>Sapajus</i> ) .....	5
1.3 <i>Sapajus flavius</i> .....	6
1.4 Espécie e Hibridização: Implicações na conservação de <i>Sapajus</i> .....	7
1.5 Estado de conservação .....	9
2. OBJETIVOS.....	9
2.1. Objetivos gerais .....	9
2.2. Objetivos específicos .....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	10
3.1 Coleta de amostras e sequenciamento .....	10
3.2 Montagem, controle de qualidade das sequências e preparação de matriz de SNPs.....	16
3.3 Análise de populações .....	18
4. RESULTADOS .....	19
4.1. Controle de qualidade .....	19
4.2. Estrutura das Populações .....	20
4.2.1 Primeira Análise (STR1).....	20
4.2.2 Segunda Análise (STR2).....	24
4.2.3 Terceira Análise (STR3) .....	26
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....	29
6. RECOMENDAÇÕES PARA O MANEJO.....	34
AGRADECIMENTOS .....	35
REFERÊNCIAS .....	36

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Primatas e biodiversidade

A biodiversidade dos trópicos tem enfrentado severos desafios diante das demandas do século XXI no contexto das nações em desenvolvimento, com uma rápida expansão da fronteira agrícola de alta tecnologia e consequente perdas e alterações de grandes florestas tropicais, como a Mata Atlântica, atingimos um cenário onde a demanda de produção entra em conflito com a conservação e manutenção da biodiversidade no que tange uma infinidade de táxons (Laurance et al. 2014; Barnes et al. 2017).

Os primatas entram nesse cenário como espécies bandeira para a proteção e restauração de biomas florestais, com cerca de 60% de todas as espécies do mundo estando ameaçadas e muitas delas vivendo apenas em pequenos fragmentos florestais. Assim, as ações de conservação se tornam urgentes, principalmente para o Brasil, que possui mais de 140 espécies e subespécies com alta diversidade de gêneros, sendo o país portador da maior diversidade de táxons de primatas do mundo e uma floresta tropical em alto nível de degradação, como a Mata Atlântica. (ICMBio, 2019; Chapman et al. 2020).

Nessa perspectiva, o Plano de Ação Nacional para Conservação dos Primatas do Nordeste (PAN-PRINE), em seu segundo ciclo, a partir da identificação das ameaças às espécies de interesse, estabeleceu os objetivos e ações específicos, visando a conservação das seis espécies alvo deste PAN: *Callicebus coimbrai* (guigó-de-coimbra), *Callicebus barbarabrownae* (guigó-da-Caatinga), *Alouatta ululata* (guariba-da-Caatinga), *Alouatta guariba* (guariba-de-mãos-ruivas), *Sapajus xanthosternos* (macaco-prego-do-peito-amarelo) e *Sapajus flavius* (macaco-prego-galego). Sendo esta última espécie de interesse ao nosso trabalho.

## 1.2 Gênero *Cebus* (*Sapajus*)

As discussões taxonômicas acerca das espécies de macaco-prego sempre foram rodeadas de incertezas. O gênero *Cebus* foi descrito por Erxleben em 1777 com a finalidade de acomodar várias espécies de primatas do novo mundo, contudo são historicamente reconhecidos como um dos grupos de taxonomia a nível de espécie mais confusa dentre os primatas neotropicais (Rylands et al., 2000), com diversas revisões na classificação das espécies dentro do gênero tendo sido realizadas.

Herskovitz (1949) publicou um trabalho onde dividiu o gênero *Cebus* em dois grupos: os macacos-prego com tufo e os sem tufo. O autor indicou que o grupo de populações com tufo seria monoespecífico, possuindo apenas *Cebus apella* (Linnaeus, 1758) como representante e o grupo sem tufo seria composto por três espécies: *C. albifrons*, *C. capucinus* e *Cebus nigrivittatus*.

Em revisão mais recente do gênero, Silva Júnior (2001) subdividiu o gênero em dois subgêneros, *Cebus* e *Sapajus*, a partir de diferenças morfométricas do crânio, padrões de coloração da pelagem, silhueta do corpo e distribuição geográfica. Estes subgêneros foram elevados a gênero posteriormente, com base em dados morfológicos, ecológicos e genéticos (Lynch Alfaro et al. 2012a, b; Silva Júnior, 2002).

O gênero *Sapajus* atualmente engloba todos os macaco-prego “robustos” ou com tufo, incluindo um número de espécies que varia entre quatro (Lima et al., 2017), seis (Lima et al., 2018) ou oito (Rylands et al., 2013) que são reconhecidas e distribuídas na América do Sul, dentre as quais se encontra o *S. flavius*, espécie objeto de estudo deste trabalho, que foi recentemente redescoberta e já se encontra categorizada como ameaçada de extinção, tanto pela lista brasileira de espécies ameaçadas (MMA, 2014) quanto na Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza - IUCN (IUCN, 2021).

### 1.3 *Sapajus flavius*

O macaco-prego-galego, *Sapajus flavius*, possui distribuição geográfica restrita a esparsos e reduzidos remanescentes de Mata Atlântica do nordeste brasileiro ao norte do rio São Francisco, ocorrendo nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas. Ao norte e a leste a distribuição da espécie é delimitada pelo oceano Atlântico, enquanto ao sul apresenta parapatria com *S. xanthosternos*, sendo a barreira geográfica entre as espécies o rio São Francisco. A delimitação da distribuição a oeste permanece indefinida, mas supostamente coincide com os limites da Mata Atlântica e as áreas de transição deste bioma com os ambientes de Caatinga (Oliveira & Langguth 2006; Ferreira et al. 2007).

Esta espécie permaneceu um mistério por mais de dois séculos até ser redescoberta por um trabalho publicado em 2006 sendo resultado de um estudo conjunto do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros (ICMBio/CPB) e da Universidade Federal da Paraíba-UFPB (Oliveira & Langguth, 2006).

Entre os animais descritos por Marcgrave (1648), no seu trabalho intitulado *Historia Naturalis Brasiliae*, estava um primata que ele chamou de *caitaia*, que pode ser identificado

atualmente como um representante do gênero *Sapajus*. Posteriormente, Schreber (1799) ilustrou um macaco-prego que denominou de *Simia flavia* (Zijlstra, 2020). Hershkovitz (1949) sugeriu que *S. flavia* era inidentificável, mas posteriormente o identificou como sinônimo de *S. libidinosus* (Hershkovitz, 1987). Quando Oliveira & Langguth (2006) compararam a pintura de Schreber (1799) com o material coletado na Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco, chegaram à conclusão de que *Simia flavia* é o macaco-prego desta região, sendo uma espécie diferente de *S. libidinosus*. Os autores denominaram a espécie redescoberta como *Cebus flavius*, entretanto, considerando a separação dos macacos-prego em dois gêneros, esta espécie é agora reconhecida como *Sapajus flavius*, popularmente conhecida como macaco-prego-galego.

#### **1.4 Espécie e Hibridização: Implicações na conservação de *Sapajus***

O conceito clássico de espécie pode ser definido como populações que são distintas, isoladas reprodutivamente e coesas entre si. Os limites entre as espécies seriam mantidos por barreiras intrínsecas à troca gênica. No entanto esse conceito tem passado por diversos debates uma vez que a existência de hibridização natural passou a ser um fenômeno cada vez mais identificado pela comunidade científica (Harrison, 1998; Mallet, 2008a).

A hibridização natural pode ser definida como o cruzamento de indivíduos de duas populações ou grupos de populações distintos. Sendo os indivíduos dessas populações distinguidos com base em um ou mais caracteres hereditários (Harrison e Larson, 2014). Esse tipo de fenômeno pode se estabelecer através uma extensa zona de mistura genética, com quantidade variável de introgressão gênica que favorece o fluxo gênico de uma espécie à outra (Bajec et al., 2015)

A transferência de material genético entre espécies através da hibridização é denominada introgressão gênica e ocorre em muitos táxons, gerando consequências importantes no processo evolutivo. Alguns modelos de estudos genômicos nos permitem caracterizar o perfil de introgressão ao longo do genoma, lançando luz sobre seus benefícios adaptativos e as incompatibilidades que ajudam a manter as barreiras naturais entre as espécies (Martin e Jiggins, 2017).

Diante de tantas variações fenotípicas e incertezas taxonômicas, estudos moleculares recentes demonstraram a presença de extensa hibridização difundida entre as espécies do gênero *Sapajus*, potencialmente em regiões de contato ou transição de biomas (Lima et al., 2018). Mais especificamente, Martins (2021) identificou, através de estudos com marcadores moleculares de polimorfismo único (*Single Nucleotide Polymorphisms* ou SNPs), a presença



de uma zona de hibridização entre *S. flavius* e *S. libidinosus* que se estende por cerca de 300 Km, na porção leste da Caatinga, com variação no padrão de ancestralidade genética variando desde as populações “puras” de *Sapajus flavius* presentes na costa paraibana até populações “puras” de *S. libidinosus* no sertão do Piauí, transitando entre esses dois extremos com grupos de indivíduos gradativamente apresentando níveis variados de mistura genética entre estas duas espécies.

Zonas de hibridização natural são, potencialmente, importantes mecanismos evolutivos que podem promover ou prevenir a divergência evolutiva entre táxons, diante da presença de inúmeros fatores ecológicos e intrínsecos de cada espécie, e oferecem grandes desafios para os estudos taxonômicos e para a conservação das espécies (Genovart, 2009).

Apesar de alguns autores promoverem que as políticas de conservação devem cada vez mais reconhecer as populações de organismos selvagens que hibridizam naturalmente dentro de seu contexto histórico-ecológico (Stronen e Paquet, 2013) para que as diretrizes de conservação considerem o valor de indivíduos híbridos com o propósito de conservar a integridade genética da espécie, o manejo de híbridos ainda se trata de um tema recente para a conservação com extensos debates que tentam se alinhar diante desse novo contexto.

A existência de híbridos não naturais (antropogênicos), pode acrescentar uma complexidade ainda maior no trabalho da conservação, uma vez que os resultados de alterações humanas na dinâmica populacional de uma espécie podem trazer impactos às populações silvestres ou gerar dúvidas no momento da tomada de decisão para ações de manejo (Van Wyk et al., 2017).

Os desafios impostos para a conservação de uma espécie que participa de uma zona de hibridização são peculiares, alguns trabalhos demonstraram que pequenas populações isoladas com alto grau de endogamia podem se beneficiar do fluxo gênico promovido pela inserção de um híbrido, no entanto, essa mesma tática, pode gerar outros problemas como susceptibilizar a população receptora a agentes patogênicos, além de contribuir para sua descaracterização através da introgressão gênica (Klemme, 2021).

A diferença marcada entre hibridização natural e hibridização antropogênica se dá na forma como as relações ecológicas moldaram a divergência dos táxons a partir de um longo processo seletivo na primeira. Assim, a necessidade de metodologias robustas se torna evidente no estudo da hibridização, para a detecção de padrões genéticos, como as introgressões, com significância adaptativa relacionados à dispersão de táxons que compartilham uma atual zona de hibridização (Abbott et al., 2016).

