

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

Tiela Trapp Grassotti

**MICROBIOTA BACTERIANA FECAL E SUA ASSOCIAÇÃO AO ECOSSISTEMA E
BIOLOGIA DA CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS DA ESPÉCIE *Sapajus nigrinus***

Porto Alegre

2023

Tiela Trapp Grassotti

**MICROBIOTA BACTERIANA FECAL E SUA ASSOCIAÇÃO AO ECOSSISTEMA E
BIOLOGIA DA CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS DA ESPÉCIE *Sapajus nigritus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Grassotti, Tiela Trapp
MICROBIOTA BACTERIANA FECAL E SUA ASSOCIAÇÃO AO
ECOSSISTEMA E BIOLOGIA DA CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS DA
ESPÉCIE *Sapajus nigritus* / Tiela Trapp Grassotti. --
2023.
55 f.
Orientadora: Ana Paula Guedes Frazzon.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e
do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Microbiota bacteriana. 2. Fezes. 3. *Sapajus
nigritus*. 4. Ecologia. I. Frazzon, Ana Paula Guedes,
orient. II. Título.

“(...) Life is a waterfall
We're one in the river,
and one again after the fall.
Swimming through the void (...)
(...) We lose ourselves but we find it all (...)
When you lose small mind you free your life”

Aerials (SOAD)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Margarete Trapp Grassotti e João Helio Grassotti por sempre me incentivarem a continuar a busca por meus sonhos, os quais me ajudaram a trilhar meu caminho com humildade, sabedoria e respeito. Vocês são os verdadeiros doutores!

Ao meu marido Tiago Oschelski, por me apoiar nos piores e melhores momentos do doutorado. Por estar sempre atento aos meus sentimentos e por ser tão carinhoso comigo. Sem seu apoio, nada disso estaria sendo concluído.

Aos meus bichinhos amados Timothy, Odara e Spartacus pela alegria e descontração dos momentos mais cansativos; e em especial ao Veludo que sempre me acompanhou durante minhas eternas horas de estudo.

Amo vocês!

Agradeço minha amiga irmã Letícia Fontoura Xavier Costa, por falar a verdade por mais dura que seja. Por estar presente nos momentos mais difíceis e por injetar doses diárias de ânimo e alegria na minha vida.

À amiga Priscila Jankoski, pelo apoio e carinho.

À Michele Bertoni Mann pela amizade sincera e ajuda pessoal e profissional em todos os momentos necessários.

À Caroline Kothe que embora de longe, sempre se preocupou em estar presente. Pelos auxílios em bioinformática e predição metabólica. Obrigada por poder contar contigo em qualquer momento.

À Andressa Leão pelas muitas ajudas durante o desenvolvimentos das pesquisas, pela amizade e carinho.

Ao Nathan Oschelski por me auxiliar nas complicadas instalações dos programas computacionais de predição metabólica.

À Aida Matsumura pelos conselhos, conversas descontraídas e confiança. Sobretudo pelos ensinamentos de que se for confiar em alguém, confie em si mesmo.

À minha orientadora Dra Ana Paula Guedes Frazzon que me acolheu desde o mestrado, pela confiança e aprendizados em microbiologia e vida.

Ao professor Dr. Jeverson Frazzon por sempre disponibilizar o laboratório com toda confiança, para desenvolvimento das pesquisas.

Agradeço a professora Andreza Francisco Martins e em especial ao Otávio

Lovison pelas inúmeras ajudas em bioinformática, pela linguagem clara e disponibilidade no esclarecimento das dúvidas. Sem vocês, essa tese não seria completa. Muito obrigada!

Ao Reneu da Atlas Assesoria Linguística que além de me auxiliar na tradução de artigos com muito profissionalismo, sugeriu várias considerações e *insights* para meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço a concessão da bolsa de doutorado e por permitir que fosse possível concretizar mais essa realização profissional. Por fim, agradeço à UFRGS por ter sido minha casa durante muitos anos e por ter me recebido cheia de conhecimentos, experiências e desenvolvimento profissional e pessoal.

