

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CAMPUS SÃO CARLOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA**

**CAUÊ MONTICELLI**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO ISOLADA DE BUGIO-RUIVO  
(*ALOUATTA GUARIBA CLAMITANS*) (CABRERA, 1940) NO PARQUE  
ESTADUAL DAS FONTES DO IPIRANGA, SÃO PAULO - SP**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação  
em Conservação da Fauna  
para obtenção do título de  
mestre profissional em  
Conservação da Fauna.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Alexandra Sanches

São Carlos

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO ISOLADA DE BUGIO-RUIVO  
(*ALOUATTA GUARIBA CLAMITANS*) (CABRERA, 1940) NO PARQUE  
ESTADUAL DAS FONTES DO IPIRANGA, SÃO PAULO - SP**



---

Cauê Monticelli – Aluno



---

Alexandra Sanches – Orientador



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna

---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Cauê Monticelli, realizada em 25/03/2019:

*Alexandra Sanches*

---

Profa. Dra. Alexandra Sanches  
UFSCar

*Patricia Domingues de Freitas*

---

Profa. Dra. Patrícia Domingues de Freitas  
UFSCar

*Laurence Marianne Vincianne Culot*

---

Profa. Dra. Laurence Marianne Vincianne Culot  
UNESP

## **Agradecimentos**

À minha orientadora Alexandra Sanches por todo ensinamento prático e teórico fundamental para o desenvolvimento deste projeto.

À Irys Gonzalez pelo substancial auxílio nas atividades práticas e burocráticas dentro do laboratório da FPZSP.

À Patrícia Locosque pelo auxílio nas atividades laboratoriais, pelas discussões do projeto e demais assuntos relacionados ao PPGCFau.

À Renata Soares pela disposição em avaliar na forma de teste as amplificações dos diferentes primers para a espécie alvo deste estudo.

Aos meus colegas de turma, Ana Cláudia Marera, André Costa, Angélica Midori, Daniel Ferrari e Marcelo Bellini pelas discussões, experiências vivenciadas juntos, parceria e risadas durante o período de mestrado.

Aos professores Alexandra Sanches, Augusto João Piratelli, Giulianna Rondineli, Mercival Roberto, Patrícia Domingues e Pedro Galetti pelos conhecimentos repassados durante as disciplinas e pelas ótimas discussões em sala de aula.

À FPZSP pelo total apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À Gabriela Favoretto pelo incentivo em iniciar essa jornada, pela aprazível companhia, amor e imensa paciência nos últimos anos, além de todo apoio técnico nas atividades dissertativas, mesmo que isso tenha me custado um rodízio de comida japonesa.

## Resumo

A fragmentação do habitat, principalmente quando por causas antrópicas, pode influenciar na variabilidade genética das espécies, em especial sobre as populações isoladas em pequenos fragmentos, resultando na redução do tamanho populacional e da capacidade de dispersão. O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) é o maior fragmento de Floresta Atlântica inserida na Região Metropolitana de São Paulo. Por ser uma área isolada em ambiente urbano, sofre efeito insular e está sob pressão antropogênica que gera impactos negativos para a biodiversidade local. Dentre as espécies silvestres, o bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) é o único primata autóctone. Partindo da hipótese de que a população isolada de bugios do PEFI é endogâmica e apresenta baixa diversidade genética, foram utilizados 10 *loci* de marcadores microsatélites heterólogos para avaliar a diversidade genética, coeficiente de endogamia, gargalo populacional e informações iniciais sobre a estrutura populacional e parentesco. Para isso, foi efetuado a extração de DNA e genotipagem de amostras de sangue de 30 animais capturados. Como resultados foram encontrados 49 alelos com média de 4,9 alelos por loco, sendo 2,95 o número efetivo de alelos, riqueza alélica média de 4,73,  $H_o$  média de 0,49 e  $H_e$  média = 0,58. Foi observado déficit de heterozigotos e o coeficiente de endogamia  $F_{is}$  foi 0,16, indicando a ocorrência de endocruzamento. O teste de correlação de Pearson e a análise de variância (ANOVA) foram utilizados para analisar a relação entre a distância geográfica dos animais capturados e a distância genética obtida através na análise de parentesco e, com base nos resultados obtidos, observou-se uma maior proximidade de machos adultos aparentados do que de machos adultos não relacionados. O teste de redução populacional não detectou gargalos populacionais recentes. Entretanto, apesar da ausência de gargalos e da moderada diversidade genética encontrada, a população de bugios do PEFI apresentou média considerável de coeficiente de endogamia e diversidade genética inferior a outras populações isoladas.

**Palavras-chave:** microsatélite; parentesco; estrutura populacional; PEFI, Atelidae

## Abstract

The fragmentation of the habitat mainly through anthropic causes may infer the genetic variability of species, specially over isolated populations in small fragments, leading to the reduction in population size, and spreading potential. Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) is the largest fragment of Atlantic Forest inserted in the Metropolitan Region of São Paulo. For being an isolated area in urban environment, it takes the insular effect and it is under anthropogenic pressure that generates negative impact to the local biodiversity. Within wild species, the red howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) is the only autochthone primate. Starting from the hypothesis that the isolated population of red howlers of PEFI is endogamic and it presents low genetic diversity, 10 loci heterological microsatellite indicators have been used in order to assess the genetic diversity, endogamy coefficient, population bottleneck, and initial information over the population structure, and kinship. Thus, the DNA extraction and genotyping of the blood samples were performed in 30 animals captured. As a result, 49 alleles were found with an average of 4,9 alleles per loco, being 2,95 the effective number of alleles, a richness allelic average of 4,73, average  $H_o$  of 0,49, and average  $H_e = 0,58$ . It was observed a deficit in heterozygotes and  $F_{is}$  endogamic coefficient being 0,16, pointing the occurrence of inbreeding. The Pearson correlation test and the analysis of variance (ANOVA) were used in order to analyze the relation between the geographic distance of the captured animals and the genetic distance obtained through the analysis of kinship and, based on the results obtained, it has been observed a greater proximity of male adults family-related than non-related male adults. The populational reduction test has not detected recent population bottlenecks. Nevertheless, in spite of the absence of bottlenecks and the moderate genetic diversity found, the population of brown howlers of PEFI has presented a considerable average of endogamic coefficient, and genetic diversity inferior to other isolated populations.

**Keywords:** microsatellite; kinship; population structure; PEFI, Atelidae.

## Lista de Figuras

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1 – Localização do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga na cidade de São Paulo – SP.....  | 15 |
| FIGURA 2 – Coleta de sangue da veia femoral de <i>Alouatta guariba clamitans</i> do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga para posterior extração de DNA genômico.....                | 17 |
| FIGURA 3 – Pontos de captura dos indivíduos de <i>Alouatta guariba clamitans</i> amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga e seus respectivos números de identificação..... | 18 |
| FIGURA 4A-B – Amostras aplicadas em gel de agarose 1% e resultado da eletroforese observada em transiluminador.....  | 20 |
| FIGURA 5 – Fêmea de <i>Alouatta guariba clamitans</i> do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo – SP, com anomalia de coloração.....  | 30 |
| FIGURA 6 – Gráfico gerado pelo Structure Harvester indicando a existência de uma população de <i>Alouatta guariba clamitans</i> no PEFI a partir do método de Evanno (2005).....       | 49 |
| FIGURA 7 – Gráfico de barras obtido pelo Structure com K = 1, 2 e 3. Representando a população não estruturada de <i>Alouatta guariba clamitans</i> do PEFI.....                       | 50 |
| FIGURA 8 – Grupo de <i>Alouatta guariba clamitans</i> atravessando ponte artificial suspensa no interior do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga.....                                | 51 |

## Lista de Tabelas

TABELA 1 – Descrição dos 10 *loci* microssatélites heterólogos e polimórficos utilizados para *Alouatta guariba clamitans* no presente trabalho.....19

TABELA 2 – Medidas de diversidade genética do bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo – SP, a partir da avaliação de 10 *loci* de microssatélites em 30 indivíduos.....35

TABELA 3 – Valores de p encontrados para o teste de sinal e Wilcoxon frente aos diferentes modelos utilizados para avaliar a probabilidade de eventos recentes de declínio populacional para os *Alouatta guariba clamitans* estudados. Valores calculados usando o software Bottleneck (Piry *et al.* 1999).....52



## Sumário

|   |     |
|---|-----|
| 1. Introdução .....   | 9   |
| 2. Justificativa.....   | 12  |
| 3. Hipótese .....   | 13  |
| 4. Objetivos .....  | 13  |
| 4.1. Objetivo Geral.....  | 13  |
| 4.2. Objetivos Específicos.....   | 13  |
| 5. Materiais e Métodos .....  | 14  |
| 5.1. Área de Estudo.....  | 14  |
| 5.2. Espécie em estudo .....  | 16  |
| 5.3. Coleta do material biológico.....  | 188 |
| 5.4. Extração e quantificação de DNA .....  | 20  |
| 5.5. Amplificação dos locos de microssatélite e genotipagem.....                        | 21  |
| 5.6. Análises populacionais .....   | 24  |
| 5.7. Parentesco e estrutura genética .....  | 25  |
| 5.8. Gargalo Populacional.....  | 27  |
| 6. Resultados e discussão.....  | 28  |
| 6.1. Coleta de material biológico e pressão antrópica sobre os bugios .....             | 28  |
| 6.2. Sucesso de amplificação e genotipagem dos locos heterólogos de microssatélite..... | 34  |
| 6.3. Análise da diversidade genética .....  | 36  |
| 6.4. Parentesco e estrutura genética .....  | 46  |
| 6.5. Gargalo Populacional.....  | 54  |
| 7. Implicações para conservação .....   | 57  |
| 7.1. Endogamia.....   | 57  |
| 7.2. Capacidade suporte e translocação.....   | 59  |
| 8. Considerações finais .....   | 62  |
| 9. Conclusão .....  | 64  |
| 10. Anexo .....   | 66  |
| 11. Referências .....   | 77  |

## 1. Introdução

A fragmentação de habitat é definida não só pela perda de habitat, mas também pelo processo no qual uma paisagem original é convertida em manchas menores e isoladas, sendo considerada como uma das principais ameaças à biodiversidade (van den Berg *et al.*, 2001; Fahrig, 2003). É um fator naturalmente presente em qualquer ecossistema, sendo resultante, principalmente, de transformações geomorfológicas e de mudanças climáticas. Em comparação com o processo natural, a fragmentação antrópica provoca mudanças muito mais bruscas e acentuadas e, até certo ponto, irreversíveis nas condições de vida, levando a modificações rápidas na composição e na diversidade das comunidades (Lord & Norton, 1990; Metzger, 1999; Ferrari, 2002).

Os ecossistemas tropicais são relacionados à fragmentação e perda de habitat, especialmente a Mata Atlântica, que é considerado um dos biomas mais ameaçados do mundo (Mittermeier *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2009; Jenkins *et al.*, 2013). A Mata Atlântica originalmente abrangia uma área total de 1.315.460 km<sup>2</sup> ao longo de 17 estados brasileiros (Peres, 2010), sendo uma das regiões biologicamente mais ricas do planeta (Mittermeier *et al.*, 2006) e restando atualmente apenas 12,4% de sua cobertura original (Hirota, 2018). Além disso, a maior parte dessa cobertura encontra-se em pequenos fragmentos menores que 250 hectares e apenas 9,3% desses remanescentes estão dentro de Unidades de Conservação (Hirota, 2018).

Entre as poucas, porém importantes áreas remanescentes de Mata Atlântica efetivamente protegidas como Unidades de Conservação na cidade de São Paulo, está o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga – PEFI. Seus limites são

demarcados desde 1893 com o intuito de preservar as nascentes da região, entretanto, a Unidade de Conservação foi criada oficialmente em 1969 (Bicudo *et al.*, 2002). Atualmente possui área de 526,4 ha e o remanescente de Mata Atlântica mais próximo é o Parque Estadual da Cantareira, localizado a aproximadamente 20 km do PEFI. Cercado pela urbanização, o PEFI possui tempo de isolamento desconhecido e sua biodiversidade vem sofrendo impactos negativos decorrentes da pressão urbana.

Dentre as 26 espécies de mamíferos conhecidas para a área (Monticelli *et al.*, dados não publicados), os bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) são os únicos primatas autóctones do PEFI. Os primatas neotropicais são bioindicadores para estudos de fragmentação (Chapman *et al.*, 2003, Lacher, 2006) e algumas espécies estão relacionadas ao equilíbrio ecológico do habitat, cujas populações começam a declinar conforme avanço dos eventos antrópicos que geram alteração de habitat (Terborgh, 1986). Por habitarem ambientes florestais, muitas espécies de primatas são afetadas pela redução da cobertura vegetal, fato que as torna vulneráveis em paisagens fragmentadas (Chiarello & Melo, 2001). Por outro lado, espécies como as de bugios tendem a se ajustar às mudanças até determinados níveis (Terborgh, 1986).

Apesar da capacidade de ajuste de algumas espécies, os habitats reduzidos se tornam inviáveis em longo prazo. Os principais fatores estão relacionados à extinção dos recursos-chave de alimentação, interrupção do fluxo gênico entre as populações separadas e aumento das tensões sociais nos grupos, o que remete a um confronto agonístico entre os indivíduos e afeta também o tamanho da área de vida, a plasticidade e a adaptabilidade alimentar (Marsh *et al.*, 2003).

Alguns estudos com a população de bugios-ruivos do PEFI vêm sendo desenvolvidos com enfoque em ecologia (Benedicto *et al.*, 2015), microbiologia (Franco & Oliveira, 2014) e impactos antrópicos (Monticelli & Morais, 2015). A única estimativa populacional da espécie na área de estudo é de Benedicto *et al.* (2015), que após estudarem a área de vida de dois grupos, com média de 4,55 ha, estimaram a densidade populacional de 1,53 indivíduos por hectare. Este valor foi extrapolado para os 357 ha de reserva biológica, que resultou na estimativa média de 549 bugios para o PEFI, sendo 392 o mínimo e 706 o máximo.

Além desses estudos, medidas mitigatórias têm sido implementadas para minimizar impactos no qual os primatas são acometidos, como eletroplessão e atropelamento. Exemplo dessas medidas é a troca da fiação por estruturas mais tecnológicas que impedem a descarga elétrica acidental mesmo quando o animal entra em contato físico com a linha de transmissão de energia. Junto a isso foram instaladas pontes suspensas para a passagem segura da fauna arborícola por áreas que apresentam riscos para os primatas e demais espécies locais. Com essas ações, os impactos resultantes em óbitos tendem a diminuir. Entretanto, não se sabe em quais condições genéticas estes animais isolados se encontram. Fato este que pode ser um entrave para a manutenção da população de bugios-ruivos do PEFI no futuro, pois com o isolamento geográfico gerado pela expansão da cidade de São Paulo, a população de bugios do PEFI sofre impedimento do fluxo gênico e limitação da busca por recursos diversos.

O isolamento de populações relativamente pequenas em ambientes isolados pode levar ao aumento da endogamia e da pressão de efeitos aleatórios, tais como deriva genética (Couvét, 2002; Frankham, 2003). Esses processos podem causar

uma perda de variabilidade genética e possível fixação de alelos deletérios, que por sua vez pode levar à perda da viabilidade da população em longo prazo (Bjilsma *et al.*, 2000; Frankham *et al.*, 2002; Keller & Waller, 2002; Reed & Frankham, 2003). Apesar de estudos mostrarem que os bugios não são apenas altamente tolerantes a perturbações do habitat, mas podem realmente prosperar em paisagens fragmentadas (Chiarello, 2003; Ferrari *et al.*, 2003; Gilbert, 2003; Rodriguez-Toledo *et al.*, 2003; Camargo, 2007), eles não estão isentos dos efeitos da perda da diversidade genética a longo prazo (Bastos *et al.*, 2010), diversidade na qual é essencial para a adaptação de uma espécie frente às pressões ambientais (Frankham, 2003).

## **2. Justificativa**

Considerando o acelerado e exponencial processo de urbanização da cidade de São Paulo, tendo como consequências os diversos impactos à fauna, torna-se prioridade adquirir conhecimentos sobre as populações das espécies inclusas nos principais fragmentos florestais da cidade. Além disso, é necessário identificar as principais pressões a que essas espécies estão submetidas, de forma a possibilitar a aplicação de medidas mitigatórias para as situações que podem infligir impactos pontuais na composição e integridade dos grupos e da população propriamente dita. Tais medidas almejam a manutenção e conservação das espécies nos ambientes naturais já bastante restritos.

Segundo Chiarello (2000), somente fragmentos florestais maiores que 20.000 ha são capazes de manter populações viáveis de primatas em longo prazo, e a maioria dos fragmentos florestais paulistas de Mata Atlântica semidecídua não

possui esse tamanho (Ribeiro *et al.*, 2009). Portanto, considerando o efeito insular que o PEFI sofre pela urbanização, e o fato da população de bugios estar isolada e suscetível a efeitos estocásticos, estudos genéticos são importantes para avaliar a diversidade genética e o grau de endocruzamento dos grupos. Além disso, apesar de ser possível encontrar estudos de diversidade genética de espécies de *Alouatta* com uso de microssatélites, tanto em ambiente contínuo como fragmentado, não foram encontrados estudos do tipo com *A. g. clamitans*, especialmente com populações isoladas.

### **3. Hipótese**

A população de bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*) do PEFI apresenta baixa diversidade genética e altas taxas de endocruzamento.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. Objetivo Geral**

O presente estudo tem por objetivo estimar a diversidade genética e o grau de endocruzamento da população de *Alouatta g. clamitans* residente no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga utilizando marcadores moleculares microssatélites de DNA obtidos a partir de amostras de sangue.

#### **4.2. Objetivos Específicos**

- Determinar os níveis de diversidade genética na população de bugios-ruivos do PEFI em termos de heterozigosidade observada e esperada, riqueza e número de alelos;

- Estabelecer as relações de parentesco e o coeficiente de endocruzamento entre os indivíduos amostrados;
- Avaliar a estruturação genética da população do PEFI;
- Avaliar se a população de bugios-ruivos sofreu declínio populacional recente;
- Diagnosticar a dinâmica populacional na área de estudo juntamente com as pressões antrópicas;
- Propor possíveis alternativas para manejo populacional caso seja constatado algum grau de endocruzamento e baixa diversidade genética.

## **5. Materiais e Métodos**

### **5.1. Área de Estudo**

O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga está localizado no município de São Paulo (Figura 1), fazendo divisa com o município de Diadema (23° 38' 08"S e 23° 40' 18"S e 46° 36' 48"W e 46 ° 38' 00"W) (Fernandes *et al.*, 2002). É o maior remanescente de floresta Atlântica urbana da capital. Suas dependências abrigam o 3º Batalhão de Polícia Militar, a 97ª Delegacia de Polícia Civil, o Centro de Exposições Imigrantes, o Hospital da Água Funda, o Parque de Ciência e Tecnologia da Universidade de São Paulo (CienTec), o Zoo Safári e a Fundação Parque Zoológico de São Paulo (Barbosa *et al.*, 2002).

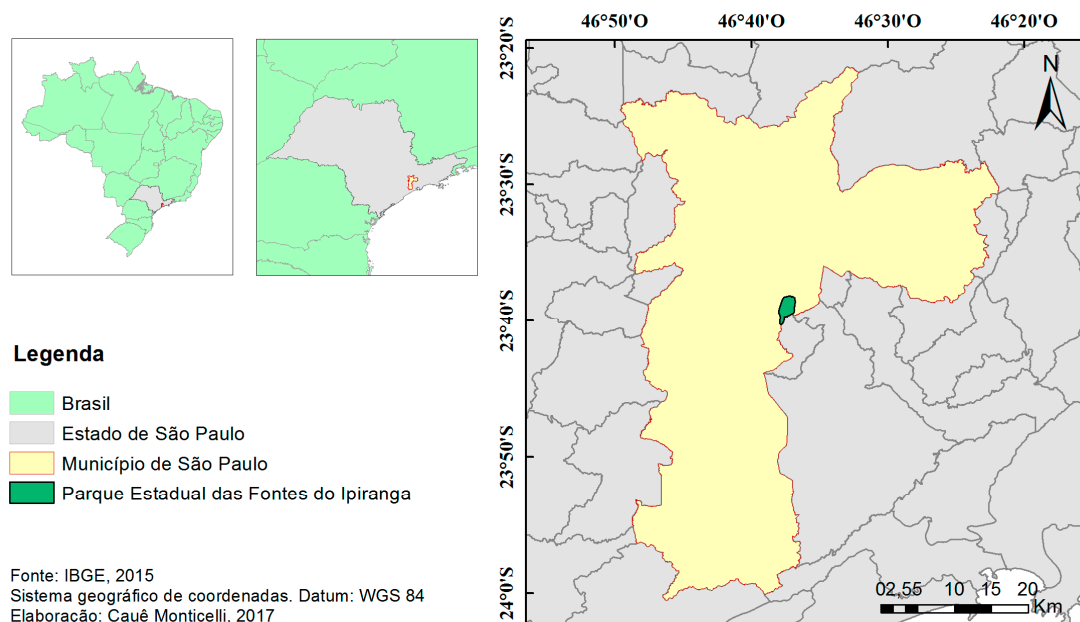


Figura 1: Localização do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga na cidade de São Paulo.