## 1.5 Estado de conservação

Atualmente, sabe-se que o macaco-prego-galego tem boa parte de sua distribuição na região do Centro de Endemismo de Pernambuco – CEP, área que corresponde ao que restou de Floresta Atlântica entre os estados do Rio Grande do Norte e Alagoas, sendo a porção mais degradada e menos conhecida e protegida do bioma (Silva & Tabarelli, 2001). Atualmente, são conhecidas apenas 29 localidades com a presença da espécie (Fialho et al, 2014).

A perda e fragmentação de habitat são, conseqüentemente, as principais ameaças a esta espécie, provocando uma drástica redução populacional e, portanto, suscetibilizando esses animais aos riscos tipicamente associados a populações de tamanho pequeno, a depressão endogâmica e perda de variação genética, agravada por forte pressão de caça e apanha (Valença Montenegro et al, 2015ab; Kierulff et al., 2005). Diante de seu estado de conservação, *S. flavius* foi incluída no PAN PRINE, que teve seu primeiro ciclo entre 2011-2017 (ICMBio, 2011) e o segundo ciclo iniciado em 2018 (ICMBio, 2018), que tem como objetivo “Manter e promover a viabilidade de populações das espécies alvo em cinco anos”.

Nessa perspectiva, o manejo genético é desejável para minimizar a endogamia, perda de variabilidade genética, e evitar hibridização nas populações ameaçadas, principalmente aquelas existentes nos pequenos fragmentos de habitat, bem como naquelas mantidas em cativeiro (Frankham et al., 2008). Desde 2013 a equipe do CPB/ICMBio vem realizando o projeto de genética da conservação de *Sapajus flavius*, com o objetivo de conduzir o primeiro estudo sobre a diversidade genética da espécie, com foco em análises filogenéticas, filogeográficas e populacionais.

Este trabalho, então, vem para contribuir com este Plano de Ação Nacional, gerando dados genéticos sobre os indivíduos do gênero *Sapajus* provenientes de cativeiro (potencialmente vítimas de apanha ou tráfico ilegal de animais silvestres) que possam guiar tomadas de decisão para medidas de conservação da espécie da melhor maneira.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivos gerais

Diante do exposto, o presente estudo visa a caracterização da variabilidade genética de indivíduos encontrados na condição *ex situ* (provenientes de CETAS, zoológicos e criadouros conservacionistas), sendo importante por gerar informações sobre a potencial origem dos

indivíduos em cativeiro e a existência de hibridização, que irão auxiliar na qualificação do manejo das populações *ex situ* da espécie.

## 2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o padrão de herança genética dos indivíduos de cativeiro amostrados quando comparados à indivíduos de todas as espécies reconhecidas do gênero *Sapajus*;
- Identificar os indivíduos de cativeiro caracterizados como *S. flavius*, *S. libidinosus* ou híbridos entre estas duas espécies, visando gerar informações que auxiliem no manejo;
- Identificar a possível origem dos animais não-híbridos identificados como *S. flavius*.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Coleta de amostras e sequenciamento

As amostras e material biológico utilizados nas análises genéticas já foram coletadas previamente em atividades e pesquisas coordenadas pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros ou instituições parceiras. Foram utilizados os dados de 287 amostras de ADN de diferentes espécies de macaco-prego para a construção das matrizes de dados deste trabalho, dentre estas, amostras provenientes de animais de cativeiro e de vida livre, coletadas ao longo de todo território nacional, afim de ter uma estrutura genética representativa dentro do gênero para comparar com os indivíduos de cativeiro.

O material genômico (ADN total) dos animais amostrados foi extraído, foram criadas bibliotecas de marcadores genômicos amostrados por todo genoma utilizando a técnica de digestão dupla por enzimas de restrição (ddRAD, Peterson et al. 2012). Foram utilizadas as enzimas: *SphI* e *MluCI*. As bibliotecas de marcadores genômico já foram sequenciadas pelo método de sequenciamento de nova geração na plataforma de sequenciamento Illumina HiSeq 4000, com extensão de 2x150 pb e mínimo de 3 milhões de fragmentos para cada amostra, de acordo com o método padronizado por Valencia e colaboradores (2018). As etapas de sequenciamento e análises genéticas foram conduzidas em laboratórios da Universidade do Texas em Austin, EUA e já estavam disponíveis para execução do presente estudo.

**Tabela 1.** Amostras utilizadas nas diferentes análises. CPB/ICMBio: Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Primatas Brasileiros; UEL: Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina.

<i>Indivíduo</i>	<i>Espécie</i>	<i>Latitude</i>	<i>Longitude</i>	<i>Amostra</i>	<i>Fonte</i>	<i>Análises*</i>
AP110	<i>Sapajus apella</i>	-0,30777778	-52,4513889	Tecido	Lima et al. 2018	1
AP133	<i>Sapajus apella</i>	-0,58277778	-52,3327778	Tecido	Lima et al. 2018	1
AP146	<i>Sapajus apella</i>	3,22027778	-52,0277778	Tecido	Lima et al. 2018	1
AP162	<i>Sapajus apella</i>	3,22027778	-52,0277778	Tecido	Lima et al. 2018	1
AP225	<i>Sapajus apella</i>	3,85388889	-52,7577778	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN138	<i>Sapajus apella</i>	-0,96276944	-55,5222444	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN150	<i>Sapajus apella</i>	-0,16548889	-55,1864	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN153	<i>Sapajus apella</i>	-0,16548889	-55,1864	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN235	<i>Sapajus apella</i>	0,828619444	-53,9312	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN249	<i>Sapajus apella</i>	-0,94396944	-53,2363	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN250	<i>Sapajus apella</i>	-0,94396944	-53,2363	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN292	<i>Sapajus apella</i>	0,630280556	-55,7285	Tecido	Lima et al. 2018	1
CN293	<i>Sapajus apella</i>	0,630280556	-55,7285	Tecido	Lima et al. 2018	1
CP2110	<i>Sapajus robustus</i>	-19,9472111	-43,85275	Sangue	Lima et al. 2018	1
CPB1	<i>Sapajus flavius</i>	-6,57015	-35,131517	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB10	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB102	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB103	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB104	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB105	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB107	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB108	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-10,489513	-36,442764	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB112	<i>Sapajus libidinosus</i>	-9,010022	-42,691312	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB114	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB115	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB128	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB129	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB13	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB132	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB145	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB146	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB159	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB160	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB162	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB164	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB165	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1

CPB167	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB169	<i>Sapajus robustus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB171	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB177	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB178	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB179	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB180	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB181	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB182	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB183	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB184	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB185	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB186	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB187	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB188	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB189	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB190	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB196	<i>Sapajus flavius</i>	-6,57015	-35,131517	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB198	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB199	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB2	<i>Sapajus flavius</i>	-6,57015	-35,131517	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB20	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB200	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB201	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB206	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB207	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB208	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB209	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB21	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB210	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB22	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB237	<i>Sapajus libidinosus</i>	-8,736013	-42,636224	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB238	<i>Sapajus libidinosus</i>	-8,736013	-42,636224	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB239	<i>Sapajus libidinosus</i>	-8,736013	-42,636224	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB240	<i>Sapajus libidinosus</i>	-8,736013	-42,636224	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB241	<i>Sapajus libidinosus</i>	-8,736013	-42,636224	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB26	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB260	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB262	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB263	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB269	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2

CPB275	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB277	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB3	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB363	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB365	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB429	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB430	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB431	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB432	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB433	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB434	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB435	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB436	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB437	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB438	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB440	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB441	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB442	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB444	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB445	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB446	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB449	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB450	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB451	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB452	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB453	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB454	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB462	<i>Sapajus flavius</i>	-6,57015	-35,131517	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB463	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB464	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB465	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB467	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB468	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB470	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB471	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB472	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB473	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB474	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB475	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB502	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB503	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3

CPB504	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB505	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB506	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB508	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB509	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB510	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB511	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB512	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB513	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB514	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB515	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB516	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB517	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB518	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB519	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB520	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB522	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB523	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB527	<i>Sapajus flavius</i>	-6,38901	-35,9421	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB537	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB551	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB552	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB553	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB555	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB556	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB557	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB558	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB559	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB560	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB561	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB562	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB563	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB564	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB565	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB566	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB567	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB570	<i>Sapajus flavius</i>	-7,01510877	-35,0910239	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB576	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB577	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB578	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB579	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3

CPB580	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB581	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB582	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB583	<i>Sapajus flavius</i>	-7,012178	-34,956933	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB589	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB590	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB591	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB592	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB593	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB594	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB595	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB597	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB598	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB599	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB600	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB601	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB602	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB605	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB606	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB607	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB608	<i>Sapajus flavius</i>	-7,476653	-34,984681	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB61	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB612	<i>Sapajus flavius</i>	-7,015639	-35,088806	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB613	<i>Sapajus flavius</i>	-7,015639	-35,088806	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB614	<i>Sapajus flavius</i>	-7,015639	-35,088806	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB615	<i>Sapajus flavius</i>	-7,015639	-35,088806	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2 e 3
CPB616	<i>Sapajus flavius</i>	-6,609469	-35,135155	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB617	<i>Sapajus flavius</i>	-6,609469	-35,135155	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB618	<i>Sapajus flavius</i>	-6,609469	-35,135155	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB625	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB626	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB7	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB74	<i>Sapajus xanthosternos</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1
CPB79	<i>Sapajus libidinosus</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CPB88	<i>Sapajus sp.</i>	-	-	Blood	CPB/ICMBio	1, 2
CPB9	<i>Sapajus flavius</i>	-	-	Sangue	CPB/ICMBio	1, 2
CTG19	<i>Sapajus apella</i>	-2,06069444	-58,3846111	Tecido	Lima et al. 2018	1
CTG30	<i>Sapajus apella</i>	-2,46961111	-58,3959444	Tecido	Lima et al. 2018	1
CTG5673	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-2,44952778	-65,3635556	Sangue	Lima et al. 2018	1
CTG5675	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-2,44952778	-65,3635556	Sangue	Lima et al. 2018	1



