

ANÁLISIS DE VARIABILIDAD PROTEICA EN *Alouatta caraya* Y *Cebus apella* (PRIMATES: PLATYRRHINI)

Valeria B. Szapkievich¹, Cecilia I. Comas²,
Gabriel E. Zunino³ y Marta D. Mudry¹

¹ GIBE (Grupo de Investigaciones en Biología Evolutiva), Pabellón II, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428, Buenos Aires, Argentina; ² Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina; ³ Sección Mastozoología, Museo Argentino de Ciencias Naturales de Buenos Aires. Argentina.

RESUMEN: Se estudió la variabilidad genética de individuos adultos de ambos sexos pertenecientes a dos especies de Platyrrhini. Se analizaron 16 muestras de sangre de *Alouatta caraya* (ACA) y 12 de *Cebus apella paraguayanus* (CAP). Se estudiaron 10 sistemas proteicos mediante electroforesis horizontal en geles de poliacrilamida. De 14 loci analizados en *A. caraya* sólo AMP y TF fueron polimórficos ($P=0.1429$; $\overline{H}=0.0359$); de los 13 loci estudiados en *C. a. paraguayanus*, sólo ESD fue polimórfico ($P=0.0769$; $\overline{H}=0.0062$). La distancia genética entre ACA y CAP fue $D=0.5962$. Los valores de H y D son discutidos respecto de otros previamente publicados para Primates Neotropicales.

SUMMARY: Protein variability analysis for *Alouatta caraya* and *Cebus apella* (Primates: Platyrrhini). The genetic variability of adult individuals of both sexes belonging to two species of Platyrrhini was studied. Sixteen blood samples of *Alouatta caraya* (ACA) and 12 of *Cebus apella paraguayanus* (CAP) were analyzed. Ten protein systems were examined by horizontal polyacrilamide gel electrophoresis. Out of 14 loci scored in ACA, only AMP and TF were polymorphic ($P=0.1429$; $\overline{H}=0.0359$), whereas only ESD was polymorphic in 13 loci studied in CAP ($P=0.0769$; $\overline{H}=0.0062$). The genetic distance between ACA y CAP was $D=0.5962$. Values of H and D are discussed with respect to previous published data on Neotropical Primates.

Palabras clave: variabilidad genética, electroforesis de proteínas, *Alouatta caraya*, *Cebus apella*, Platyrrhini.

Key words: genetic variability, protein electrophoresis, *Alouatta caraya*, *Cebus apella*, Platyrrhini.

INTRODUCCIÓN

En el norte de la Argentina habitan tres géneros de Platyrrinos: *Cebus*, *Alouatta* y *Aotus*, alcanzando sus poblaciones el límite austral de la distribución (Cabrera, 1939).

Cebus apella, el mono Caí, se distribuye en la Selva Paranaense de Misiones, las Yungas en Salta y Jujuy y el NE de Formosa con dos subespecies separadas por el Río Paraná y cla-

ramente identificadas por sus diferencias morfológicas y cariotípicas (Mudry et al., 1991): *C. a. nigrinus* en Misiones y *C. a. paraguayanus* en Jujuy, Salta y Paraguay (Zunino, 1986; Brown y Zunino, 1994).

Alouatta caraya, el mono aullador negro, se encuentra en las selvas de inundación y bosques subtropicales húmedos del noreste argentino distribuyéndose en ambas márgenes e islas del Río Paraná. En los distintos ambientes

la densidad de tropas y el número de individuos por tropa difieren, pudiendo ser el alimento el factor condicionante (Eisenberg et al., 1972; Rumiz et al., 1986; Zunino, 1989; Brown y Zunino, 1994). Los aulladores de diferentes procedencias no presentan variación a nivel fenotípico ni cariotípico, siendo indistinguibles los individuos de tierra firme de los de islas. No se han hallado polimorfismos cromosómicos asociados a un determinado origen geográfico (Mudry et al., 1994).