Em 1893, a área delimitada para o PEFI era de aproximadamente 697 hectares, e desde então vem sofrendo impactos e diminuição de sua cobertura vegetal, sendo que as principais causas foram as obras para construção da Rodovia dos Imigrantes, a urbanização dos bairros vizinhos, ocupações irregulares, dois grandes incêndios causados por quedas de balões, em 1993 e 2006 (Peccinini & Pivello, 2002) e, a partir da década de 60, a construção da Avenida Miguel Estéfano. Essa divisão da área, provocada por uma avenida de intenso tráfego em meio a Unidade de Conservação, amplia os impactos como efeito de borda, poluição do ar, sonora e por resíduos diversos que são depositados nas áreas naturais. Para a fauna do PEFI, a presença da avenida em meio ao Parque Estadual, gerou e gera acidentes, como atropelamentos e eletrolessões, não apenas de primatas, mas



também de outros mamíferos, como marsupiais (*Didelphis aurita*), preguiças (*Bradypus variegatus*), tatus (*Dasybus novemcinctus*) e roedores como ouriço-cacheiro (*Sphiggurus villosus*) (Monticelli, C., dados não public.).

A vegetação do PEFI é característica de floresta ombrófila densa de encosta atlântica (São Paulo, 2008) e o uso da área é caracterizado por recreação, ensino e pesquisa. Muitos estudos foram realizados no Parque, sendo sua hidrografia, topografia, fisionomia vegetal e clima bem conhecidos (Fernandes *et al.*, 2002; Santos, 2008; Villagra & Neto, 2010). Estudos sobre a fauna local eram muito limitados (Bicudo *et al.*, 2002; Malagoli *et al.*, 2008), mas a partir de 2013 alguns estudos com vertebrados do PEFI começaram a ser realizados (Perrella & Guida, 2013, Benedicto *et al.*, 2015 Monticelli & Morais, 2015, Monticelli, 2016; Guida, 2017; Lisboa, 2017; Moraes, 2017; Rossi, 2017; Monticelli & Antunes, 2018; Perrella *et al.*, 2018) com objetivos de aumentar o conhecimento faunístico e gerar oportunidades para novas pesquisas.

## **5.2. Espécie em estudo**

O gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 pertence à família Atelidae, a qual engloba os maiores primatas neotropicais (Oliveira *et al.*, 2002). A espécie *Alouatta guariba clamitans* (Cabrera, 1940) é endêmica da Mata Atlântica e no Brasil se distribui desde o Espírito Santo até o Rio Grande do Sul (Mittermeier *et al.*, 1982). A presença da espécie também é registrada no nordeste da Argentina, na região de Misiones (Crockett 1998, Gregorin, 2006). Os grupos da espécie são formados por dois (Silva Jr., 1981) a 13 indivíduos (Jardim, 2005), com média de 6,2 indivíduos (Miranda & Passos, 2005). O grupo é composto por mais fêmeas do que machos,

além dos subadultos e infantes (Miranda *et al.*, 2004; Miranda & Passos, 2005; Steinmetz, 2005; Miranda *et al.*, 2006). Não existe sazonalidade na reprodução e ela ocorre ao longo de todo o ano, sendo a taxa anual de reprodução inferior a um nascimento por fêmea adulta (Strier *et al.*, 2001; Miranda & Passos, 2005).

A espécie, geralmente, possui pequenas áreas de vida, que variam de 4 a 41 ha. Contudo, o mais comum de ser encontrado são grupos habitando áreas de 4 a 8 ha (Aguiar *et al.*, 2003; Steinmetz, 2005; Cunha & Jalles-Filho, 2007). Essa pequena área de vida é relacionada com a capacidade de persistirem em ambientes fragmentados (Crockett, 1998; Bicca-Marques, 2003). Para *Alouatta*, sabe-se que ambos os sexos migram e podem formar novos grupos ou serem integrados a grupos existentes (Brockett *et al.*, 2000; Ostro *et al.*, 2001; Oklander *et al.*, 2010). Contudo, a fragmentação da paisagem pode modificar a migração (Oklander *et al.*, 2010).

*A. g. clamitans* possuem dimorfismo sexual no tamanho, massa corporal e coloração da pelagem (Neville *et al.*, 1988; Ravosa & Ross, 1994; Gregorin, 2006), sendo a coloração da pelagem a mais evidente. Apesar da variação de tonalidades, os machos adultos são representados pela coloração ruiva-dourada, já as fêmeas adultas e indivíduos imaturos apresentam coloração castanho escuro (Gregorin, 2006). Apesar da ampla variação nas tonalidades ao longo da distribuição da espécie, a coloração ruiva profunda é predominante para os machos adultos do estado de São Paulo, assim como a coloração castanha escuro para as fêmeas e jovens (Gregorin, 2006).

A espécie é considerada em perigo de extinção pela lista de animais ameaçados do estado de São Paulo, principalmente pelos surtos epizooticos de

febre amarela (São Paulo, 2018). Em âmbito nacional é categorizada como vulnerável (MMA, 2018) e globalmente considerada fora de preocupação (IUCN, 2008). Apesar das diferenças nas esferas de avaliação, é consenso que a população tende a decrescer ao longo de sua área de ocorrência.

Muitas pesquisas já foram efetuadas com a espécie em abordagens ecológicas, comportamentais e demográficas, porém são escassos os trabalhos que avaliam a diversidade genética das populações com uso de marcadores moleculares microssatélites.

### **5.3. Coleta do material biológico**

Devido ao ambiente antropizado que circunda o PEFI, é comum encontrar bugios-ruivos em situações que requeiram intervenção técnica, ficando sob responsabilidade da equipe da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, uma das instituições integrantes da Unidade de Conservação. Durante esses atendimentos os bugios passavam por cuidados especializados e tinham suas amostras biológicas coletadas de forma oportunista sob licenças do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Comitê de Ética da Universidade Federal de São Carlos (CEUA) e Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) nº 54570; CEUA nº 9428171116 e SISGEN nº AE48610). Entre janeiro de 2016 e outubro de 2017 foram coletadas 30 amostras de sangue de diferentes indivíduos adultos para realizar as análises genéticas. Para a seleção dos animais foram considerados bugios de diferentes localidades do PEFI. Foram coletados 0,5 mL de sangue por indivíduo (Figura 2),

armazenados em tubos EDTA e mantidos a 4° C até o momento de extração do DNA. Os locais de captura dos animais foram georreferenciados utilizando aparelho GPS Garmin Etrex 30. Os pontos de coleta foram plotados em imagem de satélite para melhor visualização da distribuição das amostras na Unidade de Conservação estudada (Figura 3).

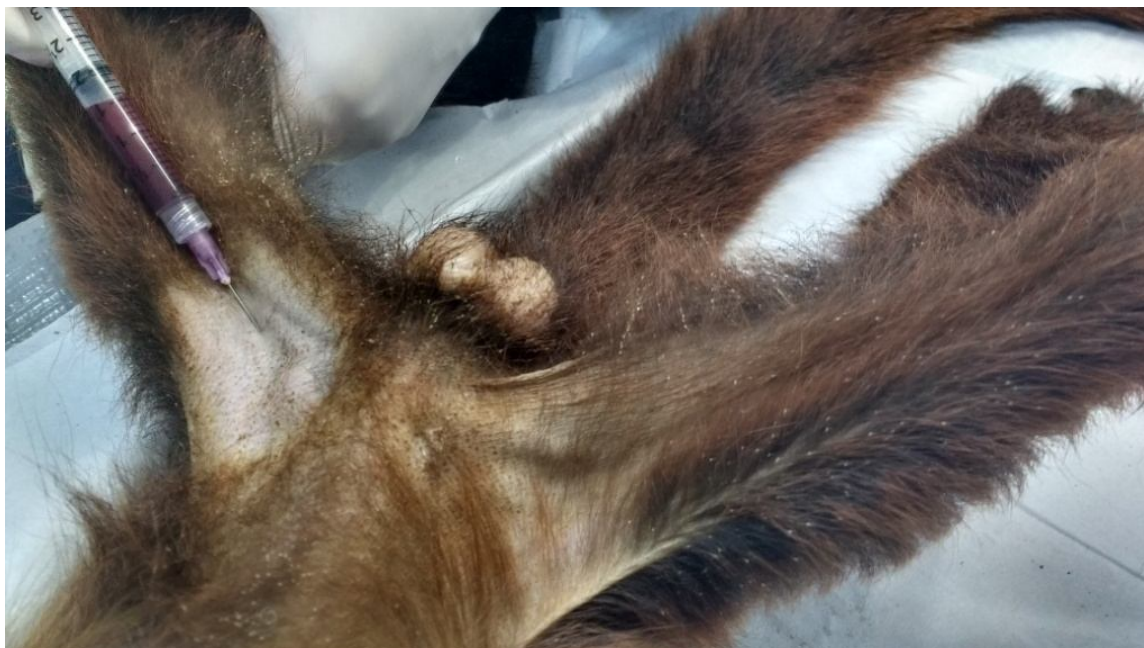


Figura 2: Coleta de sangue da veia femoral de *Alouatta g. clamitans* do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga para posterior extração de DNA genômico. Imagem: Cauê Monticelli.

Devido ao encontro de uma fêmea com anomalia de coloração para a espécie, uma captura ativa foi planejada para obtenção do material biológico deste indivíduo. Além de o material ser utilizado para a avaliação da diversidade genética dos bugios-ruivos do PEFI, buscou-se avaliar se a coloração anormal encontrada poderia ser decorrente do isolamento populacional e depressão por endogamia.



Figura 3. Em vermelho os pontos de captura dos *Alouatta g. clamitans* do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga e seus respectivos números de identificação. Imagem: Google Earth.

#### 5.4. Extração e quantificação de DNA

O DNA genômico das amostras de sangue dos bugios-ruivos foi extraído utilizando-se o kit “Wizard Genomic DNA Purification Kit®”, catálogo número #A1120, Promega®, seguindo as recomendações do fabricante. A qualidade e a concentração da extração de DNA foram verificadas em espectrofotômetro NanoVue Plus® (GE HealthCare®).

## 5.5. Amplificação dos locos de microssatélite e genotipagem

Utilizamos dez loci de microssatélites heterólogos para caracterizar a população de *Alouatta guariba clamitans* do PEFI (Tabela 1), sendo: Ab4, Ab6, Ab7, Ab9, Ab12, Ab17 isolados para *Alouatta belzebul* por Gonçalves *et al.* (2004); Ac17 e Ac45 isolado para *Alouatta caraya* por Oklander *et al.* (2007); Api14 isolado para *Alouatta pigra* por Cortés-Ortiz *et al.* (2010) e D5S117 que foi isolado para *Homo sapiens* por Weber *et al.* (1990) e testado com sucesso em *Alouatta caraya* por Oklander *et al.* (2007). Todos loci foram apontados pelos autores como polimórficos e não foi abordada presença/ausência de alelos nulos nas espécies em que foram isolados, com exceção de Oklander *et al.* (2007), que evidenciou ausência de alelos nulos em Ac17 e Ac45. Para avaliarmos a presença de alelos nulos nos loci analisados, utilizamos o software Micro-Checker (Oosterterhout *et al.*, 2004).

**Tabela 1.** Descrição dos 10 *loci* microssatélites heterólogos e polimórficos utilizados para *Alouatta guariba clamitans* no presente trabalho. Os *loci* marcados com <sup>1</sup> foram publicados por Gonçalves *et al.* (2004), os marcados com <sup>2</sup> foram publicados por Oklander *et al.*, (2006), o marcado com <sup>3</sup> foi publicado por Cortés-Ortiz *et al.*, (2010) e o marcado com \* foi publicado por Weber *et al.*, (1990) e Oklander *et al.*, (2006);

| Loco                | Sequência do iniciador (5' > 3')                             | Unidade de Repetição  | TF        | TA (°C) | Testado em                                |
|---------------------|--|---|-----------|---------|---|
| Ab 4 <sup>1</sup>   | F: AGCGCCTCTCCTGGTTTTTAC<br>R: AAAAATCCCAAACCCACC            | (GA)2AA(GA) <sup>12</sup> AG  | 145–167   | 56      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ab 6 <sup>1</sup>   | F: GTGATTATTGTGTGGTACTTG<br>R: ATGTATTTTTCTGGTTTTACC         | (CT) <sup>9</sup> TTT(CT) <sup>11</sup> GTCT<br>GTCTTAT(AC) <sup>16</sup> | 265–293   | 56      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ab 7 <sup>1</sup>   | F: ACCCCATCTCTTAAAACACAC<br>R: CCTACTGCCTAAGTCTCCCAAC        | (AC) <sup>21</sup>  | 184–202   | 56      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ab 9 <sup>1</sup>   | F: AATGAAGACAACAACGAC<br>R: TGAAGAACACACCTGAGG               | (GAAA) <sup>18</sup>  | 174–198   | 54      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ab 12 <sup>1</sup>  | F: AAATCAAGGCCACAGGG<br>R: CAAAGCAAGAAAGCAAGAAG              | (GAAA) <sup>14</sup>  | 233–285   | 56      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ab 17 <sup>1</sup>  | F: GGAACAGTGAAGACAAAAGGAG<br>R: AGATGGCCAAAGATAAAGACATGTAAAA | (GAAA) <sup>2</sup> G(GAAA) <sup>2</sup><br>GAGAAAA(GAAA) <sup>14</sup>   | 193–263   | 56      | <i>A. belzebul</i>                        |
| Ac 17 <sup>2</sup>  | F: CTGGCAGTACGTGGCTTTG<br>R: TTAGCCTGGCGTAGTGGTGT            | (GTTTT) <sup>7</sup>  | 238 - 248 | 56      | <i>A. caraya</i>                          |
| Ac 45 <sup>2</sup>  | F: TTGGTGTGACCATAGCTCCA<br>R: GCAGAAGGAGGAGGAGAAGAA          | (CTTT) <sup>11</sup> (Ctt) <sup>1</sup> (Ctt) <sup>2</sup>                | 240 - 276 | 56      | <i>A. caraya</i>                          |
| Api 14 <sup>3</sup> | F: CGTCCTTGAAGGTCATCTC<br>R: AGAGGTTCCCACTGAAAGC             | (CA) <sup>23</sup>  | 194 - 198 | 56      | <i>A. pigra</i> e <i>A. palliata</i>      |
| D5S117*             | F: TGTCTCCTGCTGAGAATAG<br>R: TAATATCCAACCACAAGGT             | (CA) <sup>17</sup>  | 131 - 147 | 56      | <i>Homo sapiens</i><br>e <i>A. caraya</i> |

TF = tamanho dos fragmentos em pares de bases; TA = temperatura de anelamento dos iniciadores utilizada para *Alouatta guariba clamitans* neste estudo.

As condições das reações de cadeia de polimerase (PCRs) seguiram o protocolo descrito pelos autores com adaptações, conforme segue: diluição das amostras de DNA em 50 ng/μl; diluição dos primers (iniciadores) em 100 ng/μl e da solução estoque foram feitas diluições a 10 ng/μl para a utilização na PCR; preparo dos dNTPs com 10 μl de dATP, 10 μl de dTTP, 10 μl de dCTP e 10 μl de dGTP. O ciclo no termociclador foi programado com 3 minutos a 94°C para desnaturação inicial; 35 ciclos de 45 segundos de desnaturação a 94°C, 45 segundos para anelamento em 54°C ou 56°C (dependente do primer utilizado) e 45 segundos para

extensão em 72°C. Para a extensão final foi programado um ciclo de 10 minutos a 72°C.

O preparo de cada amostra a ser amplificada por PCR constituía de um final de 15 uL contendo 50 ng de DNA, solução tampão 0,8mM de dNTP's, 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 pmol de primer forward, 10 pmol de primer reverse e 0,5 U de Taq polimerase (Invitrogen®).

A cada seção de PCR utilizou-se um controle negativo (PCR sem a inclusão do DNA, para controle de possíveis contaminações). Com intuito de avaliar o sucesso da extração e amplificação do DNA, as amostras amplificadas foram aplicadas em gel de agarose a 1% sob configuração constante de 120V, 150mA e 150W (Figura 4A-B).

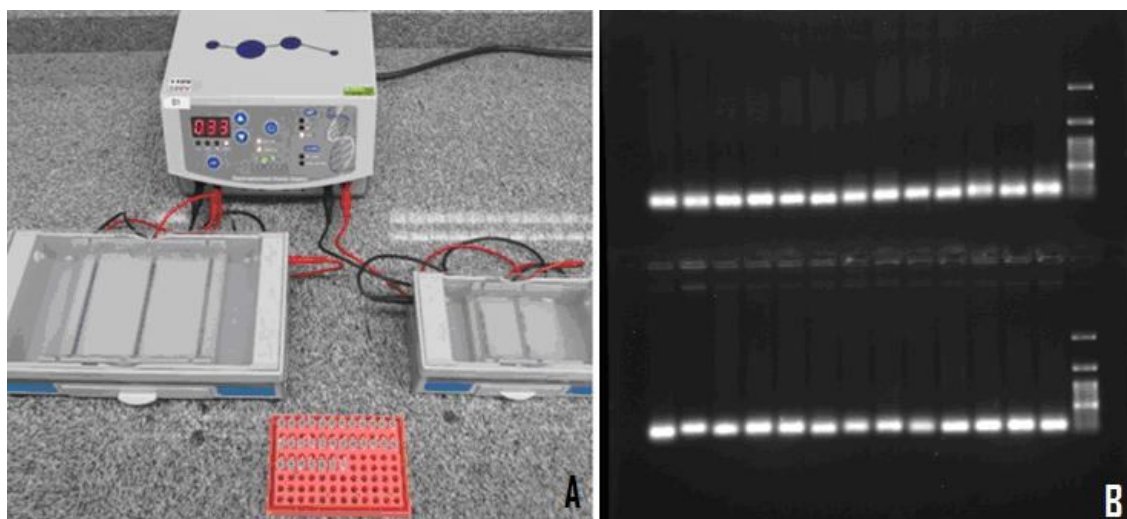


Figura 4A. Amostras aplicadas em gel de agarose 1%; 4B. Resultado da eletroforese observada em transiluminador. Imagem: Cauê Monticelli.

Após a genotipagem terceirizada em sequenciador automático ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems®) os genótipos foram determinados por meio do software GeneMarker V.2.7.4.



## 5.6. Análises populacionais

Os dados genotípicos dos indivíduos foram utilizados para a obtenção das estimativas de diversidade genética da população, como o número de alelos ( $N_a$ ), riqueza alélica (RA), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), excesso de heterozigotos ( $p_L$ ) e déficit de heterozigotos ( $p_S$ ). Estas análises foram efetuadas nos programas GenePop (Raymond & Rousset, 1995), GeneAlex (Peakall & Smouse, 2006) e FSTAT v.2.9.3 (Goudet, 2001). Para detectar eventuais desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (DHW) e desequilíbrio de ligação entre os pares de locos utilizou-se o programa GenePop (Raymond & Rousset, 1995) considerando o algoritmo Cadeia de Markov-MonteCarlo (MCMC). Para corrigir os intervalos de significância para análises múltiplas, utilizou-se a correção sequencial de Bonferroni (Rice, 1989).

O teste exato de Fischer ( $\chi^2$ ) foi realizado para avaliar a significância dos valores de  $F_{is}$ . Os valores decorrentes dessa análise podem ser positivos e apontar deficiência de heterozigotos na população, ou negativos e apontar excesso de heterozigotos na população. Nesta análise a hipótese nula é considerada quando o valor é zero, ou seja, está em equilíbrio. Os valores apresentados nesta análise só são considerados significativos quando o valor de  $p$  é inferior a 0,05.

## 5.7. Parentesco e estrutura genética

Os alelos identificados pertencentes aos animais amostrados podem ser utilizados para estimar o parentesco genético através dos padrões de identidade-por-descendência. Neste caso, as análises se baseiam nos alelos que os filhos recebem dos pais, o que lhes tornam idênticos por descendência. Por outro lado, se dois indivíduos não possuírem nenhum alelo em comum, eles não podem ser categorizados como progenitor-prole (Miño, 2010).

Para essas estimativas, atualmente são utilizados dois diferentes métodos, os “métodos de momentos”, cujos pioneiros foram Queller & Goodnight (1989), que calculam o grau de parentesco de dois indivíduos com base na probabilidade de identidade-por-descendência; e também os métodos de “máxima verossimilhança”, descrito inicialmente por Thompson (1975). Este método observa a probabilidade de dois indivíduos compartilharem a mesma informação genética de forma a maximizar o melhor resultado (Kalinowski & Taper, 2006).