DT01	<i>Sapajus libidinosus</i>	-2,7665	-41,8076111	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
DT03	<i>Sapajus libidinosus</i>	-2,80402778	-41,8663889	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
DT05	<i>Sapajus libidinosus</i>	-2,84638889	-41,8305556	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
DT06	<i>Sapajus libidinosus</i>	-2,84638889	-41,8305556	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
DT8	<i>Sapajus libidinosus</i>	-7,92907778	-44,1959861	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
FR115	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-3,37	-60,4847222	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB1253	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-5,20916667	-69,3158333	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB1295	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-4,93555556	-68,1733333	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB1298	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-4,93555556	-68,1733333	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB138	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-4,39586944	-70,1384528	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB139	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-4,39586944	-70,1384528	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB779	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-2,44952778	-65,3635556	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB780	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-2,44952778	-65,3635556	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB807	<i>Sapajus apella</i>	-2,48333333	-55,9666667	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB808	<i>Sapajus apella</i>	-2,6	-56,1833333	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB859	<i>Sapajus apella</i>	-4,66272222	-56,5527222	Tecido	Lima et al. 2018	1
LB860	<i>Sapajus apella</i>	-4,66272222	-56,5527222	Tecido	Lima et al. 2018	1
MCB42	<i>Sapajus apella</i>	-3,36	-51,74	Tecido	Lima et al. 2018	1
MN37431	<i>Sapajus libidinosus</i>	-14,14	-48,17	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
RETA01	<i>Sapajus apella</i>	-3,18007778	-55,8034694	Tecido	Lima et al. 2018	1
RETA2	<i>Sapajus apella</i>	-2,80111111	-55,5752778	Tecido	Lima et al. 2018	1
SGC	<i>Sapajus macrocephalus</i>	-0,23333333	-66,85	Tecido	Lima et al. 2018	1
UFG1	<i>Sapajus libidinosus</i>	-16,6036556	-49,26155	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
UFG2	<i>Sapajus libidinosus</i>	-16,6036556	-49,26155	Tecido	Lima et al. 2018	1, 2
UNIR324	<i>Sapajus apella</i>	-9,10208972	-62,8841861	Tecido	Lima et al. 2018	1
W112	<i>Sapajus nigritus</i>	-22,833333	-53,332778	Sangue	UEL	1
W25	<i>Sapajus nigritus</i>	-22,845833	-53,304444	Sangue	UEL	1
W70	<i>Sapajus cay</i>	-15,564685	-55,67617	Sangue	UEL	1
W72	<i>Sapajus cay</i>	-15,564685	-55,67617	Sangue	UEL	1

\* Análises: 1 – Análise comparando os animais de cativeiro com todas as espécies de *Sapajus*; 2 – análise comparando os animais de cativeiro selecionados a partir da análise 1 com os indivíduos de *S. flavius* e *S. libidinosus*; e 3 – análise comparando os animais de cativeiro geneticamente caracterizados como *S. flavius* com as populações silvestres desta espécie.

### 3.2 Montagem, controle de qualidade das sequências e preparação de matriz de SNPs

Avaliação da qualidade, filtragem, alinhamento e genotipagem dos fragmentos de ADN sequenciados para identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) foram

conduzidas com o programa *ipyrad* (Eaton 2014), que funciona em sete etapas distintas, limpando as extremidades das leituras, removendo os barcodes, filtrando as melhores bases de acordo com o escore *Phred* e agrupando as leituras parecidas em loci putativos contra um genoma de referência (ainda não publicado) para enfim identificar os SNPs que serão usados nas etapas posteriores.

A matriz de dados contendo amostras de várias espécies do gênero *Sapajus* passaram por duas filtragens de qualidade das leituras na terceira etapa do *ipyrad* para identificar quais indivíduos poderiam compor a base de dados final. A primeira filtragem foi realizada com profundidade mínima (*depth* – que se refere ao número mínimo de fragmentos que deverão ser utilizados em cada *locus* para realização da genotipagem) de 6x para os loci putativos, isto é, diferentes fragmentos de ADN têm que se sobrepor pelo menos seis vezes para serem mantidos nas etapas seguintes, sendo retirados todas as leituras que apresentaram uma pontuação do parâmetro “clusters\_hidepth” abaixo de 6. As amostras provenientes da primeira filtragem que possuíam a pontuação de clusters\_hidepth entre 6 e 12 passaram por um processo de análise mais cuidadoso na segunda filtragem, que foi realizada com uma profundidade mínima de 12x. Foram mantidos com profundidade mínima entre 6x e 12x somente aqueles indivíduos de *S. flavius* que pertenciam a populações das quais tínhamos poucas amostras, enquanto para as demais amostras foram retidas apenas aquelas com mínimo 12x de pontuação de clusters\_hidepth. Além disso, foram retirados indivíduos previamente caracterizados como híbridos (Martins, 2021) para favorecer o padrão de agrupamento esperado dos animais de vida livre e facilitar a comparação dos indivíduos provenientes de cativeiro com as populações naturais.

A matriz de SNPs gerada pelo programa *ipyrad*, após a retirada dos indivíduos com leituras de baixa qualidade, passou por um processo de filtragem, com o software VCFtools (Danecek, 2011), afim de selecionar os SNPs que se encontravam a, no mínimo, 5000 pb (pares de bases) de distância, com intuito de evitar o efeito “*Linkage Disequilibrium*” (LD – desequilíbrio de ligação), que é a associação não-aleatória de alelos próximos em dois ou mais loci (Single, 2016), posteriormente a matriz reduzida passou por uma triagem através do Bayescan (Fischer, 2011) para identificação e filtragem de SNPs que potencialmente estão sob efeito de pressão seletiva. Após todas as etapas de filtragem e controle de qualidade, as matrizes de dados foram convertidas em arquivos de outros formatos de interesse para posterior uso com o programa PGDSPIDER (Excoffier et al 2012).

### 3.3 Análise de populações

Para entender melhor a estrutura da diversidade genética dos indivíduos de cativeiro e avaliar a presença ou não de hibridização, notando os graus de mistura desses indivíduos em relação às amostras de vida livre, realizamos análises de estrutura populacional, usando o método de agrupamento baseado em modelo de análise Bayesiano com o software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) para inferir o número ideal de populações genéticas ( $K$ ), conforme sugerido pelos dados dos SNPs. O modelo usa a abordagem Markov Chain Monte Carlo (MCMC), que agrupa os indivíduos em “ $K$ ” populações com base em seu genótipo, sem a necessidade de usar informações sobre sua proveniência ou atribuição de espécies com base na morfologia, apesar de contar com esse uso de forma opcional para facilitar o agrupamento.

Para caracterizar a estrutura genética dos indivíduos de interesse, dividimos o estudo em três análises hierárquicas. Na primeira etapa, os indivíduos de cativeiro foram comparados com os grupos genéticos encontrados quando incluídas todas as espécies do gênero *Sapajus*, para averiguar se os indivíduos de cativeiro agrupam com o padrão esperado para as espécies da região Nordeste (*S. flavius* ou *S. libidinosus*). Os indivíduos que agruparam com as espécies da região Nordeste, foram utilizados na segunda etapa para serem comparados com as populações naturais de *S. flavius* e *S. libidinosus* e identificar a existência de animais híbridos e “puros” dentre os indivíduos de cativeiro. Por fim, os animais identificados como *S. flavius* “puros” foram utilizados na terceira etapa para identificar o pertencimento genético a populações naturais conhecidas da espécie, visando identificar a potencial origem desses indivíduos de cativeiro.

Para as análises de estrutura populacional com o programa STRUCTURE, foram inicialmente realizadas estimativas do valor de lambda ( $\lambda$ ), que é um parâmetro referente à frequência dos alelos nas populações. Para cada inferência foram realizadas 10 repetições para cada valor de  $K$  (variando  $K$  de acordo com a necessidade de cada análise posterior, conforme descrito abaixo), e a média dos valores inferidos foi utilizada nas análises subsequentes.

Para cada uma das análises, usamos o modelo de ADMIXTURE (que considera como premissa a frequência de alelos correlacionada entre as diferentes espécies ou populações) e avaliamos o  $K$  variando de 1–10, com 10 repetições para cada  $K$ , com 10.000 iterações de burn-in seguidas por 100.000 iterações de MCMC, como proposto em estudos anteriores (Lima et al., 2018). Identificamos o número mais provável de clusters usando o método delta  $K$  ( $\Delta K$ , Evanno et al., 2005) utilizando o programa CLUMPAK (Kopelman et al. 2015) e o

pacote R *adegenet* (Jombart 2008). Os arquivos de dados gerados a partir da análise feita pelo STRUCTURE foram utilizados como arquivo input para o pacote *adegenet* (Jombart 2008) implementado no R para a análise visual dos resultados e produção dos gráficos.

Para a análise inicial, utilizamos uma matriz de dados (SNPs) com os indivíduos de cativeiro e indivíduos com procedência conhecida de várias espécies de *Sapajus*, incluindo um total de 228 indivíduos (Tabela 1 – Análise 1), e utilizamos o valor de  $\lambda = 0,4898$ . Nesta análise inicial avaliamos o padrão de herança genética dos indivíduos de cativeiros, sendo esperado que eles agrupassem, majoritariamente, com os indivíduos de *S. libidinosus* e *S. flavius*, considerando a localização geográfica de ambas espécies (Oliveira e Langguth, 2006; Rylands et al., 2013), a identificação taxonômica potencial dos indivíduos de cativeiro que havia sido realizada previamente com base em caracteres morfológicos e o fato de que os cativeiros de onde os animais foram amostrados no presente estudo são em sua maioria localizados na região nordeste.

Para a segunda análise, utilizamos uma matriz contendo indivíduos de *S. flavius*, *S. libidinosus* e os indivíduos de cativeiro que apresentaram herança genética para alguma dessas duas espécies na primeira análise (n=174), e utilizamos o valor de  $\lambda = 0,4712$ . Nesta análise, identificamos os indivíduos híbridos e “puros” entre estas duas espécies, utilizando o parâmetro de no mínimo 90% de pertencimento ao cluster da respectiva espécie para identificar o indivíduo como “puro”, conforme sugerido pelo estudo de Vähä e Primmer (2005).

Na terceira análise, foi utilizada uma matriz de dados contendo apenas indivíduos provenientes das populações naturais de *S. flavius* e os indivíduos de cativeiro previamente identificados como *S. flavius* “puros” (n=106), e utilizamos o valor de  $\lambda = 0,5914$ . Os resultados desta etapa foram utilizados para identificar a probabilidade do pertencimento dos indivíduos de cativeiro caracterizados como *S. flavius* (na análise anterior) a populações naturais conhecidas da espécie, inferindo a potencial origem desses animais.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Controle de qualidade

A partir de um número inicial de amostras contando com 287 indivíduos, as etapas de filtragem conduzidas no *ipyrad* conseguiram descartar um total de 59 amostras que não possuíam os requisitos de qualidade necessários para se manter na matriz final, além daqueles indivíduos previamente caracterizados como híbridos (Martins, 2021), para melhor

caracterizar os agrupamentos das espécies incluídas na análise e favorecer uma melhor caracterização genética dos indivíduos de cativeiro. Ao final da filtragem foram retidos um total de 228 indivíduos que compuseram a matriz final (Tabela 1).

O número total de marcadores provenientes da matriz gerada pelo *ipyrad* foi de 241.844 SNPs, após as etapas de filtrações conduzida pelos softwares VCFtools e Bayescan, foram geradas três matrizes contendo diferentes quantidades de dados (ou SNPs) faltantes (*missing data*), ou seja, marcadores que não estão presentes em todas as amostras/indivíduos. A matriz com menor número de *missing data*, 95% completa, continha 3638 SNPs e foi usada nas etapas posteriores de análise populacional.