Teniendo en cuenta que la electroforesis de proteínas ha contribuido al esclarecimiento de relaciones filogenéticas dentro y entre diferentes taxa y dada la existencia de polimorfismos bioquímicos asociados a un determinado tipo de hábitat en otros primates, iniciamos la investigación de la diversidad genética de *Alouatta caraya* comparándola con la de *Cebus apella* del litoral argentino y paraguayo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 12 ejemplares de *C. a. paraguayanus* (CAP) (10 machos y 2 hembras): 7 individuos alojados en el Centro Argentino de Primates (CAPRIM), San Cayetano, Corrientes, Argentina, provenientes de Paraguay y 5 residentes en el Zoológico de la Ciudad de Buenos Aires; y de 16 ejemplares de *A. caraya* (ACA) (9 machos y 7 hembras): 11 procedentes de las islas del área de influencia de la represa de Yaciretá, 1 de Ayolas, Paraguay, 3 de San Cayetano, Corrientes y 1 de procedencia desconocida alojado en el Zoológico de la Ciudad de Buenos Aires (Fig. 1). Los animales fueron anestesiados con Ketamina en dosis de 10 mg/kg de peso. Se extrajeron por venipuntura de la vena femoral 3 ml de sangre de cada individuo. De cada muestra heparinizada centrifugada a 1500 r.p.m. se extrajo el plasma y se guardó a -20°C. El pellet celular se lavó con solución salina (9%), se descartó la fracción de glóbulos blancos y la de eritrocitos se guardó en una solución de glicerina 50% v/v a -20°C.

Mediante electroforesis horizontal en geles de poliacrilamida al 5% se analizaron 8 sistemas enzimáticos. Las enzimas se numeraron de acuerdo a la Comisión de Nomenclatura Biológica ("Enzyme Nomenclature" Elsevier, Amsterdam, 1973): lactato deshidrogenasa (LDH-E.C.1.1.1.27) y α y β esterases (ES-E.C.3.1.1.1): tris maleico pH 7,4 para los electrodos (sistema 18, Shaw y Prasad, 1970) y dilución 1:9 para el gel; malato deshidrogenasa

(MDH-E.C.1.1.1.37): tris cítrico pH 7,0 para los electrodos (sistema 1, Shaw y Prasad, 1970) y dilución 1:14 para el gel; isocitrato deshidrogenasa (IDH-E.C.1.1.1.42), superóxido dismutasa (SOD-E.C.1.15.1.1) y lactato deshidrogenasa (LDH-E.C.1.1.1.27): fosfato cítrico pH 5,9 para los electrodos (Harris y Hopkinson, 1976) y dilución 1:39 para el gel; fosfogluconato deshidrogenasa (PGD-E.C.1.1.1.44) y esterasa D (ESD-E.C.3.1.1.1): fosfato citrato pH 6,9 para los electrodos (Schneider, 1988) y dilución 1:4 para el gel; leucil amino peptidasa (AMP-E.C.3.4.11): borato de litio pH 7,4 para los electrodos (Scandalios, 1969, modificado) y solución 1:9 de tampones A y B, respectivamente, para el gel; y dos proteínas séricas: albúmina (ALB) y transferrina (TF): borato de litio pH 8,3 para los electrodos (Bowman y Bearn, 1965) y solución 1:9 de tampones A y B, respectivamente, para el gel. Las tinciones para cada sistema enzimático se realizaron según Harris y Hopkinson



Fig. 1. Ubicación de las áreas de muestreo de ACA y CAP. 1) CAPRIM, San Cayetano, Corrientes, Argentina. 2) Islas del área de influencia de la represa de Yaciretá y barrancas argentina y paraguaya del Río Paraná.

Location of sampling areas of ACA and CAP. 1) CAPRIM, San Cayetano, Corrientes, Argentina. 2) Islands around Yaciretá dam, and Argentinean and Paraguayan sides of Paraná river ravines.