Durante as avaliações de parentesco, por vezes não é possível concluir com certeza o grau de relacionamento entre dois indivíduos e, neste caso, os programas atuais fornecem os resultados mais prováveis com base nos genótipos observados, e este fato é explicado por serem análises com base em inferências probabilísticas. Este pressuposto foi abordado por Csilléry *et. al.* (2006), que avaliou o desempenho de alguns estimadores de parentesco para populações naturais e concluiu que os estimadores de Lynch & Ritland (L&R) (1999) e Queller & Goodnight (Q&G) (1989) foram uns dos que apresentaram o melhor desempenho. Portanto, optou-se por utilizar estes dois estimadores de parentesco por métodos de momento obtidos a partir do software GeneAlex (Peakall & Smouse, 2006) e também o método de

máxima verossimilhança (MV) obtido com o software ML-Relate (Kalinowski & Taper, 2006). Estes métodos tem sido os mais utilizados (Miño, 2010), e com isso é possível obter estimativas adequadas quanto à relação de parentesco entre indivíduos de populações naturais (Blouin, 2003; Jones *et al.*, 2010). Visando obter o resultado mais plausível, os três estimadores (Q&G, L&R e MV) foram avaliados para definir o resultado final da análise de parentesco, que só foi considerada quando os três métodos apresentaram o mesmo resultado. Este procedimento é parte da metodologia proposta por Miño *et al.*, (2010).

O coeficiente  $k$  é uma representação matemática que faz referência à probabilidade de dois indivíduos compartilharem 0, 1 ou 2 alelos em seus genótipos a partir da identidade por descendência (Lynch & Walsh, 1998; Blouin, 2003). Estes valores são avaliados em cada loco analisado e são denominados de  $k_0$ ,  $k_1$  e  $k_2$ . Desta forma, se dois indivíduos não forem aparentados,  $k_0$  será 1,  $k_1$  será 0 e  $k_2$  será 0. Se forem meio-irmãos,  $k_0$  será 0,5,  $k_1$  será 0,5 e  $k_2$  será 0. Para irmãos completos  $k_0$  será 0,25,  $k_1$  será 0,5 e  $k_2$  será 0,25, e por fim, se forem progenitor-prole,  $k_0$  será 0,  $k_1$  será 1 e  $k_2$  será 0. Independente da distância genética, o coeficiente  $k$  deverá somar 1. Neste contexto, os valores estimados de  $k$  foram divididos em quatro classes: não relacionados (U), meio-irmãos (HS), irmãos completos (FS) e progenitor-prole (PO) (Lynch & Walsh, 1998). Toda a análise foi efetuada considerando o grau de parentesco genético par-a-par entre todos os 30 indivíduos amostrados no PEFI.

Para avaliar a correlação entre o grau de parentesco dos indivíduos e a distância geográfica dos animais amostrados no PEFI, utilizou-se o software BioEstat v.5.3 (Ayres *et al.*, 2007) para aplicar o teste de correlação de Pearson ( $r$ )

cujo nível de significância considerado foi 0,05. Nesta análise, foi utilizado o resultado da avaliação de parentesco par-a-par juntamente com a distância em linha reta dos pontos (GPS) de captura de cada animal obtida através da utilização do software GPS TrackMaker® v.13.9 (Geo Studio Technology). Somado a isso, foram efetuadas análises de variância (ANOVA) para melhor compreensão dos resultados encontrados.

Para avaliação da estrutura populacional, efetuou-se uma análise de agrupamento bayesiana no software Structure V.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Foi considerada a possibilidade de existir até três possíveis subpopulações (K) dentro da área de estudo. A inferência sobre até três possíveis subpopulações visou avaliar se a Avenida Miguel Estéfano, que atravessa transversalmente o PEFI, age como barreira geográfica significativa para impedir o deslocamento dos bugios-ruivos.

Para esta análise foram realizadas três corridas independentes de 2.000.000 gerações de MCMC e 500.000 gerações de burn-in, variando K de 1 a 3. Uma população estruturada faz referência à maior probabilidade dos indivíduos amostrados pertencerem a apenas uma das populações, enquanto que em uma população não estruturada, os indivíduos possuem probabilidades semelhantes de pertencer a qualquer uma dessas populações.

## **5. 8. Gargalo Populacional**

Para detectar gargalos hipotéticos recentes na população estudada, foi utilizado o método de excesso de heterozigosidade a partir do software Bottleneck (Piry *et al.*, 1999). Como exemplo, podemos dizer que em populações que sofreram gargalos recentes, encontraríamos um excesso de heterozigotos em relação ao

esperado sob o equilíbrio mutação-deriva em mais de 50% dos loci analisados (Cornuet & Luikart, 1996). Os efeitos das reduções históricas no tamanho das populações deixam marcas genéticas que podem ser identificáveis em padrões de variabilidade de microssatélites (Luikart & Cournuet, 1998). Nesta premissa, utilizamos os dados genotípicos obtidos para avaliar eventos de redução populacional histórica usando diferentes modelos. O software Bottleneck foi utilizado para avaliar se os padrões de heterozigosidade foram compatíveis com a expectativa de equilíbrio para todos os animais amostrados de forma a considerar uma única população. Para tanto, foi utilizado como parâmetro 1.000 interações de cada um dos modelos de mutação de microssatélites avaliados pelo software, que foram: alelos infinitos (IAM) (Kimura & Crow, 1964); mutação por etapas (SMM) (Kimura & Ohta, 1978) e duas fases (TPM) (Di Rienzo *et al.*, 1994). Seguiu-se a recomendação de Piry *et al.*, (1999) que indica ser apropriado para marcadores microssatélites o uso de TPM em conjunto com 95% de SMM e 5% de IAM.

Após a primeira análise com os modelos utilizou-se o teste de sinal (Cornuet & Luikart, 1996) e o teste de Wilcoxon do próprio Bottleneck (Piry *et al.*, 1999) para avaliar se os animais do PEFI apresentavam um excesso de heterozigotos frente ao equilíbrio mutação-deriva.

## **6. Resultados e discussão**

### **6.1. Coleta de material biológico, pressão antrópica e dinâmica das interações entre os bugios-ruivos**

Dos 30 animais amostrados, 16 (53,3%) foram capturados em decorrência de impactos antrópicos, sendo oito por eletroplessão, quatro por atropelamento e quatro

por queda em substrato pavimentado com posteriores ferimentos. Além destes, dois animais (6,6%) foram capturados por terem sido encontrados doentes e prostrados sem sinais de ferimentos, 11 (36,6%) por consequências de ferimentos decorrentes de confrontos agonísticos intraespecíficos e um (3,3%) animal capturado ativamente por apresentar coloração anormal para a espécie.

No PEFI, as áreas antropizadas propiciaram maior quantidade de captura de bugios devido aos impactos provenientes das estruturas artificiais e também pela maior circulação de pessoas, o que facilitou a visualização dos animais e comunicação sobre as ocorrências. Mais machos foram amostrados do que fêmeas: 23 machos (76,6%) e sete fêmeas (23,3%). Dos 30 indivíduos listados, 18 foram a óbito ou submetidos eutanásia, 10 reabilitados e soltos e dois mantidos em cativeiro. A maior quantidade de machos capturados pode ser decorrente das interações sociais da espécie na área de amostragem, pois geralmente a razão sexual dos grupos de *Alouatta* é formada por mais fêmeas do que machos (Neville *et al.*, 1988; Rudran & Fernandez-Duque, 2003; Miranda & Passos, 2005; Kowalewski & Garber, 2010; Di Fiore *et al.*, 2011).

Observamos que o comportamento territorial dos machos gerou conflitos intra-específicos provavelmente pela disputa por recursos, fato que propiciou a captura de 11 machos para coleta de material biológico. Somado a isso, os quatro indivíduos advindos de atropelamento no exterior do PEFI foram machos idosos ou subadultos, o que pode indicar a perda ou procura de espaço fomentada pela disputa de território. De forma geral, as fêmeas de diferentes idades são mais bem aceitas entre ambos os sexos e foram capturas no interior do PEFI em situações não relacionadas com conflitos e agressões intra-específicas.

Em alguns casos, os machos dominantes foram vistos acuando machos mais jovens ou machos idosos quando em tentativa de subir nas árvores. Como desdobramento da territorialidade, alguns machos podem sofrer maior pressão para dispersão externa aos limites do PEFI. Tornando-os assim, mais suscetíveis a descargas elétricas acidentais, atropelamentos e demais impactos. Estas ocorrências com os machos do PEFI podem indicar o favorecimento na permanência das fêmeas no interior da área preservada. Principalmente devido aos confrontos agonísticos observados ocorrerem exclusivamente entre machos.

Para inferências mais consolidadas sobre a influência e dinâmica da dispersão nessa população de bugios, estudos específicos precisam ser executados, pois em muitas espécies de primatas, inclusive do gênero *Alouatta*, a estratégia de dispersão é uma característica plástica e pode ser ajustada de acordo com os padrões ecológicos, sociais e demográficos encontrados na população (Strier, 2008). Portanto, a partir da estratégia oportunista utilizada para obtenção de amostras biológicas, acredita-se que a maior taxa de encontro de machos neste estudo foi ocasionada pelos desdobramentos da capacidade suporte da área, dispersão limitada no PEFI, comportamento e interações sociais da espécie na área estudada.

Assim como observado em estudo anterior com relação aos impactos antrópicos dos bugios-ruivos do PEFI (Monticelli & Morais, 2015), as ocorrências de atropelamentos geraram óbito/eutanásia de todos os quatro indivíduos amostrados neste estudo. Geralmente, os casos de atropelamento ocasionam acidentes graves que impedem muitas vezes a chance de tratamento, ou os animais vão a óbito antes mesmo da chegada da equipe para atendimento da ocorrência. Já nos casos de

eletroplessão, cinco animais foram a óbito/eutanásia e três foram reabilitados e soltos. Quando a descarga elétrica acidental foi mais branda e em linhas de transmissão de menor tensão, por vezes foi possível manter os animais em tratamento para posterior soltura. Porém, quando os animais foram acometidos por descargas elétricas de alta tensão, o óbito foi instantâneo.

As capturas decorrentes de confrontos agonísticos intraespecíficos ocorreram por todo o PEFI e foram restritas a espécimes machos. Em alguns casos os animais foram capturados com puçá após serem encontrados vagando feridos pelo chão ou acuados por outro grupo. Nestas ocorrências, cinco animais foram capturados, tiveram amostras biológicas coletadas, foram tratados e soltos novamente. Outros seis foram a óbito durante tratamento ou submetidos à eutanásia. Por vezes, os ferimentos de mordedura foram graves, ocasionando amputação de dedos, fraturas e quadro de septicemia, principalmente quando associado à miíase. Esses conflitos comumente foram vinculados a quedas em substrato pavimentado e fraturas de membros, vértebras e concussão. O maior índice de registro dessas ocorrências se deu nas áreas mais antropizadas do interior do PEFI, devido à pavimentação e interrupção da conectividade arbórea.

Além da pressão antrópica, esses animais, em especial aqueles em situações de isolamento, sofrem com as consequências resultantes de tal isolamento. Fortes & Bicca-Marques (2008) encontraram quatro *A. g. clamitans* com anomalia de coloração, em um tom amarelado, mais claro, em fragmento de mata de 20 ha do estado do Rio Grande do Sul, cujo registro foi associado à endogamia e expressão de alelos raros. Aximoff & Vaz (2016) também registraram a ocorrência de uma fêmea de coloração anormal, amarelada, no Parque Nacional do Itatiaia, Rio de



Janeiro. Este relato foi associado à baixa densidade populacional da espécie na área de encontro devido ao surto epizootico de febre amarela silvestre ocorrente em 1939.

A fêmea de coloração anormal indicada na figura 5 não apresentou alelos raros para os *loci* analisados. Na análise de homozigidade, esta fêmea apresentou cinco *loci* em homozigose, sendo que o indivíduo com menor número de *loci* em homozigose apresentou três e o maior sete *loci*. Este dado indica que para os *loci* analisados, a homozigose não aparenta ter relação com a idéia da expressão de alelos raros em homozigose. Contudo, é plausível que os alelos raros possivelmente relacionados com essa coloração anormal não façam parte dos *loci* aqui analisados.

A expressão da coloração anômala indicada foi agravada na fêmea da foto, porém, diferentes indivíduos do PEFI já foram encontrados com a coloração amarelada em diferentes partes do corpo. A alteração de coloração pode estar associada à reprodução endogâmica, conforme resultados de diversidade genética apresentados abaixo.

Estes registros de colorações anômalas em animais selvagens são raros porque estes indivíduos tendem a ser mais suscetíveis à predação decorrente da maior visibilidade (Sazima & Di-Bernardo, 1991). Apesar de não ser conhecida alguma espécie com potencial de predação de *Alouatta g. clamitans* no PEFI, a coloração anômala não aparentou impor desvantagem a esta fêmea, pois durante captura identificamos que era uma fêmea adulta de idade avançada e estava em terço final de gestação, cujo filhote nasceu aparentemente saudável e com a coloração normal da espécie. As evidências de que a coloração diferenciada não gerou problemas para o indivíduo também foram registradas em outros estudos

(Fortes & Bicca-Marques, 2008; Aximoff & Vaz, 2016). Por fim, conforme apontado por estudos anteriores, esta coloração anômala apresentada, de tom amarelado/dourado, pode ser uma das consequências fenotípicas decorrentes da reprodução endogâmica em *Alouatta guariba clamitans*, que podem variar em diferentes regiões do corpo como mãos, pés, cauda a até grandes extensões pelo corpo do animal.



Figura 5A. Fêmea de *Alouatta guariba clamitans* com anomalia de coloração. Foto: Paulo Gil/FPZSP. Figura 5B. Fêmea de *Alouatta guariba clamitans* com coloração normal para a espécie. Foto: Cauê Monticelli. Ambas capturadas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga – SP.

Em alguns casos, o isolamento de um fragmento pode não ser considerado barreira para dispersão, pois já foi relatada a movimentação de bugios-pretos (*Alouatta caraya*) que atravessaram habitats abertos em distâncias equivalentes a 1km (Chame & Olmos, 1997). Mandujano *et al.* (2004) também indicaram essa movimentação de *Alouatta palliata* pelo solo entre fragmentos florestais, cujas distâncias variaram até o limite de 656 m. Contudo, essa dispersão pelo solo pode estar limitada a paisagens fragmentadas (van Belle & Estrada, 2007). No caso do

PEFI, o fragmento preservado mais próximo está localizado a 20 km de distância, fato que torna o deslocamento pelo solo improvável. Não só pela distância mas também pelos riscos iminentes do ambiente urbano.

Mesmo em ambiente fragmentado, Rodriguez-Toledo *et al.* (2003) indicaram que a limitação da dispersão não está relacionada com a capacidade de deslocamento pelo solo, mas sim pelo aumento na mortalidade quando a dispersão ocorre em campos agrícolas abertos e pastagens. Em meio ao ambiente urbano, esse aumento da mortalidade é, possivelmente, ainda mais significativo.

Apesar dos bugios-ruivos do PEFI serem vistos se deslocando pelo solo e estruturas artificiais, o isolamento populacional do PEFI impede a dispersão natural e restringe o fluxo gênico com outras populações, pois estes deslocamentos dificilmente tem sucesso. Este fator aumenta a probabilidade de reproduções consanguíneas e a chance de expressão de alelos raros em homozigose (van Vuren, 1998; Fortes & Bicca-Marques, 2008). Em tentativas de dispersão na paisagem altamente antropizada da cidade de São Paulo, os animais do PEFI acabam indo a óbito por atropelamento, eletroplessão e ataque por cães domésticos (Monticelli & Morais, 2015).

## **6.2. Sucesso de amplificação e genotipagem dos locos heterólogos de microssatélite**

Todos os 10 *loci* heterólogos analisados demonstraram-se polimórficos para a espécie com sucesso de genotipagem em pelo menos 80% das amostras, sendo que sete deles (Ab4, Ab7, Ab17, Ac17, Ac45, Api14 e DS5S117) foram amplificados e genotipados em 100% dos indivíduos de *Alouatta. g. clamitans* amostrados. Um

loco (Ab6) em 90% dos indivíduos, um (Ab9) em 83,3% e um (Ab12) em 80% dos indivíduos amostrados. No geral, 95% das amostras foram amplificadas e genotipadas, fato este que valida o uso destes *loci* heterólogos para a espécie *Alouatta guariba clamitans*.

Mourthe *et al.* (2018) utilizaram oito loci para amplificar amostras de DNA extraída das fezes de 111 indivíduos de *A. caraya* e *A. g. clamitans* para avaliar a ocorrência de hibridação entre as espécies em diferentes regiões de simpatria no Rio Grande do Sul, Brasil. Para as amostras de fezes, o *loco* Ac17 não se mostrou eficiente, ao contrário do 100% de amplificação em amostras de sangue observado neste estudo. Dois *loci* utilizados com sucesso por Mourthe *et al.* (2018) também foram utilizados para as amostras de sangue, sendo eles Ab7 e Ab17, ambos eficientes para amostras de fezes e sangue de *A. g. clamitans*.

Em um estudo conduzido por Ruiz Garcia *et al.* (2007) foram avaliadas quatro espécies de *Alouatta* (*A. caraya*, *A. palliata*, *A. seniculus* e *A. macconnelli*) com os mesmos nove *loci* de microssatélites. Nesta avaliação, D5S117 foi o microssatélite heterólogo que apresentou maior diversidade para *Alouatta seniculus* com base na riqueza alélica (Ra) e heterozigosidade esperada (He). Em comparação com os *A. g. clamitans* avaliados neste estudo, o D5S117, foi o *loco* que apresentou menor diversidade genética (Na=2; RA=0,041; He=0,033). Já Ac45, foi o que apresentou maior quantidade de alelos (Na=10; RA=0,204) para os *A. g. clamitans* e a maior He (0,811). Desta forma, podemos observar que os distintos *loci* apresentam diferentes valores de diversidade genética em cada uma das espécies de *Alouatta* amostradas, indicando que não existem microssatélites específicos que contribuam igualmente para avaliação da diversidade genética das distintas espécies do gênero.

A análise realizada no software Micro-Checker indicou a presença de alelos nulos nos *loci* Ab6, Ab9, Ab17 e Api14 (Tabela 3). Assim como presença de stuttering em Ab6, Ab9 e Api 14. Não foi encontrado presença de dropout em nenhum dos *loci*. A ocorrência de alelos nulos pode estar relacionada à capacidade dos primers utilizados em amplificar alguns *loci* que apresentem pontos de mutação em um ou mais sítios de anelamento (Dakin & Avise, 2004).

### 6.3. Análise da diversidade genética

Na população de bugios-ruivos do PEFI, foi encontrado um total de 49 alelos em 10 *loci* polimórficos. O número de alelos por loco variou de no mínimo dois (Ab12 e D5S117) e no máximo 10 (Ac45), sendo que a média dos *loci* foi de 4,9 alelos com 2,95 de número efetivo de alelos (Tabela 3). O loco D5S117 já foi utilizado para análise genética de outras espécies de *Alouatta* e também apresentou um número baixo de alelos na maioria delas, sendo três alelos em uma análise de 10 indivíduos de *A. pigra* e dois alelos em 29 indivíduos de *A. palliata* (Winkler *et al.*, 2004).

No PEFI foram observados seis alelos em ambos Ab7 e Ab17. Já Mourthe *et al.* (2018) em seu estudo com fezes de *A. g. clamitans*, Ab7 apresentou três alelos e Ab17 12 alelos. Os tamanhos e frequências alélicas encontradas no PEFI são apresentados no final (Anexo 1).

As heterozigosidades observadas e esperadas médias foram 0,49 e 0,58, respectivamente, e variaram de 0,033 (D5S117) a 0,767 (Ab7) e 0,33 (D5S117) a 0,811 (Ac45). Foi observado desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg nos *loci* Ab6 ( $p=0,0003$ ) e Ab9 ( $p=0,0000$ ). Assim como também foi observado desequilíbrio de ligação entre os *loci* Ab6 e Api14 ( $p=0,001$ ), mostrando que a frequência observada

da combinação entre os alelos no par de locos indicado não é semelhante à frequência esperada. Ambas as análises consideraram a correção sequencial de Bonferroni ( $0.005 < \alpha < 0.05$ ).

Quanto aos desvios encontrados, não acredita-se que seja decorrente do efeito de Wahlund, que faz referência ao excesso de homozigotos causados pela sobreposição de populações. Essa hipótese foi refutada devido ao fato da análise bayesiana efetuada ter apontado apenas uma população na área de estudo (Figura 8). Além dos valores de  $F_{is}$  mostrarem sinal de endocruzamento, os *loci* com déficit significativo de heterozigotos podem estar relacionados com alelos nulos, conforme resultado da análise no Micro-Checker.