## 4.2. Estrutura das Populações

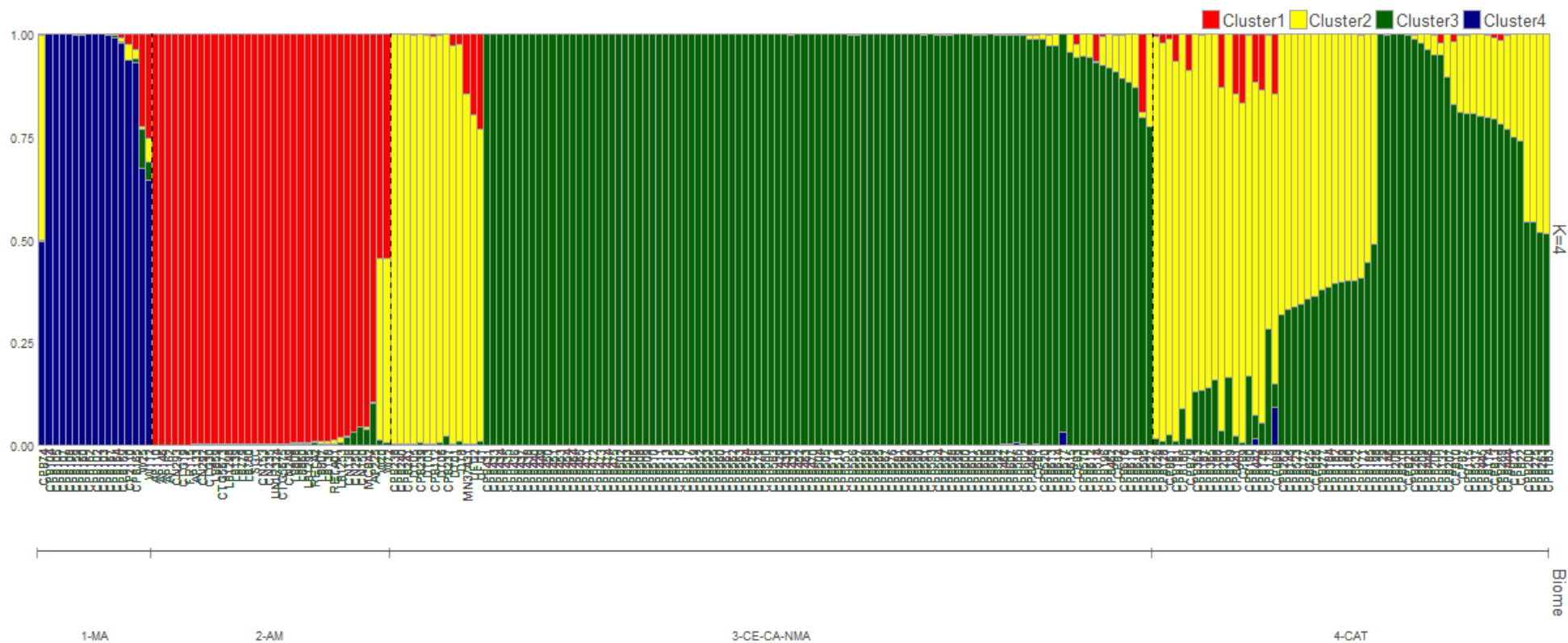
### 4.2.1 Primeira Análise (STR1)

Na análise utilizando o modelo ADMIXTURE ( $K=1-10$ ), o melhor  $K$  foi indicado como sendo  $K=2$  segundo o método de Evanno (2005), onde se obteve uma divisão dos dois clusters caracterizados da seguinte forma: 1) Grupo de indivíduos ou espécie com ocorrência na Mata Atlântica do Nordeste; e 2) Grupo de indivíduos ou espécies com ocorrência na Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco (*S. robustus*, *S. xanthosternos* e *S. nigrinus*). Todos os outros indivíduos (potencialmente pertencentes às espécies amazônicas, *S. apella*, *S. macrocephalus* e *S. cay*, e à espécie com ocorrência no Cerrado e Caatinga, *S. libidinosus*) se apresentaram com diferentes graus de mistura (Figura 2).

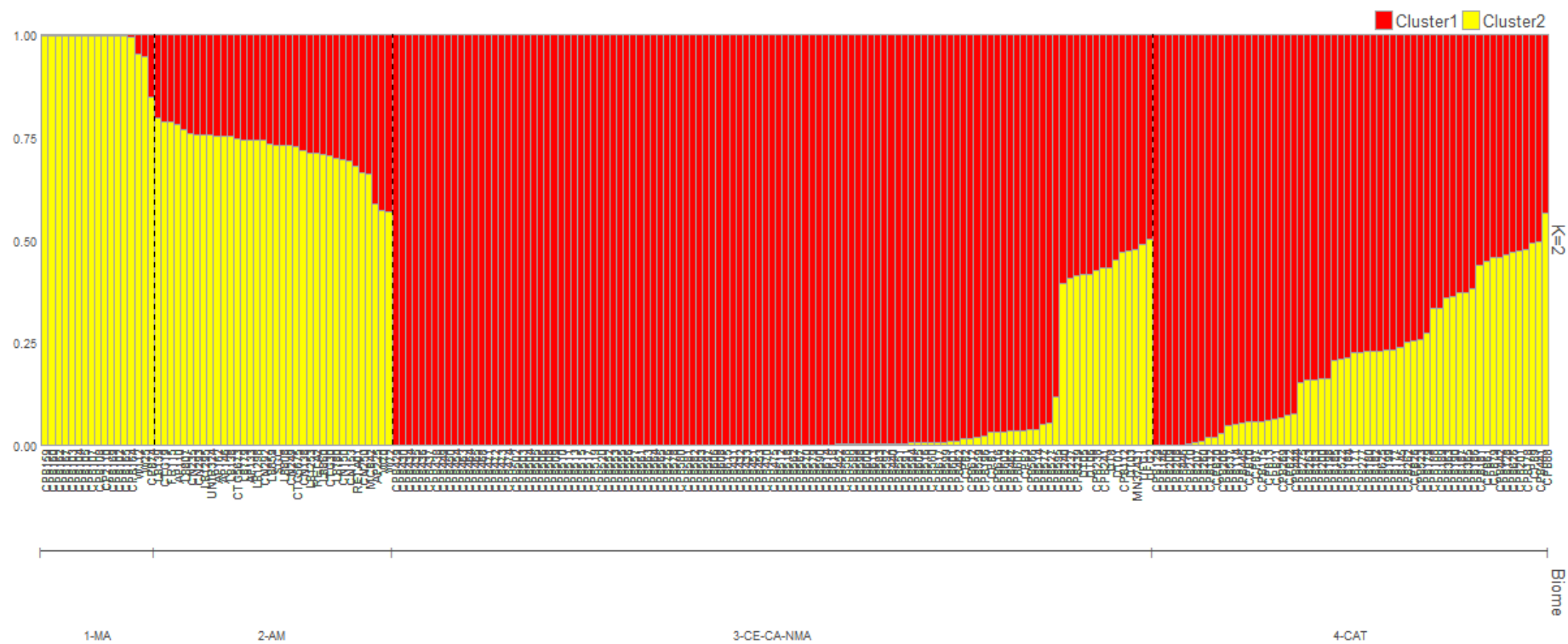
Considerando a complexidade na determinação do melhor valor de  $K$  (Pritchard et al., 2000; Evanno et al., 2005; Puechmaile, 2016), especialmente quando há grande variação no número de indivíduos de cada população/espécie utilizados na análise, além da sugestão de que sejam analisados os valores de  $K$  que tenham importância ou significado biológico (Meirmans, 2015) avaliamos o  $K$  até  $K=4$ , onde os clusters começaram a se separar melhor de acordo com os grupos de espécies referentes aos biomas: 1) majoritariamente indivíduos amazônicos (*S. apella*, *S. macrocephalus*, *S. cay*); 2) e 3) sendo os clusters majoritários da região Cerrado-Caatinga-Mata Atlântica do Nordeste (CE-CA-NMA), representando respectivamente *S. libidinosus* e *S. flavius*; e 4) indivíduos do sul da Mata Atlântica (*S. robustus*, *S. xanthosternos* e *S. nigrinus*) (Figura 1).

Os indivíduos de cativeiro começaram a se encaixar no perfil genético esperado pra região nordeste, com diferentes graus de mistura genética (*admixture*) entre as populações amostradas de *S. flavius* e *S. libidinosus* no eixo CE-CA-NMA, além de alguns indivíduos

apresentarem alguma proporção de herança genética com o cluster das espécies amazônicas (1), e um indivíduo apresentou certa proporção de herança genética com o cluster caracterizado pelas espécies que ocorrem na Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco (4) (Figura 1). Ao fim desta etapa todos os indivíduos de cativeiro com herança genética para os clusters correspondentes às espécies *S. flavius* ou *S. libidinosus* foram selecionados para compor a segunda análise.



**Figura 1.** Gráfico em barras da primeira análise do STRUCTURE para  $K=4$ , onde estão demarcados os indivíduos de acordo com as regiões: “1-MA” = Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco; “2-AM” = amazônicos; “3-CE-CA-NMA” = eixo Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica ao norte do São Francisco; e “4-CAT” = cativoiro.



**Figura 2.** Gráfico em barras da primeira análise do STRUCTURE para  $K=2$ , onde estão demarcados os indivíduos de acordo com as regiões: “1-MA” = Mata Atlântica ao sul do rio São Francisco; “2-AM” = amazônicos; “3-CE-CA-NMA” eixo Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco; e “4-CAT” = cativoiro.