MICROBIOTA BACTERIANA FECAL E SUA ASSOCIAÇÃO AO ECOSSISTEMA E BIOLOGIA DA CONSERVAÇÃO DE PRIMATAS DA ESPÉCIE *Sapajus nigritus*¹

Autor: Tiela Trapp Grassotti

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Guedes Frazzon

RESUMO

O trato gastrointestinal de primatas abriga trilhões de bactérias, podendo sua composição ser associada a diversos fatores como dieta, habitat e ecologia. *Sapajus nigritus* por ser considerada uma espécie onívora, possui aptidão em adaptar sua dieta de acordo com a disponibilidade de alimento, o que faz com que entrem em contato com uma ampla diversidade de micro-organismos. Desta forma, o estudo destes animais é uma oportunidade para analisar a relação entre o comportamento, adaptação e a interferência das condições ambientais na microbiota. Além disso, pela proximidade de alguns desses animais com o ambiente urbano, é de extrema importância analisar a predição metabólica, tentando-se estimar em até que ponto a proximidade e as ações dos humanos, bem como seus hábitos alimentares, podem interferir na composição bacteriana dos diferentes grupos de animais. Utilizando as técnicas de sequenciamento de alto desempenho (Ion Torrent e Illumina MiSeq), o trabalho teve como objetivo caracterizar taxonomicamente a composição e os perfis metabólicos gerais das comunidades bacterianas fecais de macacos-prego (*S. nigritus*) em condições selvagens e cativeiro. Foi desenvolvido o índice *Classification Modeling of Environmental Multivariable (CMEM)* e comparado aos metabolismos presentes nas amostras. O sequenciamento através da técnica Ion Torrent deu origem a um artigo já publicado, cuja taxonomia das 10 amostras sequenciadas divergiu dos demais estudos relacionados à microbiota intestinal de outras espécies de primatas mundialmente. Esse resultado foi associado às características próprias do bioma brasileiro e/ou devido a ação humana no meio ambiente. Já o segundo artigo ampliou os horizontes previamente explorados pelo primeiro artigo ao trabalhar com 34 amostras de *S. nigritus* oriundos de seis condições ambientais diferentes (quatro grupos selvagens e dois cativeiros). Através do sequenciamento pela plataforma Illumina MiSeq foi possível traçar um comparativo taxonômico, preditivo e ambiental. Observamos que os locais estudados podem não ser considerado um exemplo de biodiversidade preservada, e que reservas ou parques ecológicos podem não ser sinônimo de preservação. Desta forma, além de sentinelas para detecção de algumas doenças, os primatas podem ser considerados indicadores de qualidade ambiental.

¹Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (49 p.) Fevereiro, 2023.

**FECAL BACTERIAL MICROBIOTA AND ASSOCIATION WITH THE
ECOSYSTEM AND CONSERVATION BIOLOGY OF PRIMATES OF THE SPECIES
*Sapajus nigritus*¹**

Author: Tiela Trapp Grassotti

Advisor: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Guedes Frazzon

ABSTRACT

The primates gastrointestinal harbors trillions of bacteria, and its composition can be associated with several factors such as diet, habitat and ecology. *Sapajus nigritus*, being considered an omnivorous species, has the ability to adapt its diet according to the availability of food, which makes it come into contact with a wide variety of microorganisms. In this way, the study of these animals is an opportunity to analyze the relationship between behavior, adaptation and the interference of environmental conditions in the microbiota. In addition, due to the proximity of some of these animals to the urban environment, it is extremely important to analyze the metabolic prediction, trying to estimate the extent to which the proximity and actions of humans, as well as their eating habits, can interfere with the bacterial composition of different groups of animals. Using high throughput sequencing techniques (Ion Torrent and Illumina MiSeq), the work aimed to taxonomically characterize the composition and general metabolic profiles of fecal bacterial communities of capuchin monkeys (*S. nigritus*) in wild and captive conditions. The Classification Modeling of Environmental Multivariable (CMEM) index was developed and compared to the metabolisms present in the samples. Sequencing using the Ion Torrent technique gave rise to a previously published article, whose taxonomy of the 10 sequenced samples differed from other studies related to the intestinal microbiota of other species of primates worldwide. This result was associated with the characteristics of the Brazilian biome and/or due to human action in the environment. The second article broadened the horizons previously explored by the first article by working with 34 samples of *S. nigritus* from six different environmental conditions (four wild and two captive). Through Illumina MiSeq platform, it was possible to draw a taxonomic, predictive and environmental comparison. We observed that the studied sites may not be considered an example of preserved biodiversity, and that ecological reserves or parks may not be synonymous with preservation. In this way, in addition to sentinels for detecting some diseases, primates can be considered indicators of environmental quality.