Para os *loci* analisados foi encontrado déficit significativo de heterozigotos em Ab9 ( $p=0,0000$ ). Já o teste global para avaliação do déficit de heterozigosidade na população do PEFI, considerando todos os loci conjuntamente, o resultado foi significativo (U Mann Whitney = 0,0000). Não foram encontrados *loci* com excesso de heterozigotos. O coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) médio foi de 0,16, sugerindo que existe algum grau de endogamia e déficit de heterozigotos nos *loci* analisados conjuntamente. Esta informação corrobora o resultado do teste exato de Fischer ( $\chi^2$ ) efetuado no Genepop para análise de  $F_{is}$ , que indicou alta probabilidade de endocruzamento entre os indivíduos amostrados, cujos resultados indicaram cinco *loci* com endocruzamento não significativo e dois muito significativos (Ab6  $F_{is} = 0,4770$ ; Ab9  $F_{is} = 0,4518$ ). Cabe ressaltar, especialmente em se tratando de um estudo com uma população insular, que os *loci* Ab17, Ac45 e Api14 apresentaram valores elevados de  $F_{is}$  mesmo que não foram valores significativamente maiores

que zero após correção de Bonferroni. As estimativas de  $F_{is}$  variaram de -0,2174 a 0,4770 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Medidas da diversidade genética do bugio-ruivo (*Alouatta guariba clamitans*) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP a partir da avaliação de 10 *loci* de microssatélites em 30 indivíduos.

| Loco          | N  | Na          | RA          | AE          | H <sub>o</sub> | H <sub>E</sub> | DHW            | pL             | pS     | F <sub>is</sub> |
|---------------|----|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------|-----------------|
| Ab 4          | 30 | 4           | 4,000       | 2,497       | 0,567          | 0,599          | 0,6443         | 0,2240         | 0,7995 | 0,0716          |
| Ab 6          | 27 | 6           | 5,830       | 1,931       | 0,259          | 0,482          | <b>0,0003*</b> | 0,0116         | 0,9884 | <b>0,477*+</b>  |
| Ab 7          | 30 | 6           | 5,533       | 3,383       | 0,767          | 0,704          | 0,4594         | 0,5008         | 0,5050 | -0,0715         |
| Ab 9          | 25 | 6           | 5,920       | 2,759       | 0,360          | 0,638          | <b>0,0000*</b> | <b>0,0000*</b> | 1,0000 | <b>0,4518*+</b> |
| Ab 12         | 23 | 2           | 2,000       | 1,967       | 0,609          | 0,491          | 0,4050         | 0,9307         | 0,2713 | -0,2174         |
| Ab 17         | 30 | 6           | 6,000       | 5,172       | 0,633          | 0,807          | 0,1389         | 0,0128         | 0,9876 | 0,231+          |
| Ac 17         | 30 | 3           | 2,949       | 1,948       | 0,467          | 0,487          | 0,7254         | 0,4142         | 0,6991 | 0,0580          |
| Ac 45         | 30 | 10          | 9,285       | 5,279       | 0,700          | 0,811          | 0,0576         | 0,1845         | 0,8179 | 0,1530          |
| Api 14        | 30 | 4           | 4,000       | 3,564       | 0,533          | 0,719          | 0,0422         | 0,0277         | 0,9729 | 0,2744+         |
| D5S117        | 30 | 2           | 1,767       | 1,034       | 0,033          | 0,033          | 0,9260         | No inf         | No inf | No inf          |
| <b>Total:</b> |    | <b>49</b>   |             |             |                |                |                |                |        |                 |
| <b>Média</b>  | -  | <b>4,90</b> | <b>4,73</b> | <b>2,95</b> | <b>0,49</b>    | <b>0,58</b>    | <b>0,34</b>    | -              | -      | <b>0,16</b>     |

N = tamanho amostral; Na = número de alelos; RA = riqueza alélica; AE = número efetivo de alelos; H<sub>o</sub> = heterozigosidade observada; H<sub>E</sub> = heterozigosidade esperada; DHW = desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg (0.005< $\alpha$ <0.05 após correção sequencial de Bonferroni); pL = valor de p para déficit de heterozigotos; pS = valor de p para excesso de heterozigotos; F<sub>is</sub> = coeficiente de endocruzamento; (\*) valores significativos; (+) presença de alelos nulos.

Após avaliação no Micro-Checker, os *loci* com alelos nulos e desequilíbrio de ligação foram retirados e uma nova análise da diversidade genética foi efetuada. Os *loci* retirados foram Ab6, Ab9, Ab17 e Api14 e, após avaliação dos 6 *loci* restantes, não foi encontrada diferença significativa entre H<sub>o</sub> e H<sub>E</sub>, ou seja, o valor de F<sub>is</sub> foi próximo de zero. Nesta abordagem, a população de bugios-ruivos do PEFI não é endocruzada. Contudo, tal resultado não deve minimizar a atenção que deve ser voltada a esta população, pois além de estar isolada e restrita a uma pequena área, mesmo considerando a exclusão dos quatro *loci*, o resultado da análise de

parentesco revelou muitas relações próximas entre os indivíduos amostrados, indicando que em um futuro próximo a população de bugios-ruivos do PEFI se tornará endocruzada.

Quatro estudos foram realizados com populações insulares de *Alouatta*. Uma delas (*Alouatta palliata*) foi isolada desde 1914 na ilha de Barro Colorado, Panamá. Milton *et al.* (2009) avaliaram neste trabalho, 13 *loci* de microssatélites em 50 animais adultos de uma população estimada em 1.200 indivíduos. Nesta análise foram utilizados cinco *loci* em comum com a população do PEFI que, dentre eles, apresentaram variações nos valores de diversidade genética entre os dois grupos de bugios amostrados. Em Barro Colorado a média dos alelos em todos os *loci* foi de 4,9, com  $H_o$  média de 0,584 e o  $F_{is}$  médio de 0,034. Não foram encontrados desvios significativos no equilíbrio de Hardy-Weinberg em 10 dos 13 *loci* analisados. Apesar do isolamento populacional, o estudo de Milton *et al.* (2009) apresentou um dos maiores valores de diversidade genética para *Alouatta* até então. Desta forma, os autores concluíram que apesar do isolamento populacional, os *A. palliata* de Barro Colorado possuem uma diversidade genética relativamente alta seja pela ausência de gargalo populacional passível de detecção pela metodologia utilizada, ou pela quantidade de fundadores durante o isolamento, pois 20 anos após a criação do canal do Panamá e isolamento da parte da população, foi constatada a presença de pelo menos 500 animais na ilha (Carpenter, 1934 *apud* Milton *et al.* 2009). Número aparentemente suficiente para a manutenção da diversidade genética até o momento da análise.

Um estudo adicional revelou altos valores de diversidade genética em população isolada de *A. belzebul* da ilha de Germoplasma, Tucuruí – Pará



(Goncalves *et al.*, 2004). A população foi formada em 1985 por 30 indivíduos capturados em margens opostas do rio Tocantins. Todos os *loci* avaliados foram altamente polimórficos, variando entre 9 a 20 alelos por *loco*, com média de 13,3. A heterozigidade observada e esperada média foi de 0,736 e 0,858, respectivamente. Posteriormente, Bastos *et al.* (2010) utilizaram 15 *loci* microssatélites em 40 indivíduos de *A. belzebul* para avaliar cinco populações isoladas em ilhas que foram geradas na década de 1980 a partir da implementação do reservatório hidrelétrico de Tucuruí, Pará – Brasil. Uma das ilhas é a Germoplasma, também estudada por Gonçalves *et al.* (2004). No geral, os autores constataram que as populações isoladas de *A. belzebul* nestas ilhas fluviais apresentaram relativa ampla variabilidade genética, com poucas evidências de gargalos populacionais ou perda de variabilidade em comparação com as populações originais antes da inundação. Para estas populações recentemente isoladas, as mudanças observadas foram limitadas a mudanças na composição alélica, associada à mistura de subpopulações durante as inundações (Bastos *et al.*, 2010).

Winkler *et al.* (2004) estudaram 29 bugios (*Alouatta palliata*) habitantes da ilha fluvial de Ometepe, Nicarágua. Esta quantidade de animais foi muito próxima da população total da ilha durante o estudo. A estimativa de isolamento da ilha é de 10 mil anos e o uso de 13 *loci* microssatélite na avaliação de três grupos de bugios foi comparada com 10 indivíduos de *A. pigra* habitantes da região de Scotland Half Moon, uma população continental de Belize. Em ambos cenários, os bugios habitavam fragmentos de vegetação em meio a uma paisagem agrícola e com intensa perda da cobertura vegetal. O estudo revelou heterozigidade média de 0,16 para *A. palliata* de Ometepe e 0,43 para *A. pigra* de Belize. Como a obtenção

de amostras de Ometepe ocorreu em duas etapas (1998 e 2000), os pesquisadores observaram que ocorreram mudanças na frequência de alelos entre os diferentes grupos de Ometepe, associados à emigração e imigração dos indivíduos no interior da ilha. Os autores indicaram que existe variabilidade geográfica entre as espécies de *Alouatta* estudadas, pois os *A. pigra* de Belize apresentaram 12 alelos que estavam ausentes na população de *A. palliata* de Ometepe que, por sua vez, apresentou cinco alelos adicionais não expressados na população da Nicarágua. Estas variações alélicas também ocorreram entre os diferentes grupos de cada área amostrada.

Em um único estudo realizado com microssatélites para avaliação da diversidade genética de *Alouatta guariba*, Machado & Bonatto (2011) utilizaram oito *loci* microssatélites para avaliação da diversidade genética de 132 bugios de 18 localidades diferentes dentro de seis estados brasileiros (Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). Dezoito espécimes integrados a esse estudo tiveram como origem a Serra da Cantareira (SP), área com vegetação contínua e preservada mais próxima do PEFI. Nesta avaliação, três dos oito *loci* foram os mesmos utilizados neste estudo. Para Ab7, os autores encontraram 11 alelos com  $H_o=0,397$  e  $H_e=0,631$ . Para Ab 17 foram 17 alelos com  $H_o=0,454$  e  $H_e=0,587$  e para Ac17 foram identificados seis alelos com  $H_o=0,261$  e  $H_e=0,587$ . No geral, com todos os animais amostrados ao longo dos estados, os oito *loci* foram altamente polimórficos com média de 12,62 alelos por *loco*. A  $H_o$  média foi de 0,339 e  $H_e$  de 0,527. Machado & Bonatto (2011) encontraram maior quantidade de alelos nestes três *loci* do que no PEFI, em contrapartida, os valores de heterozigosidade observada e esperada foram maiores

no PEFI. Contudo, apesar dessa diferença de valores, não foram revelados desvios significativos no equilíbrio de Hardy-Weinberg entre os *loci* analisados no estudo de Machado & Bonatto (2011), ao contrário do que foi observado para o PEFI, inclusive no *loco* Ab7.

Pesquisas foram realizadas com bugios de áreas muito menores do que o encontrado no PEFI, como ocorrido no estudo preliminar de Del Valle *et al.* (2005), que avaliaram a diversidade genética de *Alouatta pigra* no México. Foram utilizadas amostras de fezes para amplificar um *loco* microssatélite em uma população de bugios de habitat contínuo e preservado (331.200 ha) e fragmentos ao redor, que continham 1.700, 1.400, 20 e 1 ha. Nesta ocasião, o valor médio de heterozigose obtida para cada uma das populações de bugios estudados foi alta em comparação a outros estudos com essa espécie em habitats fragmentados. Não foram encontrados desvios significativos entre os grupos das diferentes áreas e os coeficientes de endogamia foram negativos. A conclusão dos autores foi de que não existe isolamento reprodutivo entre os diferentes fragmentos e que apesar do maior fragmentação no entorno do habitat contínuo, existe fluxo de indivíduos entre as áreas amostradas. Nesta ocasião, as parcelas agrícolas arborizadas funcionam como corredores para que os animais se desloquem. Desta forma, com existência de fluxo gênico é possível que a espécie se mantenha viável mesmo quando em fragmentos de mata restritos a um ha.

Embora comparações de diversidade entre diferentes áreas e espécies terem a necessidade de serem interpretados com cautela devido às diferenças específicas relativas aos *loci*, às espécies e suas histórias de vida, ao uso dos métodos e aos padrões comportamentais (Milton *et al.*, 2009), dados sobre diversidade genética a

partir de técnicas de microssatélite em populações selvagens de primatas no Novo Mundo são raras e limitadas, tornando difícil a obtenção de referências para análise comparativa (Winkler *et al.*, 2004; Charpentier *et al.*, 2007).

Os estudos com populações insulares de *Alouatta* desenvolvidos por Goncalves *et al.* (2004), Bastos *et al.* (2010) e Milton *et al.* (2009) apresentaram diversidade genética superior aos bugios-ruivos do PEFI. Apenas os *A. palliata* da ilha de Ometepe, Nicarágua, apresentaram valores inferiores. Contudo, o isolamento populacional estimado em 10 mil anos e o pequeno tamanho da população (aproximadamente 29 indivíduos) possivelmente contribuiu para os baixos valores encontrados a partir do efeito fundador e deriva genética, tornando essa população de Ometepe ainda mais suscetível às consequências da depressão endogâmica e extinção local (Winkler *et al.*, 2004).

Apesar dos valores encontrados no PEFI serem inferiores a três dos quatro estudos apresentados que abordaram a diversidade genética de populações insulares por meio de microssatélites, os *A. g. clamitans* do PEFI revelaram níveis moderados de diversidade quando comparado com outras populações continentais de *Alouatta* da América Central (Mandujano & Escobedo-Morales, 2008; Ruiz-Garcia *et al.*, 2007). As populações deste gênero tendem a revelar baixa diversidade genética nesta região (James *et al.*, 1997; Ellsworth, 2000; Zaldivar *et al.*, 2003; Winkler *et al.*, 2004; del Valle *et al.*, 2005; Belle & Estrada, 2007; Pavelka *et al.*, 2007). As hipóteses para a baixa diversidade genética relatada em grupos de bugios desta localidade é relacionada com a história de colonização e expansão humana na América Central (Malmgren & Bush, 1978; Dunn *et al.*, 2014, Ellsworth & Hoelzer, 2006), além da possível relação de populações impactadas por desastres

ambientais como furacões e epidemias de febre amarela (Baldwin, 1976; Collias & Southwick, 1952; Crockett, 1998, James, 1992; Ruiz-Garcia *et al.*, 2007). Já para as espécies de *Alouatta* da América do Sul, a diversidade genética parece ser muito alta quando empregado o uso de isoenzimas e microssatélites (Ruiz-Garcia *et al.*, 2007), inclusive quando comparado com espécies de outros gêneros de primatas neotropicais, como *Cebus*, *Saimiri*, *Aotus* e *Ateles* (Ruiz-Garcia, 2005).

Os resultados dos estudos citados em conjunto com os valores de diversidade genética obtidos para os bugios-ruivos do PEFI indicam que as populações fundadoras podem ter sido geradas a partir da combinação de uma grande população com alta diversidade genética. Portanto, os valores moderados obtidos para a população insular do PEFI podem ser decorrentes de uma condição ancestral. Com isso, o fato de não ter sido encontrada baixa diversidade genética para os *Alouatta g. clamitans* do PEFI não eleva essa população para um nível de despreocupação.

Parte das diferenças na variabilidade genética e medidas de heterozigidade das espécies de *Alouatta* podem estar relacionadas não só às diferenças comportamentais observadas e entre as diferentes populações como também às características da paisagem das áreas estudadas. Assim como observado em *A. seniculus* (Pope, 1992) e *A. palliata* (Sussman, 2000), os grupos de *A. g. clamitans* do PEFI foram caracterizados como haréns liderados por um macho dominante que busca centralizar o acesso reprodutivo junto às fêmeas do grupo, realizando a maior parte das cópulas de forma a se tornar o principal macho reprodutor. Já para os grupos de *A. palliata* de Ometepe, Nicarágua, Winkler *et al.* (2004) observaram múltiplos machos copulando nos diferentes grupos, fato que pode contribuir para a

maior variabilidade genética do grupo e população. Pope (1992) divulgou que ambos os sexos de *A. seniculus* podem permanecer no grupo natal baseado na estrutura nuclear de parentesco. Já Glander (1992), observou que ambos os sexos de *A. palliata* se dispersam. Contudo, Ellsworth & Hoelzer (1998) e Malmgren & Brush (1978) relataram que alguns locais de maior fragmentação ou isolamento podem favorecer que ambos os sexos de *A. palliata* se juntem ao mesmo grupo de origem devido às menores chances de dispersão. Através disso, compreende-se que a dinâmica comportamental relacionada com o tipo de habitat pode influenciar a diversidade genética das populações de *Alouatta*, não gerando um padrão específico para populações de áreas preservadas, fragmentadas e tampouco padrões espécie específicos. Além disso, Schneider *et al.* (1991) sugerem que os hábitos alimentares diversificados, alta fecundidade e a capacidade de transpor barreiras ecológicas podem estar relacionados com a heterozigosidade encontrada no gênero.

Populações pequenas podem apresentar redução na diversidade genética causada pelo efeito fundador, que são agravados pela flutuação alélica aleatória gerada pela deriva genética, ocasionando a possível perda de alelos decorrente da menor reserva genética (Spiess, 1989). Como consequência, diferenças significativas podem ocorrer nas frequências alélicas das populações isoladas, ao contrário da menor possibilidade quando em populações maiores e com fluxo gênico (Klug & Cummings, 2000). A uniformidade alélica e maior homozigosidade das populações isoladas refletem na diminuição do vigor reprodutivo, fitness adaptativo, condicionamento físico, introduz doenças genéticas e torna a população mais

vulnerável às pressões ambientais (Klug & Cummings, 2000; O'Brien, 1994, Frankham *et al.*, 2008).

#### **6.4. Parentesco e estrutura genética**

Os 30 animais amostrados propiciaram 435 avaliações de parentesco par-a-par (Anexo 2), sendo que a classe de parentesco foi definida em 402 avaliações (92,4%). Destas, 348 (86,5%) apresentaram resultado de não relacionado, 36 (8,95%) foram meio-irmãos, 11 (2,75%) irmãos completos e sete (1,75%) progenitor-prole. Esta análise corrobora os resultados do coeficiente de endogamia obtidos neste estudo, pois os 30 indivíduos foram amostrados aleatoriamente e de diferentes grupos e regiões do PEFI, mesmo assim foram encontradas sete relações de progenitor-prole e 11 relações de irmãos completos entre eles.

Os valores de distância geográfica (em metros) variaram em valores máximos e mínimos dentro das classes de relação de parentesco (U Max: 3916, Min: 82; HS Max: 3856, Min: 167; FS Max: 1983, Min: 148; PO Max: 1596, Min: 171; sendo U = unrelated; HS = halfsibs; FS = fullsibs; PO = parent-offspring) e a análise de correlação de Pearson resultou em uma relação linear negativa ( $r = -0,1472$ ). Logo, quanto menor a distância geográfica entre dois indivíduos, maior a relação de parentesco entre os mesmos. Apesar de significativo ( $p = 0,003$ ), o coeficiente de correlação foi nulo ( $R^2 = 0,0217$ ). Na análise de variância (ANOVA) foi encontrada diferença significativa ( $F = 3,97$ ;  $p = 0,008$ ) quando avaliado todos os indivíduos amostrados para-a-par, e o pós-teste de Tukey revelou que a significância ocorreu entre as relações U e PO. Indicando que existe menor distância geográfica na relação progenitor-prole quando comparado com a distância geográfica dos

indivíduos não relacionados. Todos os valores foram transformados em ln para normalização dos dados.

Na análise par-a-par das fêmeas isoladamente (ln), observamos correlação linear negativa não significativa ( $r = -0,0628$ ;  $r^2 = 0,0039$ ,  $p = 0,81$ ) e a ANOVA não indicou diferença significativa entre as classes de parentesco e a distância geográfica ( $F = 0,1663$ ;  $p = 0,6914$ ). Já para os machos entre eles (ln), a correlação linear negativa foi significativa com valor nulo de coeficiente de correlação ( $r = -0,2363$ ;  $R^2 = 0,0558$ ;  $p = 0,0003$ ). Assim como na análise geral de todos os indivíduos, a ANOVA apresentou diferença significativa para os machos ( $F = 4,79$ ;  $p = 0,003$ ), e o pós-teste de Tukey indicou que a significância ocorreu entre as relações U e PO, apontando que existe menor distância geográfica na relação progenitor-prole quando comparado com a distância geográfica dos indivíduos não relacionados. Devido à alta significância encontrada na avaliação dos machos, talvez a significância das análises de todos os indivíduos em conjunto tenha sido influenciada pela maior quantidade de machos amostrados (23:7). Observa-se nesses resultados que a proximidade geográfica dos machos adultos aparentados foi mais significativa do que a proximidade das fêmeas adultas aparentadas. Essa diferença pode ter ocorrido devido ao menor número de fêmeas amostradas.

Indivíduos que vivem isolados em um determinado fragmento são privados de avaliar as condições de outras áreas e, assim, podem permanecer em seus grupos natais (Fortes & Bicca-Marques, 2008). Possivelmente, devido ao isolamento populacional alguns machos mantiveram maior proximidade do local de origem devido ao ambiente restrito e diminuição da chance de dispersão. Talvez os machos



adultos dominantes sejam mais complacentes/tolerantes em dividir território com filhos adultos do que com outros machos menos aparentados.

Milton *et al.* (2009), relataram que alguns grupos de *A. palliata* da ilha de Barro Colorado, Panamá, apresentaram níveis de parentesco mais acentuados entre machos adultos do que fêmeas adultas mesmo observando a dispersão mais acentuada de machos do que fêmeas entre os grupos da área estudada. Por outro lado, pudemos avaliar que a tentativa de dispersão de indivíduos para fora dos limites da Unidade de Conservação é basicamente restrita aos machos, que acabam sofrendo algum tipo de impacto antrópico.