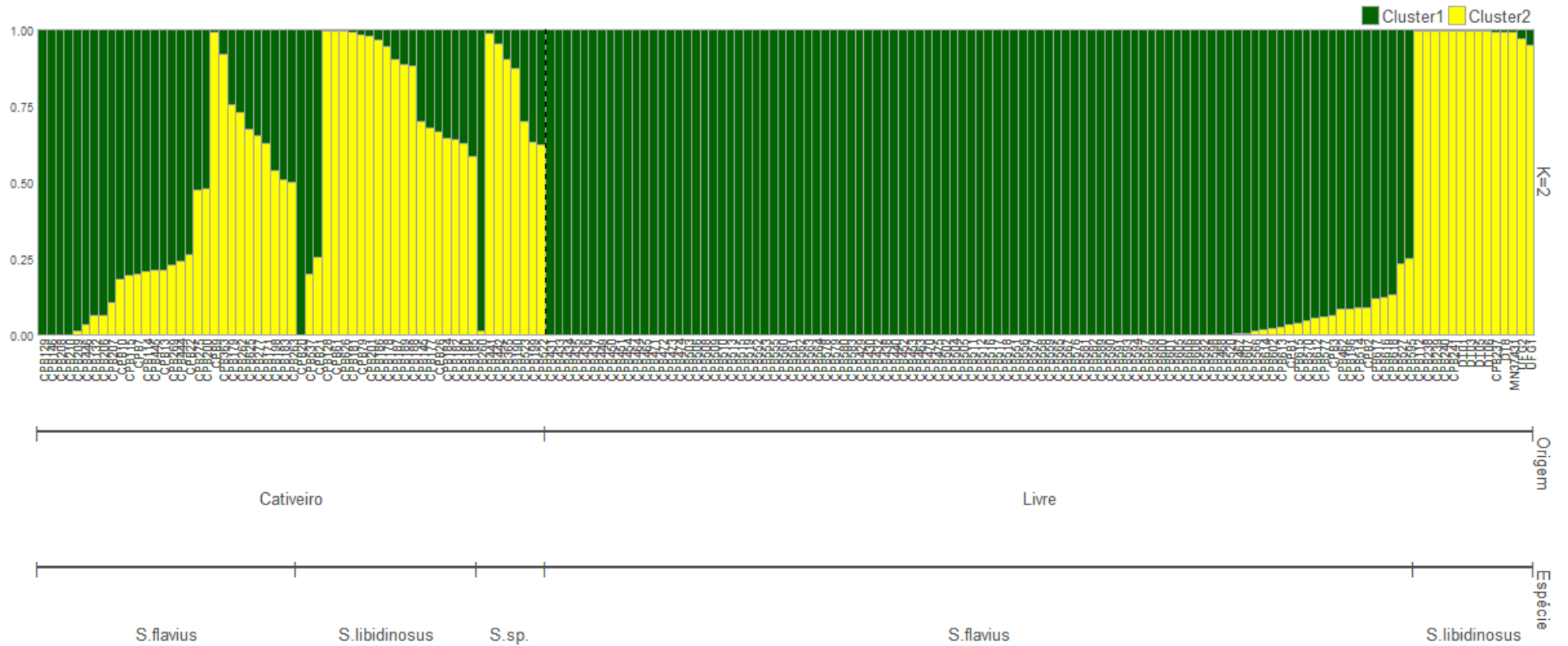
#### 4.2.2 Segunda Análise (STR2)

O modelo ADMIXTURE (K= 1-10), com o melhor K sendo K=2, foi implementado na segunda análise para melhor caracterizar os indivíduos de cativeiro, refinando a análise comparando diretamente com as espécies que agruparam na primeira etapa (Figura 1) e para caracterizar o padrão de herança genética de cada indivíduo de cativeiro, identificando animais pertencentes a alguma das espécies além dos animais potencialmente híbridos (Figura 3).

Para compor a matriz dessa análise foram utilizados 174 indivíduos, dentre estes estão aqueles de vida livre (identificados como *S. flavius* ou *S. libidinosus*) e os de cativeiro, provenientes da primeira análise. Os animais de cativeiro presentes nesta etapa totalizavam um montante de 59 indivíduos dos quais: 35 foram caracterizados como híbridos (<90% de pertencimento a uma das espécies); 14 foram identificados como *S. libidinosus*; e 10 foram identificados como *S. flavius*.

É interessante notar que nem todos os indivíduos taxonomicamente identificados como sendo pertencentes a uma espécie, com base nos caracteres morfológicos, tinham, necessariamente, esse respaldo na análise genética, uma vez que diferentes proporções de mistura foram encontradas nos indivíduos de cativeiro.

Apesar de valores de  $K > 2$  terem sido plotados, não foram de grande valor biológico para a análise de interesse, uma vez que já era conhecida a existência das duas espécies na matriz proposta e se objetivava apenas a identificação daqueles animais mais próximos de *S. flavius*.



**Figura 3.** Gráfico de barras da segunda análise do STRUCTURE para K=2., onde estão demarcados os indivíduos de acordo com a origem (Cativeiro ou vida livre), bem como pela identificação da espécie: *S. flavius*, *S. libidinosus* e indivíduos sem identificação clara marcados, como *S. sp.* A identificação taxonômica dos indivíduos de cativeiro foi realizada pela equipe de campo no momento da coleta de amostras, com base nas características morfológicas de cada indivíduo.

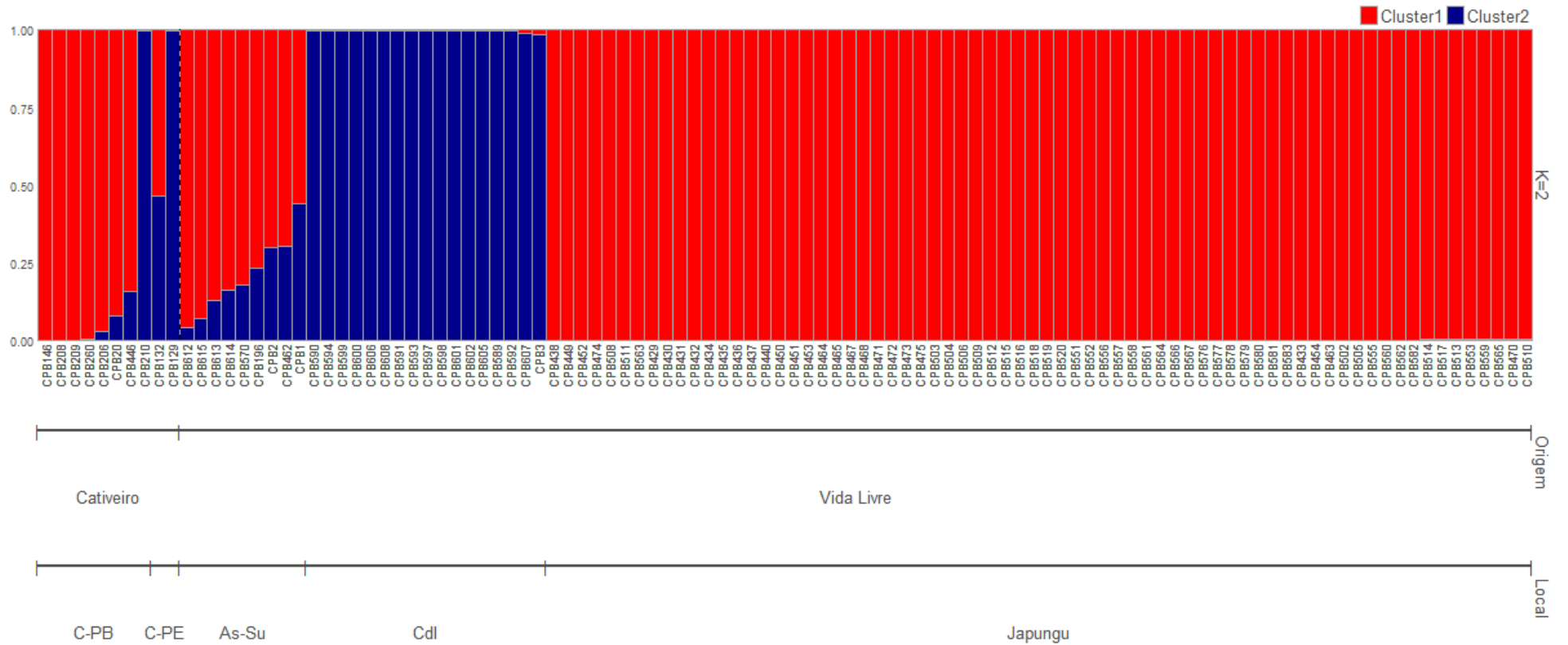
### 4.2.3 Terceira Análise (STR3)

Nesta etapa foram utilizados todos os indivíduos identificados como *S. flavius* para compor a matriz analisada através do software STRUCTURE (n=106). Foi implementado o modelo de ADMIXTURE com o melhor valor de K identificado pelo método de Evanno (2005) sendo K=2 (Figura 4), no entanto essa análise foi avaliada em maiores valores de K, como K=3 (Figura 5), para melhorar a resolução de acordo com os grupos de indivíduos.

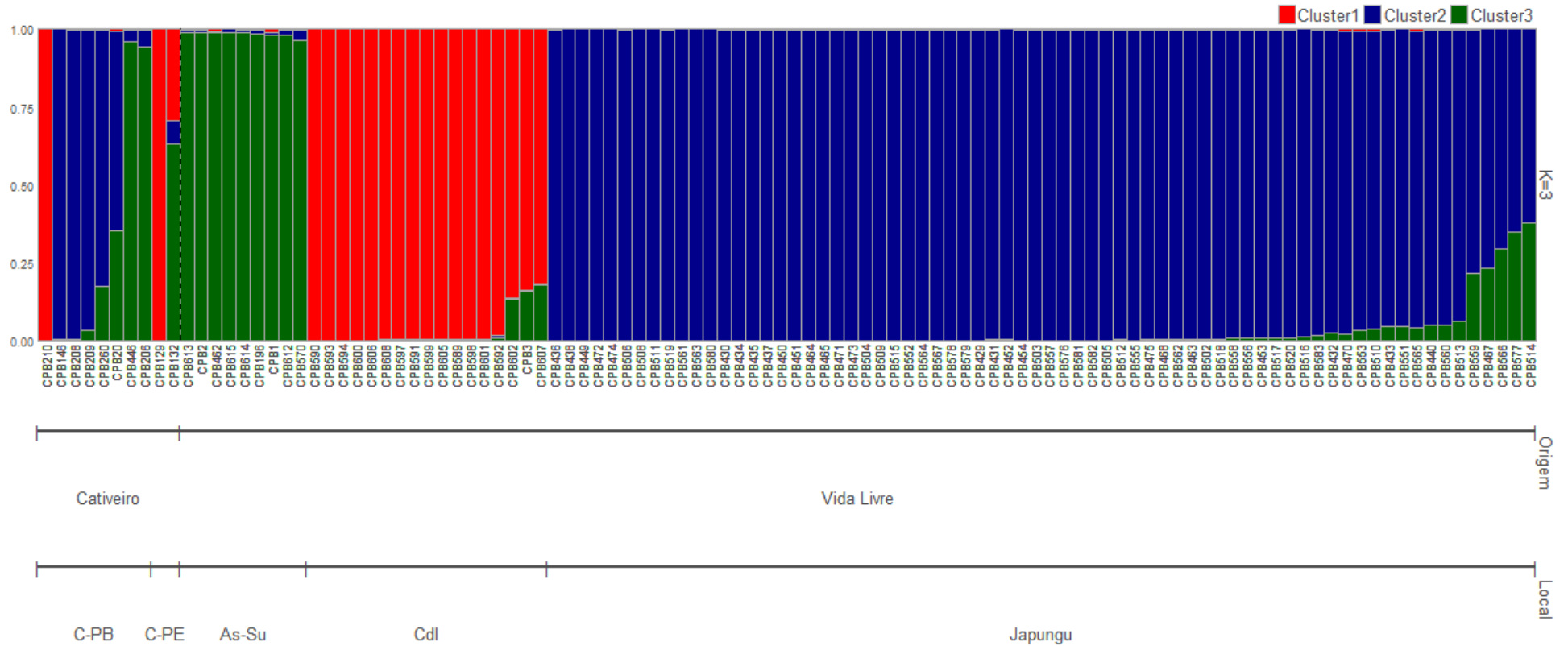
Por se tratar de uma análise intraespecífica, utilizamos como legenda da Figura 4 e Figura 5 a localização geográfica de origem dos animais de vida livre, dessa forma, fizemos uma separação de três principais grupos, sendo estes: (1) Mata da ASPLAN e Sucupira; (2) Mata do córrego do inferno, em Pernambuco; (3) RPPN do engenho Gargau/Japungu, uma reserva particular de patrimônio natural.