(1976), a excepción de AMP, para el cual se siguió la metodología propuesta por Schaal y Anderson (1974). Las proteínas séricas se tiñeron según Schneider (1988). Estos diez sistemas corresponderían a 14 loci génicos. Los niveles de variación genética fueron estimados en ACA y CAP agrupando en cada una de las especies a todos los individuos de las diferentes procedencias. Los valores obtenidos se compararon con una muestra humana (HSA). Un locus se consideró polimórfico cuando el alelo más raro excedió el 1%. El porcentaje de loci polimórficos (P) fue calculado dividiendo su número por el número total de loci analizados. El número medio de alelos por locus (A) se estimó mediante contabilización de todos los alelos analizados y división por el número de loci totales para cada especie. La diversidad genética se calculó para cada locus polimórfico para cada especie (ACA

o CAP) como $H = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2$, donde p_i es la

frecuencia de los i alelos y m el número de alelos (Nei, 1973). Los valores medios de \bar{H} en cada especie se calcularon considerando todos los loci. La heterocigosis observada fue comparada con los niveles de heterocigosis esperada de acuerdo a Hardy-Weinberg. La distancia genética (D) de Nei (1972) fue calculada mediante el programa GENIND, el cual considera los tamaños muestrales de cada población, utilizando el valor de ligamiento promedio (Vilardi, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis electroforéticos realizados en ACA y CAP para los sistemas estudiados se muestran en los perfiles proteicos de la **Figura 2**. Las bandas fueron numeradas según la velocidad de migración anódica (VMA), desde el ánodo hacia el cátodo, siendo la número 1, la de mayor VMA. Los loci MDH1, LDHA, LDHB, PGD, IDH, SOD1, ES1, ES2, ES3, ES4 y ALB fueron monomórficos en ACA y CAP. En MDH1, LDHB y ALB se observó un alelo de idéntica VMA en ACA, CAP y HSA. Para los sistemas LDHA, PGD e IDH, si bien en ACA y CAP se observaron patrones de bandas idénticos, éstos difirieron respecto de la movilidad electroforética de HSA, mientras que para SOD1, α y β esterasas (ES1, ES2, ES3, ES4) las tres especies mostraron electro-morfos diferentes.

Los patrones electroforéticos de LDH obte-

nidos para ACA y CAP fueron coincidentes con lo descrito para Platirrininos en general: LDHB es similar en humanos y primates, tanto del Viejo como del Nuevo Mundo, en tanto que LDHA de humanos, es diferente a todos los primates estudiados (Schmitt et al., 1990; Schneider et al., 1994).

Sólo ESD fue polimórfico en CAP ($P=0.077$), de un total de 13 loci estudiados, en tanto que de los 14 loci analizados en ACA, sólo AMP y TF fueron polimórficos ($P=0.143$). La **Tabla 1** muestra las frecuencias génicas halladas en los sistemas analizados. En todos los casos, las frecuencias genotípicas observadas se ajustaron a las esperadas de acuerdo a Hardy-Weinberg. AMP y TF mostraron diferencias entre ACA y CAP: las dos variantes alélicas halladas para cada sistema en ACA fueron de distinta VMA a la observada en CAP. Por otra parte, los alelos considerados más frecuentes en HSA para estos sistemas fueron diferentes de los de ACA y CAP. TF ha sido investigada en diferentes géneros de Platirrininos, presentando todos ellos patrones monomórficos (Schneider et al., 1988; Schmitt et al., 1990). Nuestros resultados muestran que en ACA un 50% de los individuos son heterocigotas TF.

Es interesante señalar la existencia de diferentes patrones de movilidad electroforética en proteínas correspondientes a los sistemas ESD, AMP, TF, SOD1 y ES entre las especies estudiadas. Estos, por lo tanto, podrían considerarse "loci marcadores" ya que permiten distinguir Alouatinos de Cebinos y por lo tanto son de gran utilidad en sistemática.