Diante disso, pode-se supor duas situações: 1) Machos que evitam a dispersão e ficam próximos do grupo natal, favorecendo assim a relação de parentesco (progenitor-prole) encontrada entre machos adultos de áreas próximas; 2) Machos que dispersam para fora dos limites da Unidade de Conservação e sofrem, geralmente, impactos de origem antropogênica. O que está relacionado com os recorrentes atendimentos de indivíduos machos em área urbana. Este padrão de dispersão dos machos para fora do PEFI está próximo do modelo de frustração apontado por Lidicker (1975), que faz referência aos indivíduos que procuraram territórios de forma mal sucedida. A dispersão frustrada geralmente ocorre quando não existe área suficiente para abrigar o dispersor, quando o local de dispersão não possui indivíduos do sexo oposto ou quando existem barreiras que impedem o êxito da dispersão. Desta forma, sugere-se que a escolha de dispersão dos machos de *Alouatta g. clamitans* para fora dos limites do PEFI é, geralmente, frustrada devido à limitação de habitat capaz de fornecer recursos para a espécie.

Para *A. g. clamitans*, uma pequena área de vida dos grupos são relatadas em diferentes estudos, que variam de 4 a 41 ha, geralmente o mais comum são áreas pequenas de 4 a 8 ha (Aguiar *et al.*, 2003; Steinmetz 2005; Cunha & Jalles-Filho 2007). No PEFI, dois grupos de áreas distintas foram acompanhados durante doze meses consecutivos e o resultado de suas áreas de vida foi estimado em 3,5 e 5,6 ha (Benedicto *et al.*, 2015). Sendo o grupo de maior área habitante da zona de maior preservação e conectividade do PEFI, deixando-os assim, na faixa das menores áreas de vida relatadas para a espécie. Desta forma, é possível que o menor tamanho das áreas de vida se dê pela suposta alta densidade populacional sugerida para a área de estudo, que pode acarretar na maior possibilidade de interação entre animais de grupos distintos e maior tolerância entre alguns animais adultos, assim como sugerido após análise entre os primatas amostrados.

Alguns autores relatam comportamento agonístico entre fêmeas de bugios (Jones, 1980; Pope, 1992, 1996; Clarke & Glander, 2004), porém, no PEFI não foi registrado conflito entre fêmeas. Pelo contrário, a relação parece ser amistosa e, por vezes, já foram observadas fêmeas e filhotes participando de atividades diárias em grupos adjacentes (Monticelli, C. dados não publicados). Esta relação amigável entre fêmeas de grupos distintos também foi observada por Milton *et al.*, (2009) para *A. palliata*. Desta forma, sugere-se que no PEFI a dispersão entre os grupos de *A. g. clamitans* seja maior entre fêmeas do que entre machos, assim como relatado em outras espécies do gênero (Zucker & Clarke, 1998; Clarke & Glander, 2004, Winkler *et al.*, 2004). Essa inferência está relacionada também com a maior aceitabilidade das fêmeas entre os diferentes grupos, o que não é visto para os machos da área de estudo. A grande maioria das capturas de bugios do PEFI está relacionada com

machos feridos após conflitos intra-específicos e também devido à dispersão para fora da Unidade. Oklander *et al.* (2010) mostraram que em habitat contínuo, tanto machos quanto fêmeas de *A. caraya* migram. Entretanto, em habitats fragmentados a dispersão dos sexos é diferenciada. Nestas áreas, os machos dispersam mais que as fêmeas.

A avaliação do sistema social e comportamentos de dispersão e acasalamento são importantes para a análise da estrutura genética de uma população, pois são responsáveis pela determinação da distribuição da variação genética na população (Storz, 1999; Sugg *et al.*, 1996). Portanto, estudos genéticos mais específicos para avaliação de parentesco poderão ser empregados com os bugios-ruivos do PEFI para melhor compreensão dos padrões de dispersão e estratégias reprodutivas. Até porque, existem relativamente poucos estudos com primatas selvagens que investigam padrões de dispersão e parentesco em primatas não-humanos (Van Belle *et al.*, 2012).

Quanto à capacidade de dispersão da espécie, poucas informações são relatadas sobre *Alouatta g. clamitans* em paisagens não florestadas (Fortes & Bicca-Marques, 2008), contudo, Jones (1999) cita que o isolamento populacional compromete a dispersão e provavelmente aumenta a probabilidade dos indivíduos permanecerem dentro do grupo natal, a não ser que as condições fora do grupo ofereçam maiores chances de sobrevivência e sucesso reprodutivo. O mesmo autor sugere que a dispersão em paisagens fragmentadas pode ser influenciada pela saturação do habitat. Aximoff & Vaz (2016), relataram o deslocamento terrestre superior a 2 km efetuado por um macho adulto de *A. g. clamitans* em uma estrada de terra no interior do Parque Nacional do Itatiaia - RJ. No PEFI, não é incomum o

atendimento de ocorrências e captura de bugios-ruivos que dispersaram para a cidade. Nestas ocorrências, a maior distância de dispersão constatada foi de 842 metros do limite da Unidade de Conservação. Nestas ocasiões, o deslocamento é curto devido à utilização de estruturas artificiais e posterior acometimento por impacto antrópico, geralmente associado à eletroplessão e atropelamento.

Apesar de ter sido detectado este padrão de relação negativa entre distância geográfica e relação de parentesco, sugere-se que mesmo com potenciais barreiras físicas no interior da Unidade, existe fluxo gênico entre os indivíduos estudados, já que a análise bayesiana realizada por meio do Structure apontou a existência de uma única população genética no PEFI (Figura 6). As inferências de  $k=2$  e  $k=3$  (Figura 7) indicaram que todos os indivíduos amostrados apresentam a mesma chance de pertencer a qualquer uma das populações. Entretanto, os resultados obtidos neste estudo mostraram que apesar da existência de fluxo gênico entre os indivíduos amostrados, a população de bugios do PEFI apresentou média considerável de coeficiente de endogamia e diversidade genética inferior a outras populações isoladas. Além disso, o isolamento populacional e a possível saturação do habitat fazem com que os conflitos entre machos sejam potencializados e que indivíduos dispersem para a cidade e sejam acometidos pelos impactos antrópicos, inviabilizando assim, a dispersão.

L(K)

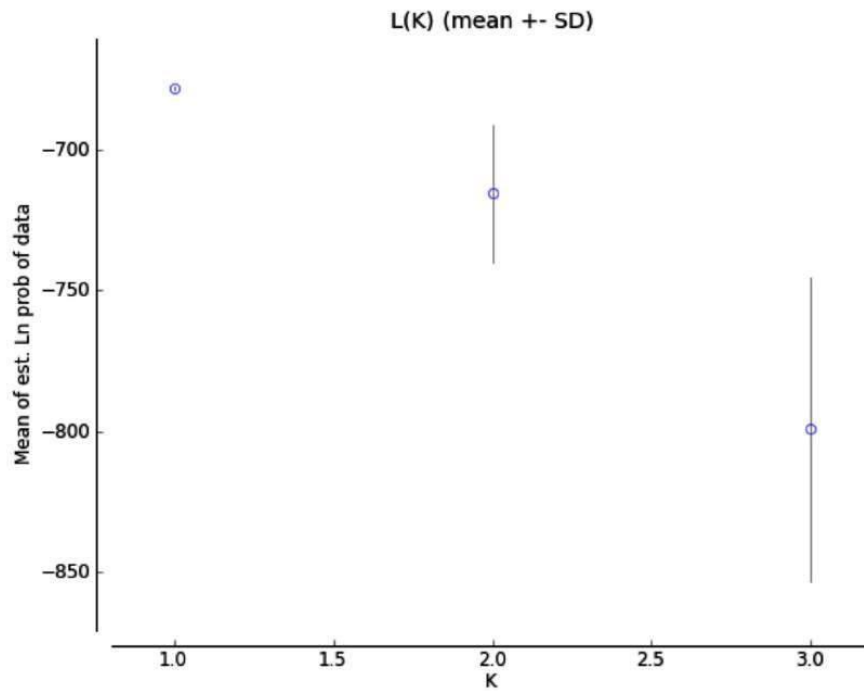


Figura 6. Gráfico gerado pelo Structure Harvester (Earl & vonHoldt, 2012) indicando a maior probabilidade de existir apenas uma população de *Alouatta g. clamitans* no PEFI a partir do método de Evanno (2005). O gráfico avalia a maior probabilidade e o desvio padrão dentre as três populações putativas.

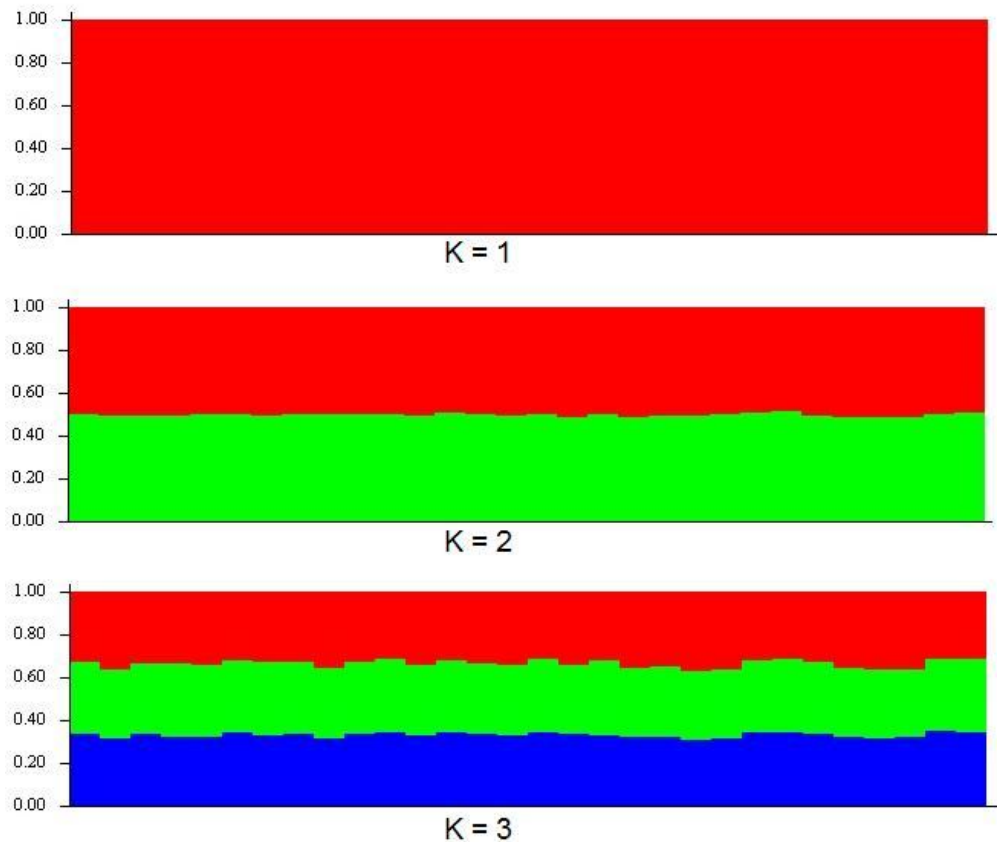


Figura 7. Gráfico de barras obtido pelo Structure com  $K = 1, 2$  e  $3$ . Representando a população não estruturada de *Alouatta g. clamitans* do PEFI.

Desta forma, sugere-se que existe movimentação dos animais por toda a área do PEFI. Apesar de a dispersão local ocorrer, a área passível de ocupação pelos primatas é restrita aos limites da Unidade de Conservação. Esta informação demonstra que a avenida que divide o Parque Estadual não age como barreira geográfica, pois apesar de muitos animais serem atropelados durante a travessia (Monticelli & Moraes, 2015), existe movimentação mínima suficiente para que o fluxo gênico entre todas as áreas do PEFI seja eficiente. Não tendo sido detectada estruturação populacional.

Além da possibilidade de dispersão de indivíduos pelas áreas internas do PEFI, mesmo que seja por deslocamento terrestre entre as áreas mais antropizadas, a recente instalação de pontes suspensas para deslocamento seguro dos bugios em áreas de interrupção da conectividade arbórea (Figura 9) favorece ainda mais a travessia dos animais e a promoção do fluxo gênico na área de estudo, além de minimizar os impactos antrópicos que removem espécimes do PEFI.



Figura 8: Grupo de *Alouatta guariba clamitans* atravessando ponte artificial suspensa no interior do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Foto: Cauê Monticelli.

### 6.5. Gargalo Populacional

As análises efetuadas no Bottleneck não indicaram evidências de uma redução populacional recente entre os bugios-ruivos do PEFI. Para o modelo IAM, a proporção de *loci* com heterozigosidade maior que o esperado ( $H_o > H_e$ ; padrão

previsto para populações que sofreram gargalo) foi de oito dos 10 *loci* analisados, porém apenas dois *loci* apresentaram valores significativos (Api 14 e Ab 17). Para TPM, cinco *loci* apresentaram  $H_o > H_e$ , porém apenas três foram significativos (Ab 6, Ab 17 e Api 17). Para SMM, cinco *loci* apresentaram valores de  $H_o > H_e$ , com três *loci* significativos (Ab 6, Ab 17 e Api 17). Nesta análise, a quantidade esperada de *loci* com excesso significativo de heterozigosidade para inferência de desequilíbrio mutação-deriva era de 5,44, 5,66 e 5,65, respectivamente. Os testes de sinal e Wilcoxon (Tabela 3) não revelaram nenhum desvio significativo na distribuição da frequência alélica esperada para populações em equilíbrio ( $p < 0,05$ ), o que impossibilita afirmar a existência de gargalo recente por falta evidências a partir da utilização desses métodos. O tamanho amostral aqui avaliado pode ter sido limitado para detectar eventuais reduções populacionais na área de estudo. Ou então, o eventual gargalo pode ter gerado uma perda modesta de heterozigosidade, fato que pode ocorrer mesmo após gargalos drásticos, assim como inferido por Amos & Harwood (1998). Portanto, estes resultados sugerem que não existiu declínio populacional recente, mas não rechaçam a possibilidade de gargalo histórico capazes de detecção por outros métodos.

---

Tabela 3. Valores de p encontrados para o teste de sinal e Wilcoxon frente aos diferentes modelos utilizados para avaliar a probabilidade de eventos recentes de declínio populacional para a os *Alouatta g. clamitans* estudados. Valores calculados usando o software Bottleneck (Piry *et al.*, 1999).

| População | Modelo de alelos infinitos (IAM) |                | Modelo duas fases (TPM) |                | Mutação por etapas (SMM) |                |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------------------------|----------------|--------------------------|----------------|
|           | Teste de sinal                   | Teste Wilcoxon | Teste de sinal          | Teste Wilcoxon | Teste de sinal           | Teste Wilcoxon |
| PEFI      | 0,0982                           | 0,0801         | 0,4473                  | 0,5391         | 0,4304                   | 0,7217         |

---



Durante estudos genéticos com espécies de *Alouatta*, Ruiz-Garcia *et al.* (2007) não demonstraram evidências de gargalo genético em *A. palliata*, espécie em que geralmente a diversidade genética é mais baixa devido às inferências de redução populacional por desastres ambientais, doenças e colonização da América Central, fato geralmente associado à eventos de gargalo populacional (Malmgrem, 1979; James *et al.*, 1997). Em contrapartida, mencionaram a ocorrência de gargalo em *A. caraya* da Bolívia e Argentina, espécie geralmente considerada fora dos maiores níveis de ameaça. Já James *et al.* (1997), forneceram evidências de gargalo populacional em *Alouatta pigra*, o que possibilitou a implementação de ações para a conservação das espécies em seus habitats.

No estudo de Bastos *et al.* (2010), cinco populações de *A. belzebul* isoladas em ilhas na década de 1980 a partir da implementação do reservatório hidrelétrico de Tucuruí no Pará – BR, foram avaliadas. Na análise de efeitos gargalos com uso da mesma metodologia deste estudo, os autores observaram que os resultados variaram consideravelmente de acordo com o modelo mutacional utilizado e o tipo de teste estatístico. Eles indicaram que o modelo IAM apontou gargalos recentes em três das cinco populações. Contudo, o teste de sinal do SMM resultou na ocorrência de gargalo para uma das populações, que foi contrariada na implementação do teste de Wilcoxon. Como conclusão das análises, os autores definiram que nenhuma das populações tinham passado por eventos recentes de gargalo.

Milton *et at.* (2009) analisaram efeitos de redução populacional recente na população isolada de *A. palliata* na ilha de Barro Colorado, Panamá. Os autores não diagnosticaram sinais de gargalo pela análise do Bottleneck. Entretanto, as simulações coalescentes para analisar a variação dos microssatélites sugeriram

considerável redução do número populacional efetivo. Os fatores relacionados à discrepância dos resultados foram relacionados com um gargalo de tamanho menor diante da capacidade de detecção dos métodos baseados na expectativa de equilíbrio. Junto a isso, apesar dos autores desconhecerem o tamanho da população no momento do isolamento, 20 anos após o isolamento existiam cerca de 500 animais na ilha (Carpenter, 1934 *apud* Milton *et al.* 2009), população que pode ter sido suficiente para a manutenção da diversidade genética mesmo após uma redução populacional de menor gravidade.

Apesar da divulgação de alguns estudos que analisaram a ocorrência de efeitos gargalos, muitas espécies de *Alouatta* não foram similarmente estudadas no ponto de vista genético (Ruiz-Garcia *et al.*, 2007), fato que dificulta a comparação entre populações da mesma espécie. No caso do PEFI, não foi encontrado evidências de gargalo populacional pelo método e modelos utilizados. Entretanto, apesar da ausência de gargalo e mesmo considerando a moderada diversidade genética encontrada, o isolamento populacional associado à paisagem antrópica é um fator preocupante que pode levar a população a um grave declínio, e até mesmo extinção, decorrente da epizootia de febre amarela, por exemplo, ou caça, que são fatores que estão associados com a extinção de bugios em ambientes isolados (Crockett 1998; Bicca-Marques 2003).

## **7. Implicações para conservação**

### **7.1. Endogamia**

Além de confirmar a hipótese de que a endogamia aumenta a propensão de extinção de populações insulares, Frankham (1998) constatou que alguns valores de

coeficiente de endogamia responsáveis pela extinção de espécies domésticas em laboratório podem ser encontrados em muitas populações selvagens insulares. A endogamia em laboratório ocorre em taxas mais rápidas do que em ambientes naturais, mesmo que insulares (Tantawy & Reeve, 1956 *apud* Frankhan, 1998); Cornelius & Dudley, 1974; Good & Hallauer, 1977; Ehiobu *et al.*, 1989; Latter *et al.*, 1995; Falconer & Mackay, 1996), uma das hipóteses é a quantidade de fundadores das populações de laboratório. Porém, em ambientes naturais as condições ambientais são mais severas e variáveis do que em laboratório, fato que torna a depressão endogâmica um fator ainda mais negativo (Hoffmann & Parsons, 1991; Chen, 1993; Jimenez *et al.*, 1994; Keller *et al.*, 1994; Latter *et al.*, 1995).

Por outro lado, Wool & Bergerson (1986) mostraram que as taxas de extinção decorrentes da depressão endogâmica foram maiores em ambientes severos e com condições ambientais variáveis do que no ambiente benigno e padrão do cativeiro.

Dito isso, pode-se entender que os valores de endogamia refletem de formas diferentes de acordo com a realidade da população e área estudada. No caso dos bugios do PEFI, os níveis de diversidade genética podem não levar a uma extinção local em curto e até mesmo médio prazo, contudo, as premissas da genética da conservação relacionadas aos entraves da baixa diversidade genética e impedimento do fluxo gênico, como diminuição do vigor reprodutivo e fecundidade, diminuição do fitness adaptativo, fixação de alelos deletérios, fatores estes que podem tornar essa população mais suscetível às alterações ambientais e eventos estocásticos. Como exemplo, a existência da recente epizootia de febre amarela, doença que dizimou bugios e outros primatas no estado de São Paulo nos anos de 2017 e 2018, inclusive em regiões próximas do PEFI, como no Parque Estadual

Alberto Loefgreen (Horto Florestal de São Paulo). Eventos ambientais extremos já foram reportados como responsável pela alta mortalidade de indivíduos de populações isoladas, como pardais (Keller *et al.*, 1994), Tentilhões de Galápagos (Weiner, 1994), pato-de-Laysan (Cooper *et al.*, 1996) e lagartos (Quammen, 1996).

A depressão endogâmica em populações isoladas também tem consequências sobre o comportamento e fisiologia, podendo contribuir para maiores taxas de extinção em ilhas do que em populações continentais. Essas consequências podem estar relacionadas à perda de capacidade de dispersão e perda de capacidade de identificação de predadores, por exemplo, além da menor resistência a patógenos (Carlquist, 1974; Myers, 1979; Soulé, 1983; Temple, 1985; Vitousek, 1988; Atkinson, 1989; Cody & Overton, 1996). Por fim, parece improvável que populações selvagens em ambientes isolados sejam menos suscetíveis a extinções induzidas por depressão endogâmica do que as populações de cativeiro para os mesmos valores de  $F$ . Portanto, não pode ser excluída como causa de maior propensão à extinção nas populações isoladas (Frankham, 1998).