Vale salientar que a localização geográfica não define uma população no ponto de vista genético, no entanto essa forma de classificação foi uma boa ferramenta para avaliar se os dados provenientes do sequenciamento desses animais faziam sentido com a distribuição geográfica desses grupos.

A partir dessa última análise foi identificado o perfil genético de animais de cativeiro correspondente a populações naturais da espécie. Os indivíduos CPB210 e CPB129 permaneceram consistentemente vinculados à população do Córrego do Inferno à medida que valores de K mais altos foram analisados, da mesma forma que os indivíduos CPB446 e CPB206 permaneceram consistentemente vinculados à população ASPLAN-Sucupira. O indivíduo CPB132 apresentou um certo grau de ADMIXTURE entre as duas populações citadas anteriormente, com maioria de pertencimento à população ASPLAN-Sucupira. Os indivíduos CPB146, CPB208, CPB209, CPB260 CPB20 apareceram vinculados à população Japungu.



**Figura 4.** Gráfico em barras da terceira análise do STRUCTURE para K=2. Aqui estão demarcados os indivíduos de cativoiro: “C-PB” CETAS da Paraíba; “C-PE” CETAS de Pernambuco. Além de três populações naturais geograficamente separadas: “As-Su” Mata da ASPLAN e Sucupira; “Cdl” Mata do Córrego do Inferno; “Japungu” referente à RPPN do engenho Gargau/Japungu.



**Figura 5.** Gráfico em barras da terceira análise do STRUCTURE para K=3. Aqui estão demarcados os indivíduos de cativeiro: “C-PB” CETAS da Paraíba; “C-PE” CETAS de Pernambuco. Além de três populações naturais geograficamente separadas: “As-Su” Mata da ASPLAN e Sucupira; “Cdl” Mata do Córrego do Inferno; “Japungu” referente à RPPN do engenho Gargau/Japungu.

## 5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Na primeira análise, avaliando o  $K=4$ , os resultados corroboram com o estudo realizado por Lima et al. (2018), onde os clusters genéticos se separam principalmente entre os grupos amazônicos, mata atlântica sul e cerrado-caatinga-mata atlântica norte, porém nossos dados contam com uma divisão marcada entre os indivíduos de *S. libidinosus*, em amarelo, e *S. flavius*, em verde (Figura 1).

Durante a etapa de seleção das amostras para este estudo, os indivíduos que foram previamente caracterizados como híbridos em outros trabalhos foram retirados para a construção das matrizes de SNPs, com intuito de facilitar a visualização do possível efeito de hibridização nas populações em cativeiro, isso gerou uma divisão bem marcada dos agrupamentos genéticos propostos anteriormente, uma vez que nossos resultados não contam com um extensivo nível de hibridização entre as diferentes espécies do gênero, como notado por Lima et al. (2018).

Na análise mais abrangente (Figura 1), os indivíduos de cativeiro demonstraram que seu padrão de herança genética é compatível com as espécies *S. flavius* e *S. libidinosus*, o que era esperado, uma vez que a maioria dos cativeiros de onde as amostras desse trabalho foram coletadas eram da região Nordeste do Brasil, localidade de origem das espécies citadas. No entanto, ainda nesta etapa, já é possível identificar que a estruturação apresentada pela maioria dos indivíduos de cativeiro também é de característica híbrida entre *S. flavius* e *S. libidinosus*, ainda que alguns indivíduos demonstrem alto grau de “pureza” dentre as amostras observadas. Na segunda etapa de análise, contendo apenas populações naturais de *S. flavius*, *S. libidinosus* e os indivíduos de cativeiro com padrão de herança genética esperado para os grupos do eixo Cerrado-Caatinga-Mata Atlântica ao norte do rio São Francisco (CE-CA-NMA, Figura 3), as amostras se agruparam de acordo com as duas espécies, demonstrados em verde (*S. flavius*) e amarelo (*S. libidinosus*) no gráfico da Figura 3. A presença de híbridos entre os indivíduos de cativeiro nessa análise, assim como na primeira, foi um cenário majoritário observado.

Martins (2021) já descreveu a existência de uma zona de hibridização natural entre *S. flavius* e *S. libidinosus*, presente na transição de biomas entre Mata Atlântica (ao norte do São Francisco) e Caatinga, propondo que essa zona tem desempenhado um papel importante no fluxo gênico entre as duas espécies. No entanto, como a origem dos animais de cativeiro aqui avaliada é desconhecida, estes animais de cativeiro caracterizados como híbridos podem ser

oriundos de alguma localidade dentro desta zona de hibridização natural, como também podem ser prole de animais que tenham hibridizado em cativeiro.

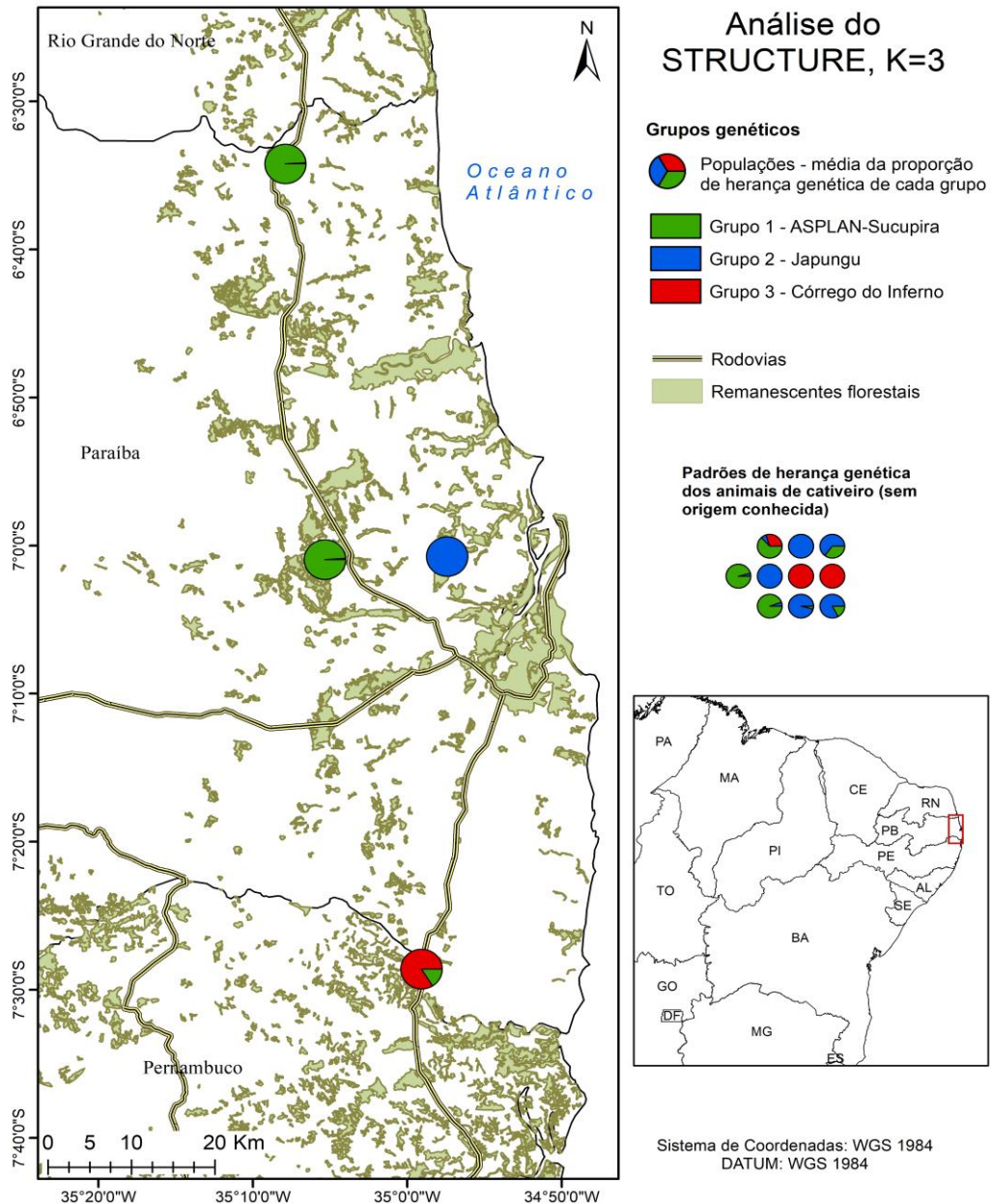
Apesar da hibridização ser um fenômeno recorrente em diversas espécies de primatas na condição *in situ* (Arnold e Meyer, 2016), podendo estar correlacionada com a manutenção de fluxo e variabilidade gênica dentro de um táxon (Schwenk et al., 2008), permitindo uma ampla ação do processo de seleção natural e consequente especiação, esta também pode ser uma inimiga da conservação quando acontece por intermédio de ação humana, levando à descaracterização de populações naturais por meio da inserção de indivíduos com padrão genético estranho àquele grupo ou localidade (Malukiewicz, 2015).

Para todos os fins, a metodologia utilizada neste trabalho não foi desenhada para diferenciar híbridos naturais de híbridos não-naturais, portanto, para fins de possível manejo dos animais, optamos pela filtragem de todos os indivíduos identificados como híbridos para realizar uma análise mais estrita, contendo somente aqueles indivíduos com >90% de pertencimento ao cluster de *S. flavius*, que representariam animais com alta herança genética de populações naturais puras, direcionando nossos esforços para rastrear a possível origem desses indivíduos nas populações naturais não-híbridas.

Vale notar que alguns indivíduos morfologicamente identificados como pertencentes a uma espécie não necessariamente estruturaram de acordo com o padrão esperado para a mesma (Figura 3), como é o caso do indivíduo CPB20 que foi identificado morfologicamente como *S. libidinosus* mas agrupou com alto pertencimento às populações de vida livre *S. flavius*, ou os indivíduos CPB363 e CPB9 (retirados da última análise) que foram identificados como *S. flavius* mas agruparam com as populações de vida livre de *S. libidinosus*. Esse fato demonstra a importância da caracterização genética dos indivíduos diante das incongruências taxonômicas que podem surgir entre essas duas espécies do gênero.

Na terceira e última etapa de análise realizada obtivemos um cenário inicial para o valor de K sendo K=2 (Figura 4), pudemos observar uma marcada separação entre os indivíduos da localidade Córrego do Inferno e as demais amostras, demonstrando a partir desse valor que dois indivíduos de cativeiro tinham alto grau de pertencimento a esse cluster, sendo estes: CPB210 e CPB129. Quando o valor de K foi analisado para K=3 (Figura 5) obtivemos o padrão de agrupamento genético correspondente com as localidades dos animais de vida livre, com a estrutura genética das populações correspondendo às localidades: ASPLAN-Sucupira, Japungu e Córrego do Inferno (AS-su, Japungu e CdI na Figura 5) com a

informação adicional de que os indivíduos CPB446, CPB206 e CPB132, provenientes do cativeiro, tinham um padrão esperado para o grupo As-Su enquanto que os demais indivíduos compartilhavam o padrão do grupo Japungu.