La distancia genética (D) de Nei entre ACA y CAP fue de $D=0.5962$. Otros valores entre *Cebus apella* y otros Alouatinos fueron: *A. belzebul* x *Cebus apella*, $D=0.608$, para 13 loci (Schneider, 1988); *A. seniculus* x *C. apella* $D=0.57$ y *A. belzebul* x *C. apella* $D=0.64$, en estos dos últimos para 14 loci estudiados (Lima et al., 1990). Valores de D intergenéricos para Ceboidea que podemos comparar serían los observados por Schmitt et al. (1990) para 24 loci: *Aotus trivirgatus* x *Saimiri sciureus* $D=0.781$ y *Saimiri sciureus* x *C. apella* $D=0.419$. Todos estos valores de distancias genéticas, incluidos nuestros resultados, se hallan comprendidos en el rango 0.42 - 0.78 propuesto

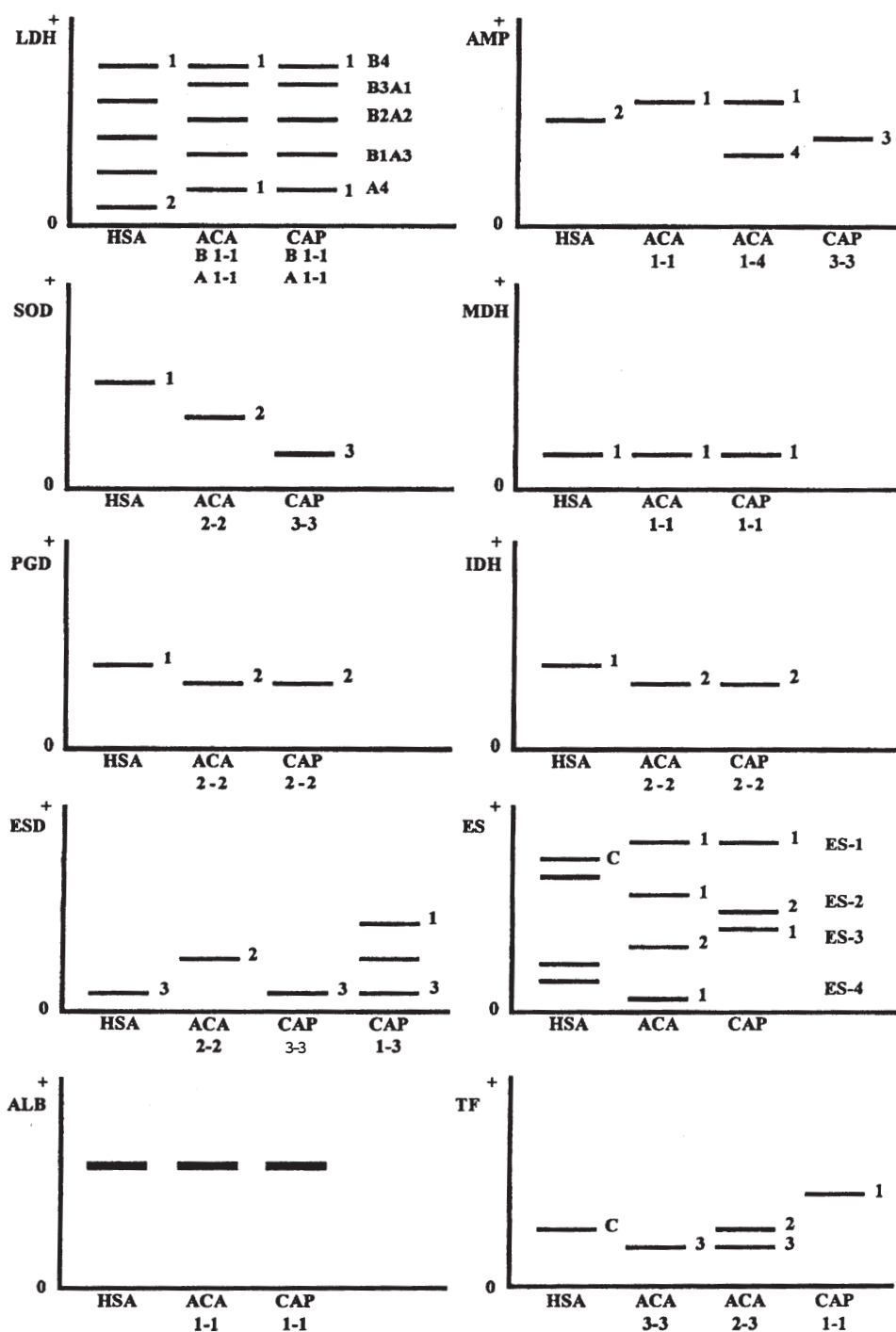


Fig. 2. Perfiles electroforéticos de los 10 sistemas analizados en ACA y CAP. Cada sistema se identifica con la sigla correspondiente en el ángulo superior izquierdo. HSA: humanos; ACA: *Alouatta caraya*; CAP: *Cebus apella paraguayanus*; 0: origen; (+): ánodo.

Electrophoretic profiles of 10 systems analyzed for ACA and CAP. Each system is noted by the corresponding initials in the upper left angle. HSA: human; ACA: Alouatta caraya; CAP: Cebus apella paraguayanus; 0: origin; (+): anode.