¹Doctoral Dissertation in Agricultural and Environmental Microbiology – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (49 p.) February, 2023.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo Geral	2
2.2 Objetivos Específicos	2
3. REVISÃO DA LITERATURA	3
3.1 Microbiota intestinal de primatas (não) humanos	3
3.2 <i>Sapajus nigrinus</i>	5
3.3 Índice de Qualidade Ambiental por Análise de Multicritérios: preservação da diversidade macro e microscópica	7
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Áreas de estudo	14
4.2 Coletas	15
4.3 Extração de DNA.....	18
5. PUBLICAÇÕES	19
5.1 Artigo 1	19
5.2 Artigo 2	20
6. DISCUSSÃO GERAL	43
7. CONCLUSÃO	44
8. DEMAIS PUBLICAÇÕES	45
9. REFERÊNCIAS	47

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Grupos e métricas analisadas.....	09
Tabela 2. Total de amostras trabalhadas durante o doutorado.....	17

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CMEM	Classification Modeling of Environmental Multivariable
EUA	Estados Unidos da América
IQAAM	Índice de Qualidade Ambiental por Análise de Multicritérios
IUCN	União para Conservação da Natureza
MMA	Morro dos Macacos
NDVI	Normalized Difference Vegetation Index
PEM	Parque Ecológico Maracajá
SCS	Santa Cruz do Sul
SSC	São Sebastião do Caí
TOA	Top of atmosphere
ZCS	Zoológico de Cachoeira do Sul
ZSS	Zoológico de Sapucaia do Sul
pnir	Near-infrared
pred	Red bands

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui umas das maiores biodiversidades mundiais, e um dos biomas que caracterizam sua riqueza biológica é Mata Atlântica. Antigamente, a Mata Atlântica era contínua e interligada à floresta Amazônica, porém hoje devido a pressões e ameaças ambientais como desmatamento, tornou-se um mosaico de pequenos fragmentos ambientais. Juntamente à supressão da vegetação, as mais de 5% das espécies de vertebrados do mundo, e 298 espécies de mamíferos acabaram sofrendo os impactos (SOS Mata Atlântica, 2023). Neste cenário, observamos que espécies onívoras tendem a adaptarem-se melhor a essas condições, como exemplo os primatas da espécie *Sapajus nigritus* (macaco-prego).

Pela semelhança aos seres humanos, os primatas nos despertam sentimentos de compaixão. Devido a sua adaptação à ambientes fragmentados, proximidade com humanos e plasticidade alimentar, o *S. nigritus* está alterando seu comportamento devido a oferta errônea de alimento, e sendo utilizado como atrativo turístico. Essa proximidade com a vida selvagem pode trazer riscos tanto para os animais como para os humanos, como exemplo da recente epidemia mundial de SARS-CoV-2. Desta forma torna-se necessário o monitoramento da saúde de animais que enfrentam esses desafios. Uma das formas de analisar as condições de saúde animal é através de estudos relacionados à microbiota intestinal.

O microbioma é o conjunto de bactérias que possuem participação na homeostasia da saúde do hospedeiro, e são influenciados por diferentes fatores como ambientais, alimentares, sociais, etc. Através de diferentes composições, podemos estimar a capacidade de sobrevivência nas mais diversas estruturas ecológicas. Nos últimos anos, com o advento de técnicas que permitem o estudo de uma ampla diversidade de microrganismos, chamadas sequenciamento de alto rendimento, foi possível descobrir uma diversidade surpreendente em microbiomas animais, especialmente no intestino de mamíferos. Ainda assim, há uma carência de estudos sobre essa associação entre microbiota e biologia da conservação de espécies brasileiras.

Nesta tese, trabalhamos com seis populações de macacos-prego em duas situações ambientais diferentes: selvagens e cativeiro. Cada uma apresenta particularidades, principalmente em relação à alimentação, condição ambiental e proximidade com o ser humano. O objetivo principal foi associar a microbiota bacteriana

intestinal desses animais, juntamente à predição metabólica funcional e estudo da qualidade ambiental onde vivem. Os resultados foram interessantes, porém lamentosos, a ponto de estimar que os locais estudados podem não ser considerado um exemplo de biodiversidade preservada.