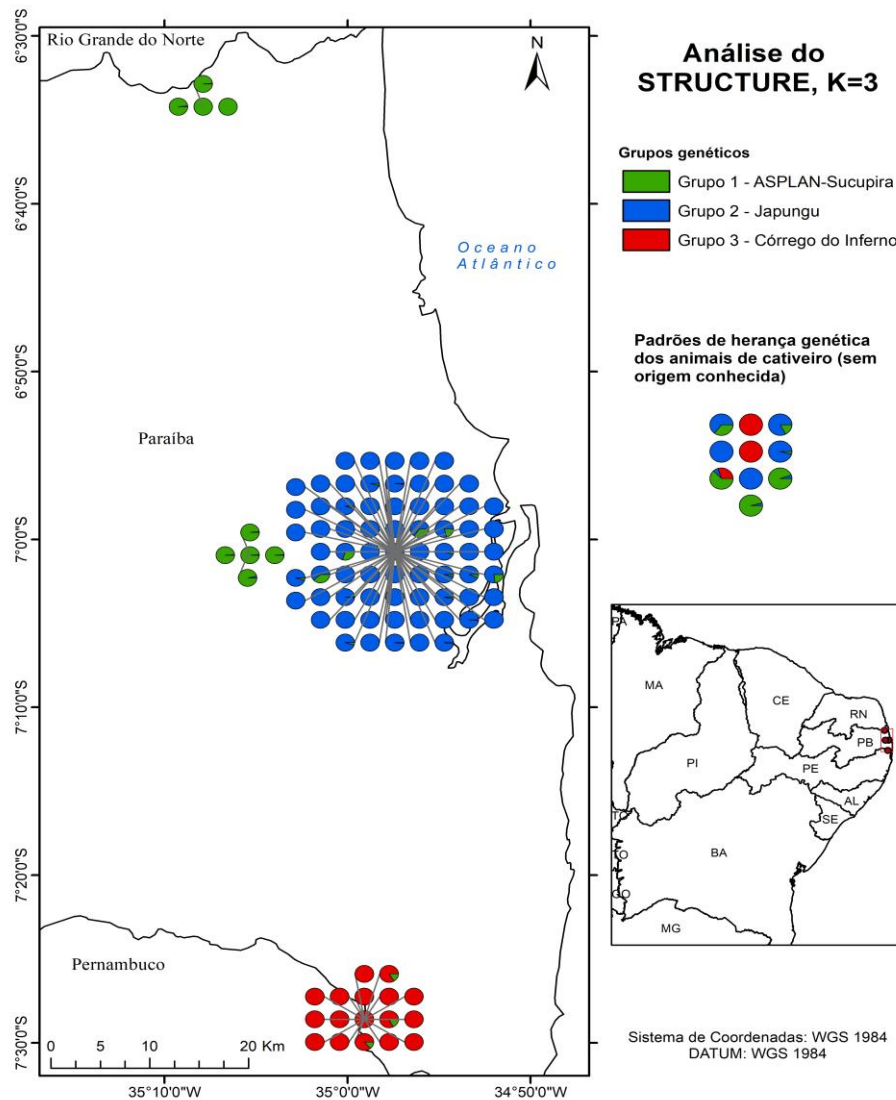


**Figura 6.** Mapa demonstrando a média da proporção de herança genética de cada população de indivíduos de vida livre amostrados em comparação com o padrão de herança genética dos indivíduos de cativeiro (representados na legenda à direita).

O perfil genético médio das três populações indicadas corrobora, de certa forma, com sua distribuição geográfica, como observado na Figura 6. As populações ASPLAN-Sucupira e Japungu foram encontradas em dois grupos genéticos distintos na análise de K=3. Entretanto,



é interessante notar que a população da ASPLAN fica localizada a leste da rodovia (BR-101) que separa as populações da Japungu e Sucupira, visto que esta última está localizada a oeste desta rodovia. Isto pode indicar que a rodovia BR-101 não deve ter sido o primeiro fator antrópico impactando a estruturação genética dessas populações. Outros fatores, como a expansão da matriz de cana-de-açúcar na região, podem ter afetado o isolamento da população da Japungu antes mesmo do asfaltamento e duplicação da BR-101. Por outro lado, a população do Córrego do Inferno está isolada pelo curso do rio Paraíba, que limita seu contato com os outros dois grupos, podendo estar há mais tempo isolada, pela existência dessa barreira natural não ligada às atividades antrópicas, o que explica o alto grau de diferenciação da população quando analisada em ambas análises de  $K=2$  e  $K=3$ .



**Figura 7.** Mapa demonstrando a proporção de herança genética de cada população amostrada, para cada indivíduo isoladamente, em comparação com o padrão de herança genética dos indivíduos de cativeiro (representados na legenda à direita).

Quando comparamos as amostras de forma individual (Figura 7), podemos notar entre os indivíduos Japungu, que alguns deles possuem um certo grau de mistura genética com a população ASPLAN-Sucupira, essa observação nos sugere que ainda pode existir fluxo gênico entre estas populações e, além disto, que as cinco amostras de cativo (CPB146, CPB208, CPB209, CPB260 e CPB20) que tem um padrão genético muito similar ao grupo Japungu possam, de fato, ter uma herança genética relacionada a esta população.

Ademais, dois indivíduos de cativo já citados anteriormente apresentaram, indubitavelmente, um padrão correlacionado às populações ao sul do rio Paraíba (Córrego do Inferno), enquanto os indivíduos CPB446 e CPB206 se correlacionaram com o grupo ASPLAN-Sucupira.

Em se tratando de uma análise dentro da espécie *S. flavius*, leva-se em consideração que o fluxo gênico entre as populações pode ocorrer. Entretanto, considerando o alto grau de degradação, a fragmentação da matriz florestal nesta região da Mata Atlântica do litoral nordestino, e o padrão de estruturação genética das populações demonstrado neste estudo, sugere-se que estas populações possam estar ou isoladas ou com fluxo gênico bastante reduzido. Novos estudos abordando os impactos da paisagem na estruturação genética das populações do macaco-prego-galego poderão auxiliar, também, na indicação de necessidade de ações de conservação que ampliem a conectividade entre as populações da espécie.

De fato, o caso específico do indivíduo CPB132, que apresentou um grau de pertencimento de aproximadamente 70% à população ASPLAN-Sucupira e 30% à população do Córrego do Inferno, levanta dúvidas se sua origem seria natural diante do padrão observado nas populações de vida livre. Porém deve-se levar em consideração que a amostragem obtida para realização desse trabalho talvez não tenha captado de forma completa o perfil genético das populações remanescentes. No entanto, sendo um indivíduo *S. flavius* com alto grau de pureza, levamos em conta a maior proporção de ancestralidade desse indivíduo como indicativo de origem a uma população natural.

O conjunto de ferramentas de genética de populações presentes neste trabalho, quando utilizadas respeitando certas limitações, se demonstraram eficientes em identificar e ajudar na seleção de indivíduos de linhagens “puras”, no caso de espécies com potencial de hibridização natural ou em cativo. Quando utilizadas com matrizes mais afinadas, se demonstraram ferramentas precisas em rastrear a população de origem de animais provenientes de cativo. Esse trabalho se atém ao macaco-prego galego, no entanto, essas mesmas análises poderiam se ampliar para os indivíduos *S. libidinosus* afim de traçar sua origem a populações naturais e facilitar a tomada de decisão no momento da reintrodução desses indivíduos.

Para tanto, o desenvolvimento de metodologias mais robustas para a diferenciação de hibridização natural em detrimento da hibridização não-natural a partir de uma matriz de dados de SNPs se torna necessário a fim de potencializar as decisões de manejo com bases em dados mais precisos sobre a ancestralidade dos indivíduos.

## **6. RECOMENDAÇÕES PARA O MANEJO**

De acordo com as informações provenientes de todas as análises, é visível o grau de mistura genética dos animais encontrados em cativeiro. A partir da diferenciação pontual dos animais considerados híbridos e não-híbridos (ou com baixíssima mistura), é necessário um cuidado reprodutivo para evitar a procriação continuada dos indivíduos híbridos e a possível mistura dos indivíduos não híbridos, ao passo em que o manejo das populações de cativeiro deve contemplar a manutenção da variabilidade para evitar depressão endogâmica.

A dificuldade da reintrodução de primatas que estiveram em cativeiro por muito tempo é um grande entrave no que tange à conservação desse grupo, tornando a medida de reintrodução praticamente inviável para os animais identificados como “puros” (tanto *S. flavius* quanto *S. libidinosus*). Dessa forma, é necessária extrema cautela no manejo dos indivíduos de cativeiro, sendo aconselhado, quando possível, apenas a reintrodução de indivíduos que tenham origem conhecida ou que foram previamente caracterizados geneticamente.

A utilização dos indivíduos previamente caracterizados geneticamente como pertencentes a linhagens puras de *S. flavius* em programas de reprodução pode ser uma ótima estratégia caso seja necessária esse tipo de ação para a expansão demográfica da espécie no futuro. Para tanto, se torna desejável a ampliação de estudos de caracterização genética das populações naturais e dos indivíduos provenientes de cativeiro afim de contribuir com melhor direcionamento às ações de manejo.

A partir dos resultados obtidos para os indivíduos de cativeiro, concluímos que existe uma pressão de apanha em todas as populações naturais amostradas, o que torna evidente a necessidade de intensificar as ações de combate ao tráfico nas localidades correspondentes aos grupos genéticos encontrados.

Neste trabalho foram gerados dados populacionais referentes à espécie *S. flavius*, onde se tornou possível rastrear a origem desses animais, facilitando a escolha do local de reintrodução para cada indivíduo de maneira específica afim de preservar a identidade

genética associada a cada população natural, otimizando o manejo e contribuindo com a manutenção da diversidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao ICMBio, mais especificamente à unidade CPB, e ao CNPq por oferecerem as condições necessárias para o desenvolvimento desse projeto e pela oportunidade do crescimento técnico-científico de alunos graduandos.

Agradeço também à orientadora Amely Martins, por todos os conhecimentos repassados, pela paciência e pela oportunidade de fazer parte de seu projeto de pesquisa que tem me feito amadurecer enquanto estudante e pesquisador, tal qual ao seu grupo de pesquisa que vem realizando trabalhos fundamentais para a preservação e descobrimento da história natural de primatas neotropicais.

Agradeço, por fim, a todos os profissionais de campo que se envolveram nas difíceis e longas coletas do material utilizado para realizar esse trabalho, sem eles nada disso seria possível.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, Richard J.; BARTON, Nicholas H.; GOOD, Jeffrey M. Genomics of hybridization and its evolutionary consequences. *Molecular ecology*, 2016.

ARNOLD, Michael L.; MEYER, Axel. Natural hybridization in primates: one evolutionary mechanism. *Zoology*, v. 109, n. 4, p. 261-276, 2006.