Tabla 1. Frecuencias alélicas de los sistemas estudiados en humanos (HSA) (N=1), *Alouatta caraya* (ACA) (N=16) y *Cebus apella paraguayanus* (CAP) (N= 12).; *: N= 10; **: N= 14; N.H.= patrones electroforéticos de α y β esterasas (ES) de ACA y CAP no homologables con HSA.

*Alelic frequencies of the studied systems in humans (HSA) (N=1), Alouatta caraya (ACA) (N=16) and Cebus apella paraguayanus (CAP) (N= 12).; *: N= 10; **: N= 14; N.H.= electrophoretic patterns of α and β esterases (ES) of ACA and CAP without homologies with HSA.*

Loci	ESPECIE		
	HSA	ACA	CAP
MDH1			
MDH1 ¹	1.00	1.00	1.00
LDHA			
LDHA ¹	—	1.00	1.00
LDHA ²	1.00	—	—
LDHB			
LDHB ¹	1.00	1.00	1.00
PGD			
PGD ¹	1.00	—	—
PGD ²	—	1.00	1.00
IDH			
IDH ¹	1.00	—	—
IDH ²	—	1.00	1.00
SOD1			
SOD1 ¹	1.00	—	—
SOD1 ²	—	1.00	—
SOD1 ³	—	—	1.00
ESTERASAS			
ES1			
ES1 ¹	N.H.	1.00	1.00
ES2			
ES2 ¹	N.H.	1.00	—
ES2 ²	N.H.	—	1.00
ES3			
ES3 ¹	N.H.	—	1.00*
ES3 ²	N.H.	1.00	—
ES4			
ES4 ¹	N.H.	1.00**	N.H.
ESD			
ESD ¹	—	—	0.04
ESD ²	—	1.00	—
ESD ³	1.00	—	0.96
AMP			
AMP ¹	—	0.94	—
AMP ²	1.00	—	—
AMP ³	—	—	1.00
AMP ⁴	—	0.06	—
ALB			
ALB ¹	1.00	1.00	1.00
TF			
TF ¹	—	—	1.00
TF ²	—	0.25	—
TF ³	—	0.75	—
TF ^C	1.00	—	—

para ciertas especies de Primates del Nuevo Mundo. Una excepción se observa para el par *Chiropotes* x *Cacajao* cuyos valores de D son tan bajos (0.18 a 0.20) que permitiría proponerlos como grupos hermanos y no como géneros diferentes (Schneider et al., 1995).