## **7.2. Capacidade suporte e translocação**

Após a mitigação de alguns impactos que os bugios-ruivos do PEFI eram acometidos, a taxa de mortalidade dos bugios decaiu consideravelmente e junto a isso teve um aumento das ocorrências de confrontos agonísticos entre os machos com valores crescentes a cada ano (Monticelli, C. *et al.*, dados não publicados). Acredita-se que a diminuição na retirada de indivíduos pelos impactos e a continuidade da reprodução da espécie na área limitada, tenha aumentado a densidade populacional local e conseqüentemente interferiu na capacidade suporte

da área, favorecendo então a disputa por recursos entre os indivíduos e a maior taxa de atendimentos de machos feridos, em óbito ou com sequelas dos confrontos, como miíase, prostração, desidratação e septicemia. Geralmente, os machos encontrados nessas situações estavam com lesões de mordedura nas mãos, cabeça, face e cauda. Também já foram encontrados filhotes machos sendo agredidos e derrubados das árvores por machos adultos do mesmo grupo. Em algumas ocasiões existiram agressão física por mordedura, em outras era um aparente descarte do indivíduo, que era lançado ao chão. Apesar de nestes eventos não ter sido possível definir se o macho adulto agressor era o progenitor do filhote ou outro macho que tenha assumido a liderança do grupo, casos de infanticídio já foram relatados para primatas, incluindo os neotropicais (Alvarez *et al.*, 2015). Contudo, estes eventos pontuais ocorreram apenas com filhotes machos, assim como o número de animais agredidos e capturados após confronto agonístico foi exclusivamente relacionado aos machos, induzindo-nos a tratar os eventos citados como uma prévia disputa por recursos e dominância.

Neste cenário, considerando a mitigação dos impactos levantados no estudo de Monticelli & Morais (2015) e a nova dinâmica observada nos grupos de bugios-ruivos do PEFI, é possível avaliar esta população como fonte para revigoração populacional ou reintrodução de indivíduos em áreas do estado de São Paulo em que a população de bugios sofreu declínio populacional decorrente da epizootia de febre amarela. Estas ações favorecerão o restabelecimento de outras populações de forma a diminuir a densidade do PEFI e abrir oportunidade para a inclusão de bugios-ruivos de outras áreas próximas, como a Serra da Cantareira, área de Mata Atlântica preservada localizada a aproximadamente 20 km do PEFI. Por vezes,

bugios-ruivos da Serra da Cantareira são entregues aos centros de recebimento de animais silvestres do Estado ou do Município e, em algumas situações os animais são reabilitados. Nestas ocasiões é possível avaliar a possibilidade de translocar alguns animais para o PEFI com intuito de promover fluxo gênico, uma vez que o isolamento em meio à cidade de São Paulo impossibilitará a conexão do PEFI com outra área florestada e o isolamento será, possivelmente, definitivo.

## 8. Considerações finais

Populações pequenas podem apresentar redução na diversidade genética causada pelo efeito fundador, que são agravados pela flutuação alélica aleatória gerada pela deriva genética, ocasionando possível perda de alelos decorrente da menor reserva genética (Spiess, 1989). Como consequência, diferenças significativas podem ocorrer nas frequências alélicas das populações isoladas, ao contrário da menor possibilidade quando em populações maiores e com fluxo gênico (Klug & Cummings, 2000). A uniformidade alélica e maior homozigosidade das populações isoladas refletem na diminuição do vigor reprodutivo, fitness adaptativo, condicionamento físico, ocorrência de doenças genéticas e torna a população mais vulnerável às pressões ambientais (Klug & Cummings, 2000; O'Brien, 1994, Frankham *et al.*, 2008).

Os bugios-ruivos permaneceram como os únicos primatas autóctones da área de estudo e representam a espécie de mamífero mais bem estudada do PEFI. A sobrevivência destes animais é de grande importância para a conservação desta Unidade de Conservação e dos processos ecológicos no qual a espécie está envolvida. A continuidade dos estudos e manejo são imprescindíveis para que a população perpetue de forma saudável em longo prazo. Neste caso, ainda existe tempo para ações conservacionistas que se baseiem em medidas corretivas com objetivo de proporcionar maior variabilidade genética, pois naturalmente não é provável que esta população isolada consiga reverter os efeitos da endogamia de forma a ficar cada vez mais exposta às pressões ambientais. Nesta premissa, para a perpetuação e sobrevivência de uma espécie, é preciso que esta apresente populações mínimas o suficiente para serem viáveis (Shaffer, 1981), sendo muitas

vezes necessárias medidas de proteção de seus habitats naturais e o manejo das populações na natureza ou em cativeiro, de modo que seja proporcionada a garantia mínima de variabilidade genética (Cullen Junior & Rudran, 2003). Diante disso, como uma das principais estratégias de conservação para a espécie na área, é importante considerar ações de translocação de indivíduos de áreas preservadas próximas para promoção artificial do fluxo gênico (Agoramoorthy, 1995, Baker, 2002). Contudo, é necessário considerar a capacidade suporte, a sugestão de dispersão e maior aceitabilidade de fêmeas no PEFI e a necessidade ou não de retirar indivíduos do local para o potencial recebimento de animais de outras áreas.

Estudos com populações geograficamente isoladas são boas oportunidades para a elucidação das consequências do isolamento populacional e interrupção do fluxo gênico, e os microssatélites são utilizados como ferramenta da genética da conservação cujos resultados subsidiam definições e delimitam esforços de conservação para as diferentes populações que apresentem sinais de vulnerabilidade, como é o caso dos *Alouatta guariba clamitans* do PEFI. Entretanto, os bugios-ruivos estudados não estão em perigo imediato de extinção caso não sejam acometidos por epizootias e/ou sofram pressão de caça, mas os resultados do presente estudo revelam potenciais desafios em longo prazo, especialmente considerando o isolamento populacional, a impossibilidade de fluxo gênico e a paisagem antropogênica que isola e pressiona a Unidade de Conservação em que os primatas habitam.



## 9. Conclusão

O principal objetivo deste estudo foi gerar as primeiras informações sobre a diversidade genética dos *A. g. clamitans* do PEFI com uso de microssatélites, para se ter um ponto de partida para o monitoramento genético da população em longo prazo.

Os resultados obtidos mostraram que os bugios do PEFI não possuem uma baixa variabilidade genética quando comparado com algumas populações de diferentes espécies de *Alouatta*, entretanto, a diversidade genética encontrada no PEFI ficou abaixo de outros estudos com *Alouatta* em ambientes insulares. Além disso, em uma avaliação focal, este estudo apontou desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg com significativos déficits de heterozigosidade em alguns dos *loci* analisados, corroborando a hipótese da ocorrência de considerável nível de endocruzamento entre os indivíduos.

Na avaliação de gargalo populacional não foi constatado declínio populacional recente. Embora os dados tenham indicado alta significância na proximidade geográfica de machos adultos aparentados, uma amostragem mais completa de ambos os sexos de diferentes grupos pode influenciar os resultados aqui obtidos e gerarem informações mais aprofundadas e específicas sobre a dispersão e estruturação da população dos *A. g. clamitans* do PEFI.

Estudos para obtenção da densidade populacional e o monitoramento da população em longo prazo são importante para avaliação da dinâmica da população, principalmente frente às inferências de aumento populacional e limitação da capacidade suporte da área amostrada.

Futuras análises com populações de *Alouatta g. clamitans* serão importantes para comparação com a população do PEFI e, possivelmente, proporcionarão uma maior compreensão sobre os resultados obtidos neste estudo. Além disso, apesar dos bugios do PEFI habitarem uma área com grande interferência urbana, os resultados obtidos aqui podem servir de referência para demais estudos que utilizem marcadores moleculares microssatélites para caracterização da diversidade genética em populações de habitats preservados e fragmentados.

Não está claro por quanto tempo o PEFI está isolado e não existem outros estudos com *A. g. clamitans* que sirvam de comparativo. Logo, a diversidade genética possivelmente perdida é desconhecida.

Apesar do PEFI ser isolado por uma matriz terrestre, onde os bugios em tese poderiam dispersar para outras áreas, não existem fragmentos de mata próximos, muito menos protegidos legalmente. Além disso, a matriz terrestre a ser enfrentada oferece reais riscos à vida dos animais. Neste cenário, é importante manter acompanhamento periódico da variabilidade genética dessa população como parte integrante das estratégias de conservação dos bugios-ruivos do PEFI em longo prazo.

## 10. Anexos

Anexo 1. Lista dos alelos e frequências alélicas em cada um dos 10 *loci* avaliados na população de bugios-ruivos (*Aloutta g. clamitans*) do PEFI.

| <b>Loco</b>  | <b>Tamanho Alelo (pb)</b> | <b>Frequência</b> | <b>Loco</b>   | <b>Alelo</b> | <b>Frequência</b> |
|--------------|---------------------------|-------------------|---------------|--------------|-------------------|
| <b>Ab 4</b>  | 150                       | 0,100             | <b>Api 14</b> | 184          | 0,317             |
|              | 154                       | 0,567             |               | 186          | 0,283             |
|              | 156                       | 0,083             |               | 190          | 0,300             |
|              | 158                       | 0,250             |               | 192          | 0,100             |
| <b>Ab 6</b>  | 268                       | 0,056             | <b>Ab 17</b>  | 180          | 0,200             |
|              | 280                       | 0,111             |               | 192          | 0,283             |
|              | 282                       | 0,074             |               | 196          | 0,183             |
|              | 288                       | 0,704             |               | 224          | 0,150             |
|              | 294                       | 0,019             |               | 228          | 0,083             |
|              | 310                       | 0,037             |               | 232          | 0,100             |
| <b>Ab 7</b>  | 176                       | 0,217             | <b>Ac 45</b>  | 278          | 0,300             |
|              | 180                       | 0,017             |               | 280          | 0,067             |
|              | 192                       | 0,133             |               | 282          | 0,083             |
|              | 194                       | 0,450             |               | 286          | 0,017             |
|              | 196                       | 0,017             |               | 290          | 0,250             |
|              | 198                       | 0,167             |               | 292          | 0,050             |
| <b>Ab 9</b>  | 176                       | 0,020             | 294           | 0,017        |                   |
|              | 180                       | 0,100             | 296           | 0,133        |                   |
|              | 184                       | 0,160             | 304           | 0,067        |                   |
|              | 188                       | 0,560             | 310           | 0,017        |                   |
|              | 192                       | 0,080             | <b>D5S117</b> | 114          | 0,983             |
|              | 196                       | 0,080             |               | 116          | 0,017             |
| <b>Ab 12</b> | 231                       | 0,435             | <b>Ac 17</b>  | 238          | 0,333             |
|              | 235                       | 0,565             |               | 243          | 0,633             |
|              |                           |                   |               | 258          | 0,033             |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 3250 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1043          |
| 3275 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 722           |
| 3275 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1733          |
| 3576 (♀)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 513           |
| 3576 (♀)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1300          |
| 3576 (♀)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 830           |
| 4432 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1225          |
| 4432 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1946          |
| 4432 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1246          |
| 4432 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 713           |
| 5062 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 894           |
| 5062 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 357           |
| 5062 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1633          |
| 5062 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1061          |
| 5062 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1627          |
| 5504 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1113          |
| 5504 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 450           |
| 5504 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1810          |
| 5504 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1190          |
| 5504 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1712          |
| 5504 (♂)   | 5062 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 213           |
| 5513 (♂)   | 3018 (♂) | FS                        | HS  | HS  | /         | 1187          |
| 5513 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2204          |
| 5513 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1084          |
| 5513 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 899           |
| 5513 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 431           |
| 5513 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1910          |
| 5513 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2024          |
| 5713 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 407           |
| 5713 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 783           |
| 5713 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1243          |
| 5713 (♂)   | 3576 (♀) | HS                        | U   | HS  | /         | 573           |
| 5713 (♂)   | 4432 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1162          |
| 5713 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 471           |
| 5713 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 613           |
| 5713 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1465          |
| 5527 (♂)   | 3018 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 904           |
| 5527 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1940          |
| 5527 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 566           |
| 5527 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 711           |
| 5527 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 763           |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 2

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 5527 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1721          |
| 5527 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1876          |
| 5527 (♂)   | 5513 (♂) | PO                        | FS  | FS  | /         | 536           |
| 5527 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1244          |
| 962 (♀)    | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 266           |
| 962 (♀)    | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 978           |
| 962 (♀)    | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1069          |
| 962 (♀)    | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 360           |
| 962 (♀)    | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 980           |
| 962 (♀)    | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 689           |
| 962 (♀)    | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 831           |
| 962 (♀)    | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1204          |
| 962 (♀)    | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 221           |
| 962 (♀)    | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1036          |
| 961 (♀)    | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 223           |
| 961 (♀)    | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1046          |
| 961 (♀)    | 3275 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 728           |
| 961 (♀)    | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 497           |
| 961 (♀)    | 4432 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 1183          |
| 961 (♀)    | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 908           |
| 961 (♀)    | 5504 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1078          |
| 961 (♀)    | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1317          |
| 961 (♀)    | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 577           |
| 961 (♀)    | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 948           |
| 961 (♀)    | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 471           |
| 437 (♂)    | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 337           |
| 437 (♂)    | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 879           |
| 437 (♂)    | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1173          |
| 437 (♂)    | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 474           |
| 437 (♂)    | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1070          |
| 437 (♂)    | 5062 (♂) | PO                        | PO  | PO  | PO        | 581           |
| 437 (♂)    | 5504 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 710           |
| 437 (♂)    | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1358          |
| 437 (♂)    | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 82            |
| 437 (♂)    | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1199          |
| 437 (♂)    | 962 (♀)  | U                         | HS  | U   | /         | 158           |
| 437 (♂)    | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 539           |
| 758 (♂)    | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 585           |
| 758 (♂)    | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 619           |
| 758 (♂)    | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1383          |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 3

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 758 (♂)    | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 761           |
| 758 (♂)    | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1339          |
| 758 (♂)    | 5062 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 281           |
| 758 (♂)    | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 436           |
| 758 (♂)    | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1646          |
| 758 (♂)    | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 208           |
| 758 (♂)    | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1463          |
| 758 (♂)    | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 450           |
| 758 (♂)    | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 699           |
| 758 (♂)    | 437 (♂)  | HS                        | HS  | HS  | HS        | 301           |
| 1582 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 950           |
| 1582 (♂)   | 3250 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 626           |
| 1582 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1763          |
| 1582 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1070          |
| 1582 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1546          |
| 1582 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 280           |
| 1582 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 193           |
| 1582 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1919          |
| 1582 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 556           |
| 1582 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1807          |
| 1582 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 770           |
| 1582 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1072          |
| 1582 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 639           |
| 1582 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 391           |
| 1604 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 282           |
| 1604 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 775           |
| 1604 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1014          |
| 1604 (♂)   | 3576 (♀) | HS                        | U   | U   | /         | 583           |
| 1604 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1288          |
| 1604 (♂)   | 5062 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 619           |
| 1604 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 793           |
| 1604 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1497          |
| 1604 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 352           |
| 1604 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1188          |
| 1604 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 367           |
| 1604 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 291           |
| 1604 (♂)   | 437 (♂)  | PO                        | PO  | PO  | PO        | 361           |
| 1604 (♂)   | 758 (♂)  | FS                        | FS  | FS  | FS        | 410           |
| 1604 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 796           |
| 1611 (♀)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1308          |
| 1611 (♀)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2329          |
| 1611 (♀)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1070          |
| 1611 (♀)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1023          |
| 1611 (♀)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 623           |
| 1611 (♀)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2051          |
| 1611 (♀)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2180          |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 4

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 1611 (♀)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 176           |
| 1611 (♀)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1575          |
| 1611 (♀)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 507           |
| 1611 (♀)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1347          |
| 1611 (♀)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1401          |
| 1611 (♀)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1475          |
| 1611 (♀)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1777          |
| 1611 (♀)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2055          |
| 1611 (♀)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1597          |
| 2559 (♀)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1001          |
| 2559 (♀)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1921          |
| 2559 (♀)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 194           |
| 2559 (♀)   | 3576 (♀) | HS                        | U   | HS  | /         | 993           |
| 2559 (♀)   | 4432 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1302          |
| 2559 (♀)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1807          |
| 2559 (♀)   | 5504 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 1983          |
| 2559 (♀)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1080          |
| 2559 (♀)   | 5713 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1406          |
| 2559 (♀)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 567           |
| 2559 (♀)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1213          |
| 2559 (♀)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 899           |
| 2559 (♀)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1321          |
| 2559 (♀)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1567          |
| 2559 (♀)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1941          |
| 2559 (♀)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1195          |
| 2559 (♀)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1012          |
| 2766 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2114          |
| 2766 (♂)   | 3250 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1292          |
| 2766 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2530          |
| 2766 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 2441          |
| 2766 (♂)   | 4432 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 3139          |
| 2766 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1665          |
| 2766 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1706          |
| 2766 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3332          |
| 2766 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2026          |
| 2766 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2932          |
| 2766 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 2193          |
| 2766 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 2002          |
| 2766 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 2113          |
| 2766 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1876          |
| 2766 (♂)   | 1582 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1895          |
| 2766 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1854          |
| 2766 (♂)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 3394          |
| 2766 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 2694          |
| 3416 (♀)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 655           |
| 3416 (♀)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 971           |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 5

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 3416 (♀)   | 3275 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 1435          |
| 3416 (♀)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 636           |
| 3416 (♀)   | 4432 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 1037          |
| 3416 (♀)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 612           |
| 3416 (♀)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 662           |
| 3416 (♀)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1414          |
| 3416 (♀)   | 5713 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 325           |
| 3416 (♀)   | 5527 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 1354          |
| 3416 (♀)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 406           |
| 3416 (♀)   | 961 (♀)  | FS                        | FS  | FS  | FS        | 846           |
| 3416 (♀)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 326           |
| 3416 (♀)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 388           |
| 3416 (♀)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 503           |
| 3416 (♀)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 664           |
| 3416 (♀)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1551          |
| 3416 (♀)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1615          |
| 3416 (♀)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2271          |
| 3422 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1230          |
| 3422 (♂)   | 3250 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 2242          |
| 3422 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 682           |
| 3422 (♂)   | 3576 (♀) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1065          |
| 3422 (♂)   | 4432 (♂) | FS                        | HS  | HS  | /         | 1020          |
| 3422 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2047          |
| 3422 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2202          |
| 3422 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 664           |
| 3422 (♂)   | 5713 (♂) | PO                        | PO  | PO  | PO        | 1596          |
| 3422 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 324           |
| 3422 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1366          |
| 3422 (♂)   | 961 (♀)  | FS                        | FS  | FS  | FS        | 1250          |
| 3422 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1493          |
| 3422 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1778          |
| 3422 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2129          |
| 3422 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1502          |
| 3422 (♂)   | 1611 (♀) | HS                        | U   | U   | /         | 532           |
| 3422 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 556           |
| 3422 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3178          |
| 3422 (♂)   | 3416 (♀) | FS                        | HS  | HS  | /         | 1686          |
| 3660 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 740           |
| 3660 (♂)   | 3250 (♂) | PO                        | HS  | HS  | /         | 544           |
| 3660 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1559          |
| 3660 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 888           |
| 3660 (♂)   | 4432 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1449          |
| 3660 (♂)   | 5062 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 167           |
| 3660 (♂)   | 5504 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 259           |
| 3660 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1793          |
| 3660 (♂)   | 5713 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 362           |



**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 6

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 3660 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1631          |
| 3660 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 602           |
| 3660 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 856           |
| 3660 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | HS  | U   | /         | 477           |
| 3660 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 171           |
| 3660 (♂)   | 1582 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 217           |
| 3660 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 591           |
| 3660 (♂)   | 1611 (♀) | HS                        | U   | U   | /         | 1901          |
| 3660 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1766          |
| 3660 (♂)   | 2766 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 1847          |
| 3660 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 441           |
| 3660 (♂)   | 3422 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 1977          |
| 4115 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 132           |
| 4115 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 930           |
| 4115 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 915           |
| 4115 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 417           |
| 4115 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1121          |
| 4115 (♂)   | 5062 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 719           |
| 4115 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 883           |
| 4115 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1330          |
| 4115 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 339           |
| 4115 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1042          |
| 4115 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 248           |
| 4115 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 251           |
| 4115 (♂)   | 437 (♂)  | FS                        | FS  | FS  | FS        | 284           |
| 4115 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 475           |
| 4115 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 859           |
| 4115 (♂)   | 1604 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 164           |
| 4115 (♂)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1409          |
| 4115 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1103          |
| 4115 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2023          |
| 4115 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 621           |
| 4115 (♂)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1349          |
| 4115 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 640           |
| 4604 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 140           |
| 4604 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1126          |
| 4604 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 831           |
| 4604 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 200           |
| 4604 (♂)   | 4432 (♂) | PO                        | PO  | PO  | PO        | 894           |
| 4604 (♂)   | 5062 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 874           |
| 4604 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 1025          |
| 4604 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1122          |
| 4604 (♂)   | 5713 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 403           |
| 4604 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 859           |
| 4604 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 193           |
| 4604 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 355           |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 7