BAJEC, S.S.; PUSTOVRH, G.; JESENŠEK, D.; SNOJ, A. Population genetic SNP analysis of marble and brown trout in a hybridization zone of the Adriatic watershed in Slovenia. *Biological Conservation*. V. 184. Pp. 239-250. 2015

BARNES, Andrew D. et al. Direct and cascading impacts of tropical land-use change on multi-trophic biodiversity. *Nature ecology & evolution*, v. 1, n. 10, p. 1511-1519, 2017.

CHAPMAN, Colin A. et al. Primates can be a rallying symbol to promote tropical forest restoration. *Folia Primatologica*, v. 91, n. 6, p. 669-687, 2020.

Danecek P., Auton A., Abecasis G., Albers C., Banks E., DePristo M., Handsaker R., Lunter G., Marth G., Sherry S., McVean G., Durbin R. and 1000 Genomes Project Analysis Group, 2011. The Variant Call Format and VCFtools, *Bioinformatics*.

Eaton DAR. 2014. PyRAD: assembly of de novo RADseq loci for phylogenetic analyses. *Bioinformatics*. 30(13):1844–49.

Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620.

Excoffier, L., Smouse, P., & JM, Q. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479–491.

Ferreira, JG.; Silva, TCF.; Oliveira, MM.; Laroque, PO.; Fialho, MS.; Valença-Montenegro, MM.; Sevcic, SM. & Gonçalves, GF. 2007. Situação Atual e Perspectivas de Conservação de *Sapajus flavius* (Primates, Cebidae). Resumos do XII Congresso Brasileiro de Primatologia. Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil.

Fialho MS, Valença Montenegro MM, Silva TCF, Ferreira JG, Laroque PO. Ocorrência de *Sapajus flavius* e *Alouatta belzebul* no Centro de Endemismo Pernambuco. *Neotropical Primates*. v. 21, n.2, 2014. p.214-118.

Fischer MC, Foll M, Excoffier L and G Heckel (2011) Enhanced AFLP genome scans detect local adaptation in high-altitude populations of a small rodent (*Microtus arvalis*). *Molecular Ecology* 20: 1450-1462

Frankham, R. (2008), Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Mol Ecol.*, 17:325-333

GENOVART, Meritxell. Natural hybridization and conservation. *Biodiversity and Conservation*, v. 18, n. 6, p. 1435-1439, 2009.

HARRISON, R.G. Linking evolutionary pattern and process: the relevance of species concepts for the study of speciation. *Endless forms species and speciation*. New York: Oxford University Press. p. 19–31. 1998

Hershkovitz, P. 1949. Mammals of Northern Colombia Preliminary Report no. 4: Monkeys (Primates), with taxonomic revisions of some forms. *Proc. US. Natm. Mus.*, 3232(98): 323-427.

Hershkovitz, P. 1987. A History of The Recent Mammalogy of the Neotropical Region from 1492 to 1850. *Fieldiana Zoology* 39: 11 – 98.

Hill, W.C.O. (1960) *Primates: comparative anatomy and taxonomy*. IV. Cebidae, Part A. Edinburgh University Press, Edinburgh.

ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). 2011. Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Primatas do Nordeste: Sumário Executivo. Website: [http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna\\_brasileira/planodeacao/865-pan-primatas-do-nordeste](http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna_brasileira/planodeacao/865-pan-primatas-do-nordeste).

ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). 2018. Portaria ICMBio nº242 de 27 de março de 2018. Disponível e m [http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-primatas-nordeste/2%C2%BA\\_ciclo/Portaria\\_242\\_PAN\\_PRINE\\_2\\_ciclo.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-primatas-nordeste/2%C2%BA_ciclo/Portaria_242_PAN_PRINE_2_ciclo.pdf)

Jombart, T. (2008). Adegnet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403–1405.

Kierullff, M. C. M., Santos, G. R., Canale, G. R., Carvalho, C. E. G., Cassano, C. R., Gouveia, P. S., Gatto, C. A. F. R. et al. 2005. Plano de Manejo para a conservação do macaco-prego-do-peito-amarelo, *Cebus xanthosternos*. In: “Avaliação das populações de macaco-prego-do-peito-amarelo (*Cebus xanthosternos*) e proposta de estratégia para manejo e conservação da espécie”. Edital FNMA/PROBIO nº 04/2001

KLEMMME, Ines et al. Opposing health effects of hybridization for conservation. *Conservation Science and Practice*, p. e379, 2021.

Kopelman, Naama M; Mayzel, Jonathan; Jakobsson, Mattias; Rosenberg, Noah A; Mayrose, Itay. CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* 15(5): 1179-1191, doi: 10.1111/1755-0998.12387

LAURANCE, William F.; SAYER, Jeffrey; CASSMAN, Kenneth G. Agricultural expansion and its impacts on tropical nature. *Trends in ecology & evolution*, v. 29, n. 2, p. 107-116, 2014.

Lima, M.G.M.; Buckner, J.C.; Silva-Júnior, J. de S. e; Aleixo, A.; Martins, A.B.; Boubli, J.P.; et al. 2017. Capuchin monkey biogeography: understanding *Sapajus* Pleistocene range expansion and the current sympatry between *Cebus* and *Sapajus*. *Journal of Biogeography* 44: 810–820.

Lima, M.G.M.; Silva-Júnior J. S.; Černýc D.; Buckner J.C.; Aleixo A.; Chang J.; Zheng J.; Alfaro M.E.; Martins A.; Fiore A.D.; Boubli J.P.; Alfaro J. W. L. 2018. A phylogenomic perspective on the robust capuchin monkey (*Sapajus*) radiation: First evidence for extensive population admixture across South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 124, 137–150.

Lynch Alfaro, J.W.; Boubli, J.P.; Olson, L.E.; Di Fiore, A.; Wilson, B.; Gutiérrez-Espeleta, G.A.; et al. 2012b. Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys: Biogeography of Neotropical capuchin monkeys. *Journal of Biogeography* 39: 272–288

Lynch Alfaro, J.W.; Silva, J.D.S.E.; Rylands, A.B. 2012a. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of *Sapajus* and *Cebus*: *Sapajus* and *Cebus*. *American Journal of Primatology* 74: 273–286.

Marcgrave, George. 1942 [1648]. *História Natural do Brasil*. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado. Tradução de José Procópio de Magalhães

MALLET J. 2008a. Mayr's view of Darwin: was Darwin wrong about speciation? *Biol J Linn Soc.* 95:3–16.

MALUKIEWICZ, Joanna et al. Natural and anthropogenic hybridization in two species of eastern Brazilian marmosets (*Callithrix jacchus* and *C. penicillata*). *PloS one*, v. 10, n. 6, p. e0127268, 2015.

MARTIN, S.H.; JIGGINS, C.D. Interpreting the genomic landscape of introgression. *Current Opinion in Genetics & Development*. v. 47, pp. 69-74. 2017

MARTINS, A.B. A Phylogenomics and Population Genomics study of the Robust Capuchin Monkey (*Sapajus*) Radiation: First Genus-Wide Analyses of Admixture and Species Boundaries in Neotropical Primates. Austin. 241p. 2021

MEIRMANS, P.G. Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology* 24: 3223–3231. 2015

MMA. 2014. Portaria N° 444, Ministério do Meio Ambiente, Reconhece como espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção".

Oliveira, M. M. & Langguth, A. 2006. Rediscovery of Marcgraves's Capuchin Monkey and Designation of a Neotype for *Simia flavia* SCREBER, 1774 (Primates, Cebidae). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série Zoologia* 523: 1-16.

Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, Hoekstra HE. 2012. Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for De Novo SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species. *PLoS ONE*. 7(5):e37135

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945–959.

Puechmaille, S.J. 2016. The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources* 16: 608–627.

Rylands, A.B.; Mittermeier, R.A.; Bezerra, B.M.; Paim, F.P.; Queiroz, H.L. 2013. Species accounts of Cebidae. In: Mittermeier, R.A.; Rylands, A.B.; Wilson, D.E. (Eds.), *Handbook of the Mammals of the World, 3 (Primates)*. Lynx Edicions, Barcelona, p.390–413.

Rylands, A.B., Schneider, H., Langguth, A., Mittermeier, R.A., Groves, C.P. & Rodríguez-Luna, E. (2000) An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical Primates*, 8, 61–93.

SCHWENK, Klaus; BREDE, Nora; STREIT, Bruno. Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 363, n. 1505, p. 2805-2811, 2008.



Silva, JMC & Tabarelli, M. 2001. The future of Atlantic Forest in Northeastern Brazil. *Conservation Biology*, v.15, p.819-820.

Silva Júnior, J. S. 2001. Especiação nos Macacos-Prego e Caiararas, Gênero *Cebus* Erxleben, 1777 (Primates, Cebidae). Tese de Doutorado em Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro – Brasil. 377pp.

Silva Júnior, J. S. 2002. Taxonomy of Capuchin Monkeys, *Cebus* Erxleben, 1777. *Neotropical Primates* 10 (1): 29.

Single R. M.; Thomson G. 2016. Linkage Disequilibrium: Population Genetics of Multiple Loci. *Encyclopedia of Evolutionary Biology*. 400-404pp. ISBN 9780128004265.

STRONEN, A.V.; PAQUET, P.C. Perspectives on the conservation of wild hybrids. *Biological Conservation*. V. 167, pp. 390-395. 2013

Valencia, L.M.; Martins, A.; Ortiz, E.M.; Di Fiore, A. 2018. A RAD-sequencing approach to genome-wide marker discovery, genotyping, and phylogenetic inference in a diverse radiation of primates. *PLOS ONE* 13: e0201254.

Valença-Montenegro, M.M., Bezerra, B.M., Martins, A.B., Jerusalinsky, L., Fialho, M.S. & Lynch Alfaro, J.W. 2021. *Sapajus flavius* (amended version of 2020 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T136253A192592928. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T136253A192592928.en>. Acesso em: agosto de 2021.

Valença-Montenegro, MM.; Bezerra, BM.; Martins, AB.; Fialho, MS. 2015a. Avaliação do Risco de Extinção de *Sapajus flavius* (Schreber, 1774) no Brasil. Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. ICMBio. [http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/faunabrasileira/lista\\_de\\_especies/7272\\_mamiferos\\_sapajus\\_flavius\\_macaco\\_prego\\_galego.html](http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/faunabrasileira/lista_de_especies/7272_mamiferos_sapajus_flavius_macaco_prego_galego.html)

VAN WYK, Anna M. et al. Quantitative evaluation of hybridization and the impact on biodiversity conservation. *Ecology and Evolution*, v. 7, n. 1, p. 320-330, 2017.

Vähä, J.-P.; Primmer, C.R. 2005. Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci: GENETIC DETECTION OF HYBRIDS. *Molecular Ecology* 15: 63–72.

Zijlstra, J.S. The nomenclature of the blond capuchin, *Cebus flavius* (Schreber, 1799) (Mammalia, Primates, Cebidae). *Zootaxa* 4820: 398–400. 2020