Los valores de heterocigosis promedio (\bar{H}) y el número medio de alelos por locus (A) para ACA y CAP se resumen en la **Tabla 2**. Cuando se comparan los índices de variabilidad observados en la literatura para distintas poblaciones de CAP de Paraguay se encuentra una coincidencia en cuanto a los bajos valores hallados, aun cuando los sistemas proteicos estudiados no son los mismos (\bar{H} = 0.0116 con 17 loci, Schneider et al., 1988; \bar{H} = 0.0118 con 24 loci, Sampaio et al., 1991; \bar{H} = 0.0062 con 13 loci, en este trabajo).

La baja variabilidad genética observada en CAP para los loci analizados podría deberse al efecto del tamaño muestral y a la disminución del tamaño poblacional como consecuencia de la fragmentación del hábitat de esta especie por la deforestación (Brown y Zunino, 1994). Los estudios citogenéticos han revelado la presencia de polimorfismos en los bloques heterocromáticos (Mudry, 1990; Ponsá et al., 1995). Sampaio et al. (1991) postularon que dada la existencia de polimorfismos cromosómicos, la baja variabilidad bioquímica hallada no se debería a un problema de tamaño poblacional reducido. Una explicación alternativa a los contrastantes patrones de variabilidad genética y cromosómica observados en CAP es que se estuvieran comparando dos tipos de variabilidad con tasas de evolución probablemente distintas debido a presiones selectivas diferentes. También podría ocurrir que estos polimorfismos cromosómicos estuviesen asociados a la baja efectividad de la selección natural en poblaciones pequeñas, lo cual es consistente con los bajos niveles de variabilidad bioquímica encontrados.

Nuestros resultados en aulladores indican que el valor de heterocigosis obtenido en ACA (\bar{H} = 0.0359) y los publicados para *A. seniculus* (\bar{H} = 0.03, Pope, 1983) y *A. belzebul* (\bar{H} = 0.069, Schneider et al., 1991) estarían en el mismo orden de magnitud para las tres especies del género. Los monos

Tabla 2. Proporción de loci polimórficos (P) heterocigosis promedio ($\bar{H} \pm ES$) y número medio de alelos por locus (A) en *Alouatta caraya* y *Cebus apella paraguayanus*; N: número de individuos, L: número de loci.

*Proportion of polymorphic loci (P) average heterocigosity ($\bar{H} \pm ES$) and mean number of alleles by locus (A) in *Alouatta caraya* and *Cebus apella paraguayanus*; N: number of individuals, L: number of loci.*

Especie	N	L	$\bar{H} \pm es$	P	A
<i>A. caraya</i>	16	14	0.0359 \pm 0.0283	0.1429	1.142
<i>C.a. paraguayanus</i>	12	13	0.0062 \pm 0.0062	0.0769	1.076

aulladores presentan, a excepción de *A. palliata* ($\bar{H}=0,01$; Malgrem, 1977 en Schneider et al., 1988), valores de diversidad genética que se encuentran en el rango de los observados para poblaciones naturales de primates neotropicales (como *Aotus*, Schneider, 1988; *Callithrix*, Meireles et al., 1992; *Saimiri*, Silva et al., 1993; *Chiropotes*, Schneider et al., 1995).

Por otro lado, el buen conocimiento de la biología de ACA permite sostener que los monos aulladores, comparados con otros Cébidos y Atélidos, poseen el mayor índice de fecundidad y sus hembras presentan el doble de preñeces que otros géneros (Schneider et al., 1991). Adicionalmente, la amplitud en la dieta les permitiría adaptarse fácilmente a cambios ambientales y ser muy buenos colonizadores. Estas observaciones en su conjunto, sugieren que los aulladores no sufrirían reducciones de sus tamaños poblacionales, con el consecuente mantenimiento de su nivel de variabilidad genética si lo comparamos con los obtenidos en *Cebus apella* (Tabla 2), a pesar de la fragmentación del hábitat natural (Brown y Zunino, 1994).