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 4604 (♂)   | 437 (♂)  | PO                        | PO  | PO  | PO        | 306           |
| 4604 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 592           |
| 4604 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 941           |
| 4604 (♂)   | 1604 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 392           |
| 4604 (♂)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1207          |
| 4604 (♂)   | 2559 (♀) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1020          |
| 4604 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2256          |
| 4604 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 583           |
| 4604 (♂)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1189          |
| 4604 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 767           |
| 4604 (♂)   | 4115 (♂) | PO                        | PO  | PO  | PO        | 234           |
| 4838 (♀)   | 3018 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 1294          |
| 4838 (♀)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2258          |
| 4838 (♀)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1335          |
| 4838 (♀)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1003          |
| 4838 (♀)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 341           |
| 4838 (♀)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1945          |
| 4838 (♀)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2030          |
| 4838 (♀)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 262           |
| 4838 (♀)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1463          |
| 4838 (♀)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 795           |
| 4838 (♀)   | 962 (♀)  | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1258          |
| 4838 (♀)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1454          |
| 4838 (♀)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1372          |
| 4838 (♀)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1649          |
| 4838 (♀)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1872          |
| 4838 (♀)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1582          |
| 4838 (♀)   | 1611 (♀) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 423           |
| 4838 (♀)   | 2559 (♀) | HS                        | U   | U   | /         | 1348          |
| 4838 (♀)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3425          |
| 4838 (♀)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1383          |
| 4838 (♀)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 951           |
| 4838 (♀)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1787          |
| 4838 (♀)   | 4115 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1415          |
| 4838 (♀)   | 4604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1163          |
| 6138 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1165          |
| 6138 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2118          |
| 6138 (♂)   | 3275 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 386           |
| 6138 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1111          |
| 6138 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1309          |
| 6138 (♂)   | 5062 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1986          |
| 6138 (♂)   | 5504 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 2151          |
| 6138 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1047          |
| 6138 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1557          |
| 6138 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 558           |
| 6138 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 1349          |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 8

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 6138 (♂)   | 961 (♀)  | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1073          |
| 6138 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1476          |
| 6138 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 1731          |
| 6138 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2108          |
| 6138 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1369          |
| 6138 (♂)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 958           |
| 6138 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 184           |
| 6138 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2877          |
| 6138 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1748          |
| 6138 (♂)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 432           |
| 6138 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1899          |
| 6138 (♂)   | 4115 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1264          |
| 6138 (♂)   | 4604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1174          |
| 6138 (♂)   | 4838 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1313          |
| 6378 (♂)   | 3018 (♂) | HS                        | U   | U   | /         | 678           |
| 6378 (♂)   | 3250 (♂) | PO                        | HS  | HS  | /         | 834           |
| 6378 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1499          |
| 6378 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 745           |
| 6378 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1198          |
| 6378 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 452           |
| 6378 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 498           |
| 6378 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1574          |
| 6378 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 293           |
| 6378 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1470          |
| 6378 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 464           |
| 6378 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 864           |
| 6378 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 346           |
| 6378 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 282           |
| 6378 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 341           |
| 6378 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 635           |
| 6378 (♂)   | 1611 (♀) | HS                        | U   | U   | /         | 1703          |
| 6378 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1690          |
| 6378 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2119          |
| 6378 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 160           |
| 6378 (♂)   | 3422 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1789          |
| 6378 (♂)   | 3660 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 281           |
| 6378 (♂)   | 4115 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 625           |
| 6378 (♂)   | 4604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 657           |
| 6378 (♂)   | 4838 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1523          |
| 6378 (♂)   | 6138 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1837          |
| 6421 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 770           |
| 6421 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 693           |
| 6421 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1593          |
| 6421 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 889           |
| 6421 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1362          |
| 6421 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 320           |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte 9

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 6421 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 335           |
| 6421 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1722          |
| 6421 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 374           |
| 6421 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1608          |
| 6421 (♂)   | 962 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 590           |
| 6421 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 930           |
| 6421 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 454           |
| 6421 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 254           |
| 6421 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 191           |
| 6421 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 667           |
| 6421 (♂)   | 1611 (♀) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1852          |
| 6421 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1792          |
| 6421 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1997          |
| 6421 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 323           |
| 6421 (♂)   | 3422 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 1954          |
| 6421 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 158           |
| 6421 (♂)   | 4115 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 695           |
| 6421 (♂)   | 4604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 764           |
| 6421 (♂)   | 4838 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1695          |
| 6421 (♂)   | 6138 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1937          |
| 6421 (♂)   | 6378 (♂) | PO                        | PO  | PO  | PO        | 171           |
| 6665 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2597          |
| 6665 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1757          |
| 6665 (♂)   | 3275 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 2863          |
| 6665 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 2913          |
| 6665 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3611          |
| 6665 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2148          |
| 6665 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2186          |
| 6665 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3796          |
| 6665 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2504          |
| 6665 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3388          |
| 6665 (♂)   | 962 (♀)  | HS                        | U   | HS  | /         | 2679          |
| 6665 (♂)   | 961 (♀)  | HS                        | HS  | HS  | HS        | 2451          |
| 6665 (♂)   | 437 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 2586          |
| 6665 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 2359          |
| 6665 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2369          |
| 6665 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2330          |
| 6665 (♂)   | 1611 (♀) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 3856          |
| 6665 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 3119          |
| 6665 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 484           |
| 6665 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 2739          |
| 6665 (♂)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3610          |
| 6665 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2145          |
| 6665 (♂)   | 4115 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2490          |
| 6665 (♂)   | 4604 (♂) | HS                        | U   | HS  | /         | 2722          |
| 6665 (♂)   | 4838 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 3916          |

**Anexo 2.** Relação de parentesco entre os 30 indivíduos de *Alouatta guariba clamitans* amostrados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo - SP e distância dos pontos de captura.  
Continuação parte final

| Indivíduos |          | Estimadores de parentesco |     |     | Resultado | Distância (m) |
|------------|----------|---------------------------|-----|-----|-----------|---------------|
|            |          | ML-Relate                 | Q&G | L&R |           |               |
| 6665 (♂)   | 6138 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 3303          |
| 6665 (♂)   | 6378 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2605          |
| 6665 (♂)   | 6421 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2481          |
| 6781 (♂)   | 3018 (♂) | U                         | HS  | U   | /         | 350           |
| 6781 (♂)   | 3250 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1132          |
| 6781 (♂)   | 3275 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1060          |
| 6781 (♂)   | 3576 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 251           |
| 6781 (♂)   | 4432 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 791           |
| 6781 (♂)   | 5062 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 834           |
| 6781 (♂)   | 5504 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 934           |
| 6781 (♂)   | 5513 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1114          |
| 6781 (♂)   | 5713 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 336           |
| 6781 (♂)   | 5527 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 975           |
| 6781 (♂)   | 962 (♀)  | FS                        | FS  | FS  | FS        | 148           |
| 6781 (♂)   | 961 (♀)  | U                         | U   | U   | U         | 587           |
| 6781 (♂)   | 437 (♂)  | HS                        | HS  | HS  | HS        | 247           |
| 6781 (♂)   | 758 (♂)  | U                         | U   | U   | U         | 532           |
| 6781 (♂)   | 1582 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 819           |
| 6781 (♂)   | 1604 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 522           |
| 6781 (♂)   | 1611 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1238          |
| 6781 (♂)   | 2559 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1245          |
| 6781 (♂)   | 2766 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 2336          |
| 6781 (♂)   | 3416 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 377           |
| 6781 (♂)   | 3422 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1321          |
| 6781 (♂)   | 3660 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 673           |
| 6781 (♂)   | 4115 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 390           |
| 6781 (♂)   | 4604 (♂) | FS                        | FS  | FS  | FS        | 252           |
| 6781 (♂)   | 4838 (♀) | U                         | U   | U   | U         | 1123          |
| 6781 (♂)   | 6138 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 1376          |
| 6781 (♂)   | 6378 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 478           |
| 6781 (♂)   | 6421 (♂) | U                         | U   | U   | U         | 631           |
| 6781 (♂)   | 6665 (♂) | HS                        | HS  | HS  | HS        | 2821          |

## 11. Referências Bibliográficas

Agoramoorthy, G. 1995. Red howling monkey (*Alouatta seniculus*) reintroduction in a gallery forest of Hato Flores Moradas, Venezuela. *Neotropical Primates*, 3(1), 9–10.

Aguiar, L. M.; Reis, N. R.; Ludwig, G.; Rocha, V. J. 2003. Dieta, área de vida, vocalização e estimativas populacionais de *Alouatta guariba* em um remanescente florestal do norte do Estado do Paraná. *Neotropical Primates*, 11, 78-86.

Alvarez, S.; Di Fiore, A.; Champion, J.; Pavelka, M. S.; Paez, J.; Link, A. 2015. Male-directed infanticide in spider monkeys (*Ateles* spp.). *Primates*. 56(2): 173-181.

Amos, W.; Harwood, J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Phil Trans R Soc B*. 353: 177–186.

Atkinson, I. 1989. Introduced animals and extinction. p. 57-75. In: D. Western & M. C. Pearl, editors. Conservation for the twentyfirst century. *Oxford University Press*, New York.

Aximoff, I., Vaz, S. M., 2016. Bugio-ruivo (Primates, Atelidae) em Campos de Altitude e com anomalia na coloração no Parque Nacional do Itatiaia, Sudeste do Brasil. *Oecologia Australis*, 20(1): 122-127.

Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, D. L., SANTOS, A. A. S. 2007. Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: *IDSM*. 364p.

Baker, L. R. 2002. Guidelines for nonhuman primate re-introductions. Abu Dhabi, UAE: *IUCN/SSC Re-introduction Specialist Group*: p. 32.

Baldwin, L. A. 1976. Vocalizations of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in southwestern Panama. *Folia Primatol*. 26: 81–108.

Barbosa, L. M.; Potomati, A.; Peccinini, A. 2002. O PEFI: histórico e legislação. In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (Orgs.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: *Imprensa Oficial do Estado de São Paulo*. cap 1, p. 15-28.

Bastos, H. B.; Gonçalves, E. C.; Ferrari, S. F.; Silva, A.; Scheneider, M. P. C. 2010. Genetic structure of red-handed howler monkey populations in the fragmented landscape of Eastern Brazilian Amazonia. *Genetics and Molecular Biology*, 33 (4), 774-780.

Benedicto, D. M.; Rocha, V. J.; Monticelli, C. 2015. Área de vida, padrão de atividade, dieta e dispersão de sementes por *Alouatta clamitans* (Cabrera, 1940) em um fragmento urbano de Mata Atlântica da cidade de São Paulo. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

Bicca-Marques, J. C. 2003. How do howler monkeys cope with habitat fragmentation? In: Marsh, L. K. (ed) *Primates in Fragments*. Kluwer Academic Press, New York.

Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. 2002. PEFI: unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: *Secretaria do Meio ambiente do Estado de São Paulo*.

Bjilsma, R.; Bundgaard, J.; Boerema, A. C. 2000. Does inbreeding affect the extinction risk of small populations? Predictions from *Drosophila*. *J Evol Biol* 13: 502-514.

Blouin, M. S. 2003. DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 18 (10). p. 503-511.

Brockett, R. C.; Horwich, R. H.; Jones, C. B. 2000. Female dispersal in the Belizean black howling monkey (*Alouatta pigra*). *Neotropical Primates*, Washington, 8(1): 32-34.

Cabrera, A. 1940. Los nombres científicos de algunos monos americanos. *Ciência, México*, 9: 402-405.

Camargo, C. C.; Ferrari, S. F. 2007. Interactions between tayras (*Eira barbara*) and red-handed howlers (*Alouatta belzebul*) in eastern Amazonia. *Primates*, 48:147-150.

Carpenter, C. R. 1934. A field study of the behavior and social relations of howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Comp Psychol Monogr*. 10: 1–168 *apud* Milton, K.; Lozier, J. D.; Lacey, E. A. 2009. Genetic structure of an isolated population of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetics*, 10(2): 347-358.

Carlquist, S. J. 1974. *Island biology*. Columbia University Press, New York. 660p.

Chame, M.; Olmos, F. 1997. Two howler species in southern Piauí, Brazil? *Neotropical Primates*, 5: 74–76.

- Chapman, C. A.; Lawes, J.; Naughton-Treves, L.; Gillespie, T. 2003. Primate survival in community-owned forest fragments: are metapopulation models useful amidst intensive use? P. 63-78. In: Marsh, L. K. (ed) *Primates in fragments: Ecology and Conservation*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Charpentier, M. J. E.; Widdig, A.; Alberts, S. C. 2007. Inbreeding depression in non-human primates: a historical review of methods used and empirical data. *Am J Primatol* 69: 1370–1386.
- Chen, X. 1993. Comparison of inbreeding and outbreeding in hermaphroditic *Arianta arbustorum* (land snail). *Heredity*, 71: 456–461.
- Chiarello, A. G. 2000. Conservation value of a native forest fragment in a region of extensive agriculture. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, 60(2): 237-247.
- Chiarello, A. G. 2003. Primates of the Brazilian Atlantic Forest: The influence of forest fragmentation on survival. In: Marsh LK (ed) *Primates in Fragments*. Kluwer Academic Press, New York, p. 99-121.
- Chiarello, A. G. & Melo, F. R. 2001. Primate population densities and sizes in Atlantic Forest remnants of northern Espírito Santo, Brazil. *International Journal of Primatology*. 22: 379-395.
- Couvet, D. 2002. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conserv Biol*. 16: 369-376.
- Clarke, M. R.; Glander, K. E. 2004. Adult migration patterns of the mantled howlers of La Pacifica. *Amer J of Primatol*. 62-87.
- Cody, M. L.; Overton, J. M. 1996. Short-term evolution of reduced dispersal ability in island plant populations. *Journal of Ecology* 84: 53–51.
- Collias, N.; Southwick, C. 1952. A field study of population density and social organization in howling monkeys. *Proc. Am. Philos. Soc.* 96: 143–156.
- Cooper, A. J.; Rhymer, H. F.; James, S. L.; Olson, C. E.; McIntosh, M. D.; Sorenson, R.; Fleischer, C. 1996. Ancient DNA and island endemics. *Nature* 381-484.
- Cornelius, P. L.; Dudley, J. W. 1974. Effect of inbreeding by selfing and full-sib mating in a maize population. *Crop Science* 14: 815–819.



Cornuet, J. M.; Luikart, G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.

Cortéz-Ortiz, L.; Mondragón, E.; Cabotage, J. 2010. Isolation and characterization of microsatellite loci for the study of Mexican howler monkeys, their natural hybrids, and other Neotropical primates. *Conservation Genetics Resources* 2: 21-26.

Crockett, C. M. 1998. Conservation biology of the genus *Alouatta*. *International Journal of Primatology* 19:549- 578.

Csillery, K.; Johnson, T.; Beraldi, D.; Clutton-Brock, T.; Coltman, D.; Hansson, B.; Spong, G.; Pemberton, J. M. 2006. Performance of marker-based relatedness estimators in natural populations of outbred vertebrates. *Genetics*. 173(4): 2091-2101.

Cullen Junior, L.; Rudran, R. 2003. Transectos lineares na estimativa de densidade de mamíferos e aves de médio e grande porte. In: Cullen Júnior, L.; Rudran, R.; Valladares-Padua, C. Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Curitiba: Ed. Universidade Federal Paraná/ FBPN. p. 169-179.

Cunha, R. G. T.; Jalles-Filho, E. 2007. The roaring of southern brown howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans*) as a mechanism of active defence of borders. *Folia Primatologica* 78: 259-271.

Dakin, E. E.; Avise, J. C. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. v. 93, p. 504–509, 2004.

Del Valle, Y. G.; Estrada, A.; Espinosa, E.; Lorenzo, C.; Naranjo, E. 2005. Genética de poblaciones de monos aulladores (*Alouatta pigra*) em hábitat continuo y fragmentado em La selva Lacandona, México: Um estudio preliminar. *Universidad y Ciencia*. 2: 55-60.

Di Fiore, A.; Link, A.; Campbell, C. J. 2011. The atelines: behavioral and ocioecological diversity in a New World monkey radiation. In: *Primates in Perspective*, C. J. Campbell, A. Fuentes, M. C. MacKinnon, S. K. Bearder and R. M. Stumpf (eds.), pp. 155–188. Oxford University Press, New York.

Di Rienzo, A.; Peterson, A. C.; Garza, J. C.; Valdes, A. M.; Slatkin, M.; Freimer, N. B. 1994. Mutational processes of simplesequence repeat loci in human populations. *Proc Natl Acad Sci*. 91: 3166-3170.

Dunn, J.; Shedden-González, A.; Cristóbal-Azkarate, J.; Cortés-Ortiz, L.; Rodríguez-Luna, E.; Knapp, L. 2014. Limited genetic diversity in the critically endangered Mexican howler monkey (*Alouatta palliata mexicana*) in the Selva Zoque, Mexico. *Primates*, 55, 155–160.

Earl, D. A.; vonHoldt, E. M. 2012. Structures Harvester: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*. 4(2): 359-361.

Ehiobu, N. G.; Goddard, M. E.; Taylor, J. F. 1989. Effect of rate of inbreeding on inbreeding depression in *Drosophila melanogaster*. *Theoretical and Applied Genetics* 77: 123–127.

Ellesworth, J. A.; Hoelzer, G. A. 1998. Characterization of microsatellite loci in a New World primate, the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). *Molecular Ecology* 7: 657–658.

Ellsworth, J. A. 2000. Molecular evolution, social structure and phylogeography of the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). Dissertation, University of Nevada.

Ellesworth, J. A.; Hoelzer, G. A. 2006. Genetic evidence on the historical biogeography of central American howler monkeys. In S. M. Lehman & J. G. Fleagle (Eds.), *Primate biogeography* (pp. 81–103). New York: Springer.

Malmgren, L. A.; Brush, A. H. 1978. Isozymes and plasma proteins in eight groups of golden mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*). In D. J. Chi-vers & K. A. Joyseys (Eds.), *Recent advances in primatology* (pp. 283–285). New York: Academic Press.

Falconer, D. S.; Mackay, T. F.C. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th edition. Longman, Harlow, United Kingdom.

Fahrig, L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review in Ecology and Systematics*. 34: 487-515.

Ferrari, S. F. 2002. Fragmentação de habitat e manejo de populações de mamíferos. In: Caderno de resumos do encontro internacional de integração técnico-científica para o desenvolvimento sustentável do cerrado e pantanal. Corumbá, Mato Grosso do Sul.

Ferrari, S. F.; Iwanaga, S.; Ravetta, A. L.; Freitas, F. C.; Sousa, B. A. R.; Souza, L. L.; Costa, C. G.; Coutinho, P. E. G. 2003. Dynamics of primate communities along

the Santarém-Cuiabá highway in south-central Brazilian Amazonia. In: Marsh, L. K. (ed) *Primates in Fragments*. Kluwer Academic Press, New York, pp 123-144.

Fernandes, A. J.; Reis, L. A. M.; Carvalho, A. 2002. Caracterização do meio físico. In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (Orgs.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo. cap 3, p. 49-60.

Fortes, V. B.; Bicca-Marques, J. C. 2008. Abnormal pelage color in na isolated population of *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940 in South Brazil. *Int. J. Primatol.* 29: 717-722.

Franco, R. R. A.; Oliveira, J. C. F. 2014. Isolamento de bactérias presentes no trato gastrointestinal de primatas do gênero *Alouatta* sp. e caracterização de secretoras de amilase e protease. 2014. Dissertação (graduação) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

Frankham, R. 1998. Inbreeding and Extinction: Island Populations. *Conservation Biology.* 12 (3): 665-675.

Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. *Cambridge University Press*, Cambridge, 642 pp.

Frankham, R. 2003. Genetics and conservation biology. *C R Biol* 326: 22-29.

Frankham, R.; Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. 2008. Fundamentos de genética da conservação. Sociedade Brasileira de Genética. 262p.

Geo Studio Technology. 2017. GPS TrackMaker. Disponível em <https://www.trackmaker.com/main/pt/>. Acessado em 05 de janeiro de 2019.

Gilbert, A. K. 2003. Primates and fragmentation of the Amazon forest. In: Marsh, L. K. (ed) *Primates in Fragments*. Kluwer Academic Press, New York, pp 145-157.

Glander, K. E. 1992. Dispersal patterns in Costa Rica mantled howling monkeys. *Int J Primatol* 13: 415-436.

Gonçalves, E. C.; Silva, A.; Barbosa, M. S. R.; Shneider, M. P. C. 2004. Isolation and characterization of microsatellite loci in Amazonian red-handed howlers *Alouatta belzebul* (Primates, Platyrrhini). *Molecular Ecology Notes* 4(3): 406-408.

Good, R. L.; Hallauer, A. R. 1977. Inbreeding depression in maize by selfing and full-sibbing. *Crop Science* 17: 935–940.

Goudet, J. 2001. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Disponível em: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. Acesso em: Jan, 2019.

Guida, F. J. V. 2017. Inventário de aves constata riqueza do PEFI. *Ciência no Zoo* (8): 38-39.

Gregorin, R. 2006. Taxonomia e variação geográfica das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède (Primates, Atelidae) no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23, 64-144.

Hirota, M. M. 2018. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica. Período 2016 a 2017. Relatório técnico, Fundação SOS Mata Atlântica. Instituto de Pesquisas Espaciais. 63p.

Hoffmann, A. A.; Parsons, P. A. 1991. Evolutionary genetics and environmental stress. *Oxford University Press*, Oxford, United Kingdom.