De los datos publicados hasta el presente en Platirrinos, podemos decir que mientras *A. caraya* presenta valores de variabilidad del orden de los observados en la mayoría de los Primates Neotropicales, *C. a. paraguayanus* junto con *Alouatta palliata* y *Leontopithecus rosalia* serían las especies de Primates del Nuevo Mundo con menor variabilidad genética.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó con subsidio de UBACyT EX-228. Las muestras de sangre de ejemplares silvestres

fueron obtenidas por el Dr. G. Zunino durante las campañas al NE (1994-96). Agradecemos al Dr. C. Sassaroli por facilitarnos las muestras procedentes del Jardín Zoológico de Bs. As. El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el GIBE (Grupo de Investigación en Biología Evolutiva), Dpto. de Biología, FCEyN, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Asimismo queremos agradecer los valiosos aportes sobre genética poblacional realizados al manuscrito por el Dr. E. Hasson. Nuestro reconocimiento también a los revisores anónimos.

LITERATURA CITADA

- BROWN, A.D. y G.E. ZUNINO. 1994. Distribución y estado de conservación de los primates de la Argentina. *Vida Silvestre Neotropical*, 3(1):30-40.
- BOUMAN, B.H. y A.G. BEARN. 1965. The presence of subunits in the inherited group-specific protein of human serum. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 53:722-729.
- CABRERA, A. 1939. Los monos de la Argentina. *Physis*, 16:3-29.
- EISENBERG, J.F.; N.A. MUCKENHIRN y R. RUDRAN. 1972. The relation between ecology and social structure in primates. *Science*, 176: 863-874.
- ENZYME NOMENCLATURE. 1973. Elsevier, Amsterdam.
- HARRIS, H. y D.A. HOPKINSON. 1976. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. North Holland, Amsterdam.
- LIMA, M.M.C.; M.I.C. SAMPAIO, M.P.C. SCHNEIDER, W. SCHEFFRAHN, H. SCHNEIDER. y F.M. SALZANO. 1990. Chromosome and protein variation in Red Howler Monkeys. *Revista Brasileira de Genética*, 13(4):789-802.
- MEIRELES, C.M.M.; M.I.C. SAMPAIO, H. SCHNEIDER. y M.P. SCHNEIDER. 1992. Protein variation, taxonomy and differentiation in five species of Marmosets (Genus *Callithrix* ERXLEBEN, 1777). *Primates*, 33(2):227-238.
- MUDRY, M.D. 1990. Cytogenetic variability within and across populations of *Cebus apella* in Argentina. *Folia Primatologica*, 54(3-4):206-216.
- MUDRY, M.D.; I. SLAVUTSKY, G. ZUNINO, A. DELPRAT. y A. BROWN. 1991. The chromosomes of *Cebus apella* from Argentina. *Revista Brasileira de Genética*, 14(3):729-738.