James, R. A.; Leberg, P. L.; Quattro, J. M.; Vrijenhoek, R. C. 1997. Genetic diversity in black howler monkeys (*Alouatta pigra*). *American Journal of Physical Anthropology* 102: 329–336.

James, R. 1992. *Genetic Variation in Belizian Howler Monkeys (Alouatta pigra)*, Tese de doutorado, Rutgers University, New Brunswick, NJ.

Jardim, M. M. A. 2005. Ecologia populacional de bugios-ruivos (*Alouatta guariba*) nos municípios de Porto Alegre e Viamão, RS, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

Jenkins, C. N.; Pimm, S. L.; Joppa, L. N. 2013. Global patterns of terrestrial vertebrate diversity and conservation. *PNAS Early edition*: 1-9.

Jimenez, J. A.; Hughes, K. A.; Alaks, G.; Graham, L.; Lacy, R. C. 1994. An experimental study of inbreeding depression in a natural habitat. *Science* 266: 271–273.

Jones, C. B. 1980. The function of status in the mantled howler monkey, *Alouatta palliata* Gray: intraspecific competition for group membership in a Neotropical folivorous primate. *Primates* 21: 389–405.

- Jones, C. B. 1999. Why both sexes leave: Effects of habitat fragmentation on dispersal behavior. *Endangered Species Update*, 16: 70–73.
- Jones, A. G.; Small, C. M.; Paczolt, K. A.; Ratterman, N. L. 2010. A practical guide to methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*, v. 10, n. 1, p. 6-30.
- Kalinowski, S. T.; Taper, M. L. 2006. Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetics* v. 7, p. 991-995.
- Keller, L. F.; Arcese, P.; Smith, J. M. N.; Hochachka, W. M.; Stearns, S. C. 1994. Selection against inbred Song Sparrows during a natural population bottleneck. *Nature* 372: 356–357.
- Keller, L. F.; Waller, D. M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol Evol* 17: 230-241.
- Kimura, M.; Ohta, T. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc Natl Acad Sci. USA* 75(6): 2868-2872.
- Kimura, M.; Crow, J. F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
- Klug, W.; Cummings, M. 2000. Concepts of Genetics, Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Kowalewski, M. M.; Garber, P. A. 2010. Mating promiscuity and reproductive tactics in female black and gold howler monkeys (*Alouatta caraya*) inhabiting an island in the Parana river, Argentina. *Am. J. Primatol.* 72: 734–748.
- Lacher, T. E. 2006. Tropical ecology, assessment and monitoring (TEAM) initiative. Primate monitoring protocol. <[www.teamnetwork.org/portal/server.pt/gateway/](http://www.teamnetwork.org/portal/server.pt/gateway/)> acessado em 10 abril de 2019.
- Latter, B. D. H.; Mulley, J. C.; Reid, D.; Pascoe, L. 1995. Reduced genetic load revealed by slow inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 139: 287–297.
- Lidicker Jr., W.Z., 1975. The role of dispersal in the demography of small mammals. p.103-128. In: Golley, F.B., Petruszewicz, K., Ryszkowski, L. (Eds.), Small Mammals: their Productivity and Population Dynamics. Cambridge University Press, London. 480p.
- Lisboa, C. S. 2017. Refúgio Urbano. *Ciência no Zoo* (8): 18-27.

Luikart, G.; Cornuet, J. M. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conserv Biol* 12: 228-237.

Lynch, M.; Ritland, K. 1999. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics*, v. 152(4). p. 1753-1766.

Lynch, M.; Walsh, J. 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Lord, J. M.; Norton, D. A. 1990. Scale and Spatial Concept of Fragmentation. *Conservação Biológica*, 4: 197-202.

Machado, S.; Bonatto, S. L. 2011. Filogeografia do bugio-ruivo, *Alouatta guariba* (Primates, Atelidae). Dissertação de mestrado, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências, Programa de pós-graduação em Zoologia. Porto Alegre, RS. Brasil.

Malagoli, L.; Bajesteiro, F. B.; Whately, M. 2008. Além do concreto: contribuições para a proteção da biodiversidade paulistana. São Paulo: *Instituto socioambiental*.

Malmgren, L. A.; Bush, A. H. 1978. Isozymes and plasma proteins in eight troops of golden mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*). In Chivers, D.; Joysey, K. (eds.), *Recent Advances in Primatology. Vol. III: Evolution*, Academic Press, New York, pp. 283–285.

Malmgren, L. A. 1979. Empirical Population Genetics of Golden Mantled Howling Monkeys (*Alouatta palliata*) in Relation to Population Structure, Social Dynamics and Evolution. Tese de doutorado, University of Connecticut, Storrs.

Mandujano, S.; Escobedo-Morales, L. A.; Palacios-Silva, R. 2004. Movements of *Alouatta palliata* among forest fragments in Los Tuxtlas, Mexico. *Neotropical Primates*, 12: 126–131.

Mandujano, S.; Escobedo-Morales, L. A. 2008. Population viability analysis of howler monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) in a highly fragmented landscape in Los Tuxtlas, México. *Tropical Conservation Science*, 1: 43-62.

Marsh, L. K.; Chapman, C. A.; Norconk, M. A.; Ferrari, S. F.; Gilbert, K. A.; Biccamarques, J. C.; Wallis, J. 2003. Fragmentation: The Specter of the Future or the Spirit of Conservation? In: Marsh, L. K. *Primates in Fragments: Ecology and Conservation*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publ. p. 381-400.

Mendes, S.L.; Rylands, A.B.; Kierulff, M.C.M. & Oliveira, M.M. 2008. *Alouatta guariba* ssp.*clamitans*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T39918A10285929.

<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T39918A10285929>.en Acesso em: 23/03/2019.

Metzger, J. P.1999. Estrutura da paisagem e fragmentação: Análise bibliográfica. *An. Academia Brasileira de Ciências*, 71 (3-I): 445-463.

Milton, K.; Lozier, J. D.; Lacey, E. A. 2009. Genetic structure of an isolated population of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetics*, 10(2): 347-358.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2018. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Vol. 2. Disponível em:

[http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro\\_vermelho\\_2018\\_vol2.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol2.pdf). Acesso em: 23/03/2019.

Miño, C. I. 2010. Genética de Populações e Relações de Parentesco em Ciconiiformes (Aves). Tese (Doutorado). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.

Miranda, J. M. D.; Passos, F. C. 2005. Composição e dinâmica de grupos de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera (Primates, Atelidae) em Floresta Ombrófila Mista no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 22(1): 99-106.

Miranda, J. M. D.; Bernardi, I. P.; Moro-Rios, R.; Aguiar, L. M.; Ludwig, G.; Passos, F. C. 2004. Social Structure of *Alouatta guariba clamitans*: a group with a dominant female. *Neotropical Primates* 12:135-138.

Miranda, J. M. D.; Passos, F. C. 2005. Composição e dinâmica de grupos de *Alouatta guariba clamitans* Cabrera (Primates, Atelidae) em Floresta Ombrófila Mista do Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22:99-106.

Miranda, J. M. D.; Bernardi, I. P.; Moro-Rios, R. F.; Passos, F. C. 2006. Three years on demography of a group of *Alouatta guariba clamitans* Cabrera (Primates, Atelidae): growth and fragmentation. *Revista Brasileira de Zoologia* 23:703-706.

Mittermeier, R. A.; Coimbra-Filho, A. F.; Constable, I. D.; Rylands, A. B.; Valle, C. 1982. Conservation of primates in the Atlantic Forest region of eastern Brazil. *Int. Zoo Yearbook*. V22: 2-17.

Mittermeier, R. A.; Rylands, A. B.; Padua, C.; Butynski, T. M. 2006. Primates in Peril: The World's 25 Most Endangered Primates 2004-2006. Washington DC, Report to

IUCN/SSC Primate Specialist Group (PSG), *International Primatological Society* (IPS) and Conservation International (CI). 47p.

Mittermeier, R. A.; Gil, P. R.; Hovmann, M.; Pilgrim, J.; Brooks, T.; Mittermeier, C. G. Lamoreux, J.; Da Fonseca, G. A. B.; Seligmann, P. A.; Ford, H. 2004. Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Conservation International. 392 p.

Monticelli, C.; Morais, L. H. 2015. Impactos antrópicos sobre uma população de *Alouatta g. clamitans* (Cabrera 1940) em um fragmento de Mata Atlântica no Estado de São Paulo: apontamentos de medidas mitigatórias. *Revista Biociências*. 21(1): 14-26.

Monticelli, C. 2016. Preguiças do PEFI são monitoradas. *Ciência no Zoo* (6): 39-40.

Monticelli, C.; Antunes, T. C. 2018. Novo registro de *Blarinomys breviceps* (Winge, 1888) (Rodentia: Sigmodontinae) na Mata Atlântica do sudeste de São Paulo. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*. 81: 10-13.

Moraes, A.A. 2017. Ecologia alimentar e estudo do comportamento de termorregulação de preguiça comum, *Bradypus variegatus* Schinz, 1825, no Parque Estadual Fontes do Ipiranga (São Paulo). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo.

Mourthe, I.; Trindade, A. A.; Aguiar, L. M.; Trigo, T. C.; Bicca-Marques, J. C.; Bonatto, S. L. 2018. Hybridization between neotropical primates with contrasting sexual dichromatism. *Int. J. Primatol.* In press.

Myers, N. 1979. The sinking ark: a new look at the problem of disappearing species. *Pergamon Press*, New York. 307p.

Neville, M. K.; Glander, K. E.; Braza, F.; Rylands, A. B. 1988. The owling monkeys, genus *Alouatta*, p. 349-453. In: R. A. Mittermeier; A. B. Rylands; A. Coimbra-Filho; G. A. B. Fonseca (Eds). *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*. Washington, *World Wildlife Fund*, vol. 2, 610p.

O'Brien, S. 1994. A role for molecular genetics in biological conservation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 5748–5755.

Oklander, L. I.; Zunino, G. E.; Di Fiore, A.; Corach, D. 2007. Isolation, characterization and evaluation of 11 autosomal STRs suitable for population studies in black and gold howler monkeys *Alouatta caraya*. *Molecular Ecology Notes*. 7: 117-120.



Oklander, L. I.; Kowalewski, M. M.; Corach, D. 2010. Genetic consequences of habitat fragmentation in black-and-gold howler (*Alouatta caraya*) populations from northern Argentina. *Inter J of Primatol* 31: 813-832.

Oliveira, E. H. C.; Neusser, M.; Figueiredo, W. B. 2002. The phylogeny of howler monkeys (*Alouatta*, Platyrrhini): Reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting. *Chromosome Research*, 10, 669-683.

Oosterhout, C. V.; Hutchinson, W. F.; Wills, D. P. M.; Shipley, P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, v. 4(3). p. 535-538.

Ostro, L. E. T.; Silver, S. C.; Koontz, F. W.; Horwich, R. H.; Brockett, R. C. 2001. Shifts in a social structure of black howler (*Alouatta pigra*) groups associated with natural and experimental variation in population density. *International Journal of Primatology*, Chicago, 22(5): 733-748.

Pavelka, M. S. M.; McGoogan, K. C.; Steffens, T. S. 2007. Population size and characteristics of *Alouatta pigra* before and after a major hurricane. *Int J Primatol* 28: 919–929

Peakall, R.; Smouse P. E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, v. 6, p. 288-295.

Peccinini, A. A.; Pivello, V. R. 2002. Histórico do uso das terras e condição da vegetação no PEFI. In: Bicudo, D. C.; Forti, M. C.; Bicudo, C. E. M. (Org.). Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI): unidade de conservação que resiste à urbanização de São Paulo. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo.

Peres, C. S. 2010. A previsão constitucional do bioma mata atlântica. *Revista Brasileira de direitos constitucional*. v. 16, p. 109-119.

Perrela, D. F.; Guida, F. J. V. 2013. Aspectos da história natural de *Ramphastos dicolorus* (Piciformes – Ramphastidae) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Monografia encaminhada para a Fundação Parque Zoológico de São Paulo como requisito para o término do terceiro ano do Programa de Aprimoramento Profissional.

Perrela, D. F.; Ferrari, D. S.; Katayama, M. V.; Paiva, R. V.; Guida, F. V. 2018. A Avifauna do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, um remanescente de Mata Atlântica imerso na área urbana de São Paulo, SP. *Ornithologia*, 10(1): 4-16.

- Piry, S.; Luikart, G.; Cornuet, J. M. 1999. Bottleneck: A computer program for detecting reductions in the effective size using allele frequency. *J Hered* 90: 502-503.
- Pope, T. R. 1996. Socioecology, population fragmentation, and patterns of genetic loss in endangered primates. In: Avise JC, Hamrick JL (eds) Conservation genetics: case histories from nature. Chapman and Hall, New York.
- Pope, T. R. 1992. The influence of dispersal patterns and mating system on genetic differentiation within and between populations of the red howler monkey (*Alouatta seniculus*). *Evolution* 46: 1112–1128.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, v. 155, p. 945–959.
- Quammen, D. 1996. Song of the dodo: island biogeography in an age of extinction. Hutchinson, London.
- Queller, D. C.; Goodnight, K. F. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, v. 43 (2), p. 258-275.
- Ravosa, M. J.; Ross, C. F. 1994. Craniodental allometry and heterochrony in two howler monkeys: *Alouatta seniculus* and *A. palliata*. *American Journal of Primatology*. 33(4): 277-299.
- Raymond, M.; Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3): 248-249.
- Reed, D. H.; Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv Biol* 17 :230-237.
- Ribeiro, M. C. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*. v. 142 (6), p. 1141-1153.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, v. 43, p. 223-225.
- Rodriguez-Toledo, E. M.; Mandujano, S.; Garcia-Orduña, F. 2003. Relationships between forest fragments and howler monkeys (*Alouatta palliata mexicana*) in southern Vera Cruz, Mexico. In: Marsh, L. K. (ed) *Primates in Fragments*. Kluwer Academic Press, New York, pp 79-97.

Rossi, H. R. S. Comunidade de morcegos e análise de grãos de pólen em pelagem de Phyllostomidae (Chiroptera, Phyllostomidae) no Parque Estadual Fontes do Ipiranga - PEFI, São Paulo, Brasil. 2017. 95 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.

Rudran, R.; Fernandez-Duque, E. 2003. Demographic changes over thirty years in a red howler population in Venezuela. *Inter J of Primatol*, Chicago, 24 (5): 925-947.

Ruiz-García, M. 2005. The use of several microsatellite loci applied to 13 Neotropical primates revealed a strong recent bottleneck event in the woolly monkey (*Lagothrix lagotricha*) in Colombia. *Primate Report* 71: 27–55.

Ruiz-Garcia, M.; Escobar-Armel, P.; Alvarez, D.; Mudry, M.; Ascunce, M.; Gutierrez-Espelata, G.; Shostell, J. M. 2007. Genetic variability in four *Alouatta* species measured by means of nine DNA microsatellite markers: Genetic structure and recent bottlenecks. *Folia Primatol.* 78: 73-87.

Santos, A. C. L. 2008. Composição florística e estrutura da comunidade de epífitas vasculares associadas a trilhas no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. 2008. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo.

SÃO PAULO (Estado). 2008. Secretaria do Meio Ambiente. Parque Estadual Fontes do Ipiranga. Plano de Manejo: Resumo Executivo. São Paulo. 35 p.

São Paulo, 2018. Decreto nº 63.853 de 27 de novembro de 2018. Lista vermelha de fauna ameaçada do estado de São Paulo.

Sazima, I.; Di-Bernardo, M. 1991. Albinismo em serpentes neotropicais. *Memórias do Instituto Butantan*, 53(2), 167-173.

Schneider, H.; Sampaio, M.; Schneider, M.; Ayres, J.; Barroso, C.; Hamel, A.; Silva, B.; Salzano, F. 1991. Coat color and biochemical variation in Amazonian wild populations of *Alouatta belzebul*. *Am. J. Phys. Anthropol.* 85: 85–93.

Shaffer, M. L. 1981. Minimum population sizes for species conservation. *Bioscience*, v. 31, p. 131-134.

Silva, Jr., E. C. 1981. A preliminary survey of brown howler monkeys (*Alouatta fusca*) at the Cantareira Reserve (São Paulo, Brazil). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, 41(4): 897-909.

Soulé, M. E. 1983. What do we really know about extinction? Pages 111–125 in C. M. Schonewald-Cox; S. M. Chambers; B. MacBryde; L. Thomas, editors. Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations. Benjamin/Cummings, Menlo Park, California.

Spiess, E. B. 1989. Genes in Populations, Wiley, New York. 774p.

Steinmetz, S. 2005. Vocalização de longo alcance como comunicação intra-grupal nos bugios (*Alouatta guariba*). *Neotropical Primates* 13:11-15.

Storz J. 1999. Genetic consequences of mammalian social structure. *J Mammal* 80: 553–569.

Strier, K. B.; Mendes, S. L.; Santos, R. R. 2001. Timing of births in sympatric brown howler monkeys (*Alouatta fusca clamitans*) and northern muriquis (*Brachyteles arachnoides hypoxanthus*). *American Journal of Primatology* 55:87-100.

Strier, K. B. 2008. The effects of kin on primate life histories. *Annu Rev Anthropol* 37:21–36.

Sugg, D. W.; Chesser, R. K.; Dobson, F. S.; Hoogland, J. L. 1996. Population genetics meets behavioral ecology. *Trends Ecol Evol* 11: 338–342.

Sussman, R. W. 2000. Primate Ecology and Social Structure, Pearson Custom, Needham Heights, MA.

Tantawy, A. O.; Reeve, E. C. R. 1956. Studies in quantitative inheritance. The effects of inbreeding at different rates in *Drosophila melanogaster*. *Zeitschrift fur Indukt Abstamm - und Vererblehre* 87: 648–667 *apud* Frankhan, R. 1998. Inbreeding and Extinction: Island Populations. *Conservation Biology*. 12 (3): 665-675.

Temple, S. 1985. Why endemic island birds are so vulnerable to extinction. In S. Temple, editor. Bird conservation 2. University of Wisconsin Press, Madison.

Terborgh, J. 1986. Keystone plant resources in the tropical forest. In: Soulé, M. E. (ed.). Conservation biology: the science of scarcity and diversity. Sunderland: Sinauer Associates. p. 330-344.

Thompson, E. A. 1975. The estimation of pairwise relationships. *Annals of Human Genetics*, v. 39, p. 173-188. 1985.

- Van Belle, S.; Estrada, A. 2007. Demographic features of *Alouatta pigra* populations in extensive and fragmented forests. In A., Estrada, P. A., Garber, M., Pavelka, L., Luecke (Eds.), *New Perspectives in the Study of Mesoamerican Primates: Distribution, Ecology, Behavior, and Conservation* (pp. 121– 142). New York: Springer.
- Van Belle, S.; Estrada, A.; Strier, K. B.; Di Fiori, A. 2012. Genetic structure and kinship patterns in a population of black howler monkeys, *Alouatta pigra*, at Palenque National park, Mexico. *American Journal of Primatology*. 00: 1-10.
- Van den Berg, L. J. L.; Bullock, J. M.; Clarke, R. T.; Langston, R. H. W.; Rose, R. J. 2001. Territory selection by the Dartford warbler (*Sylvia undata*) in Dorset, England: the role of vegetation type, habitat fragmentation and population size. *Biol. Conserv.* 101:217–28.
- Van Vuren, D. 1998. Mammalian dispersal and reserve design. In T., Caro (Ed.), *Behavioral ecology and conservation biology* (pp. 369–393). Oxford: Oxford University Press.
- Villagra, B. L. P.; Romaniuc-Neto, S. 2010. Florística de trepadeiras no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*. 8(2):186-200.
- Vitousek, P. M. 1988. Diversity and biological invasions of oceanic islands. Pages 181–189. In: E. O. Wilson and F. M. Peters, editors. *Biodiversity*. National Academy Press, Washington, D.C.
- Von Ihering, H. 1914. Os bugios do gênero *Alouatta*. *Revista do Museu Paulista, São Paulo*, 9: 231-280.
- Weber, J. L.; Kwitek, A. E.; May, P. E. 1990. Dinucleotide repeat polymorphisms at the D5S107, D5S108, D5S111, D5S117 and D5S118 loci. *Nucleic Acids Research*, 18 (13), 4035.
- Weiner, J. 1994. *The beak of the finch*. Vintage Books, New York.
- Winkler, L. A.; Zhang, X.; Ferrel, R.; Wagner, R.; Dahl, J.; Peter, G.; Sohn, R. 2004. Geographic microsatellite variability in central American howling monkeys. *Int. J. Primatol.* 25(1): 197-210.

Wool, D.; Bergerson, O. 1986. Random environmental variation and inbreeding: effect on pure-strain and hybrid populations of flour beetles (*Tribolium*). *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 28: 889–898.

Wright, S. 1965. The Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, v.19 (3). p. 395-420.

Zaldívar, M. E.; Glander, K. E.; Rocha, O.; Aguilar, G.; Vargas, E.; Gutiérrez-Espeleta, G. A. 2003. Genetic variation of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica. *Biotropica*, 35, 375–381.

Zucker, E. L.; Clarke, M. R. 1998. Agonistic and affiliative relationships of adult female howlers (*Alouatta palliata*) in Costa Rica over a 4-year period. *Intern J Primatol* 19: 433–449.