- MUDRY, M.; M. PONSÁ, A. BORRELL, J. EGOZCUE y M. GARCIA. 1994. Prometaphase chromosomes of the Howler Monkey (*Alouatta caraya*): G, C, NOR, and restriction enzyme (REs) banding. *American Journal of Primatology*, 33:121-132.
- NEI, M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist*, 106:283-292.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 70:3321-3323.
- PONSÁ, M.; M. GARCIA, A. BORRELL, F. GARCIA, J. EGOZCUE, M. GOROSTIAGA, A. DELPRAT y M.D. MUDRY. 1995. Heterochromatin and cytogenetic polymorphisms in *Cebus apella* (Cebidae, Platyrrhini). *American Journal of Primatology*, 37:325-331.
- POPE, T. 1983. Genetic variation in the red howler monkey *Alouatta seniculus* from Venezuela. Master Thesis, Univ. of Florida, Gainesville.
- RUMIZ, A.D.; G.E. ZUNINO, M.L. OBREGOZO y J.C. RUIZ. 1986. *Alouatta caraya*: Habitat and resource utilization. Pp. 175-193. *En: Current Perspectives in Primate Social Dynamics*. (Taub, D.M. y F.A. King, eds.) Van Nostrand Reinhold Co. USA.
- SAMPAIO, M.I.C.; M.P.C. SCHNEIDER, C.M.L. BARROSO, B.T.F. DA SILVA, H. SCHNEIDER, F. ENCARNACION, E. MONTOYA y F.M. SALZANO. 1991. Carbonic anhydrase II in New World Monkeys. *International Journal of Primatology* 12(4):389-402.
- SCANDALIOS, J.G. 1969. Genetic control of multiple molecular forms of isozymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, 3:37-79.
- SCHAAL, B.A. y W.W. ANDERSON. 1974. An outline of techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from the American Oyster *Crassostrea virginica Gmelin*. Athens. Georgia. Department of Zoology. Univ. Georgia.
- SCHMITT, J.; D. GRAUR, y J. TOMIUK. 1990. Phylogenetic relationships and rates of evolution in primates: Allozymic data from Catarrhine and Platyrrhine species. *Primates*, 31(1):95-108.
- SCHNEIDER, M.P.C. 1988. Variação protéica em primatas da Amazônia e seu significado evolutivo. Tesis de doctorado. Univ. Federal do Rio Grande do Sul, PoA., Brasil. 207 pp.
- SCHNEIDER, H.; M.I.C. SAMPAIO, C.M.L. BARROSO, B.T.F. DA SILVA, R. WARZBORT, T. MATAYOSHI, E. HOWLIN, N. NASAZZI, C. NAGLE, y H. SEUANEZ. 1988. Genetic variability in a natural population of *Cebus apella paraguayanus* (Cebidae, Primates). *Revista Brasileira de Genética*, 11(1):89-96.
- SCHNEIDER, H.; M.I.C. SAMPAIO, M.P.C. SCHNEIDER, J.M. AYRES, A.R. HAMEL, B.T.F. SILVA. y F.M. SALZANO. 1991. Coat color and biochemical variation in Amazonian wild populations of *Alouatta belzebul*. *American Journal of Physical Anthropology*, 85:85-93.
- SCHNEIDER, M.P.C.; M.I.C. SAMPAIO, H. SCHNEIDER, F. ENCARNACION, E. MONTOYA, A. PISSINATTI, A. COIMBRA-FILHO y F.M. SALZANO. 1994. Comparative study of lactate dehydrogenase in fifteen genera of new world monkeys. *Revista Brasileira de Genética*, 17(3):321-329.
- SCHNEIDER, P.C.; H. SCHNEIDER, M.I. SAMPAIO, N.M. CARVALHO-FILHO, F. ENCARNACION, E. MONTOYA. y F. SALZANO. 1995. Biochemical diversity and genetic distances in the Pitheciinae subfamily (Primates, Platyrrhini). *Primates*, 36(1):129-134.
- SHAW, C.R. y R. PRASAD. 1970. Starch Gel Electrophoresis of Enzymes - A Compilation of Recipes. *Biochemical Genetics*, 4:279-320.
- SILVA, B.T.F.; M.I.C. SAMPAIO, H. SCHNEIDER, M.P.C. SCHNEIDER, E. MONTOYA, F. ENCARNACION, S.M. CALLEGARI-JACQUES y F.M. SALZANO. 1993. Protein electrophoretic variability in *Saimiri* and the question of its species status. *American Journal of Primatology*, 29:183-193.
- VILARDI, J.C. 1993. GENIND: Programa BASIC para estimar índices de distancias y variabilidad genética y sus errores a partir de muestras pequeñas. *Mendeliana*, 10:71-74.
- ZUNINO, G.E. 1986. Algunos aspectos de la ecología y etología del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) en hábitat fragmentados. Tesis de doctorado. FCEyN. Univ. Buenos Aires. 152 pp.
- ZUNINO, G.E. 1989. Hábitat, dieta y actividad del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) en el noreste de Argentina. *Boletín Primatológico Latinoamericano*, 1(1):74-97.