Esta tese está dividida em dois principais estudos: o primeiro apresenta o artigo publicado referente ao sequenciamento de alto rendimento da microbiota intestinal de duas populações selvagens de *S. nigritus* empregando a plataforma do Ion torrent. O segundo estudo avançou na técnica utilizando o sequenciamento de alto rendimento pela plataforma Illumina MiSeq, avaliando a microbiota intestinal de 34 amostras de *S. nigritus* selvagens e em cativeiro, habitando seis ambientes diferentes. Este artigo ainda não foi submetido à revista, e conta com o enriquecimento de seu conteúdo após a defesa da presente tese.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar taxonomicamente a composição e os perfis metabólicos gerais das comunidades bacterianas fecais de macacos-prego (*S. nigritus*) em diferentes habitats, no estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Caracterizar taxonomicamente e metabolicamente as comunidades bacterianas fecais de macacos-prego selvagens (*S. nigritus*) em dois fragmentos de Mata Atlântica, no estado do Rio Grande do Sul.

2.2.2 Caracterizar taxonomicamente e metabolicamente as comunidades bacterianas fecais de macacos-prego (*S. nigritus*) nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, em cinco situações ambientais diferentes, vivendo em cativeiro e selvagens;

2.2.3 Desenvolver Índice de Qualidade Ambiental por Análise de Multicritérios (IQAAM, do inglês *Classification Modeling of Environmental Multivariable - CMEM*) aos fragmentos florestais habitados pelos macacos-prego selvagens (*S. nigritus*) nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina;

2.2.4 Correlacionar o IQAAM apresentado por cada um dos fragmentos com as comunidades bacterianas e metabolismos presentes em amostras fecais de

macacos-prego selvagens (*S. nigritus*).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Microbiota intestinal de primatas (não) humanos

O microbioma é uma interconexão de redes de micro-organismos e seus respectivos genes, os quais interagem para manter a homeostasia do hospedeiro em equilíbrio (Björk et al., 2019). O microbioma é definido antes mesmo do nascimento humano (Jiménez et al., 2013), sendo que a diversidade microbiana aumenta e converge para uma microbiota semelhante à de um adulto entre os primeiros três a cinco anos de vida (Rodríguez et al., 2015). Considerado por alguns autores como um órgão virtual do corpo, o microbioma contribui para o funcionamento do metabolismo fisiológico básico do hospedeiro, como auxiliar o funcionamento do metabolismo, proteger contra patógenos e moldar o sistema imunológico (Evans et al., 2013; Shreiner et al., 2015). O conjunto de micro-organismos que compõem os diferentes microbiomas nos mais diversos animais têm sido relatado. A composição e a diversidade do microbioma intestinal são moldadas por muitos fatores, incluindo a história evolutiva do hospedeiro (Youngblut et al., 2019), estilo de vida (Zhong et al., 2019), dieta (Barone et al., 2018) e interações sociais (Dill-McFarland et al., 2019). A microbiota intestinal também tem sido associada a várias doenças, como obesidade (Andoh et al., 2016), diabetes mellitus tipo 2 (Forslund et al., 2015), doenças cardiovasculares (Estruch et al., 2018), e distúrbios comportamentais (Iglesias-Vázquez et al., 2020).

É um tanto curiosa essa tríade interação bactérias-intestino-saúde, para não se dizer questionável. As bactérias produzem uma ampla variedade de metabólitos e suas interações com os receptores das células hospedeiras podem ativar ou inibir algumas vias de sinalização, sendo estas benéficas ou prejudiciais à saúde. Esses metabólitos podem ser subprodutos do metabolismo bacteriano, como ácidos graxos de cadeia curta e macromoléculas complexas necessárias para a integridade bacteriana, como peptidoglicano e lipopolissacarídeos (de Vos et al., 2022). Desta forma, caracterizar e monitorar o microbioma intestinal pode ser a chave para saúde e consequentemente preservação de uma espécie.

De 2007 a 2016 foi realizado o Projeto Microbioma Humano promovido pelo *National Institutes of Health* - Estados Unidos (Peterson et al., 2009). Este estudo avaliou

por meio do sequenciamento do gene 16S rRNA as comunidades microbianas em diferentes ambientes da anatomia humana e a sua relação com a saúde do ser humano. A partir deste projeto, diversos grupos de pesquisa começaram a estudar o microbioma de outras espécies de animais, incluindo os primatas (Mckenna et al., 2008).

Através de um levantamento bibliográfico (publicação referente ao estudo desta tese, em Grassotti et al., 2021), foi possível observar que diversos grupos de pesquisa já vem trabalhando com questões importantes sobre a relação primatologia-microbioma. Os trabalhos incluem populações em cativeiro e selvagens (Hale et al., 2019; Asangba et al., 2019; Sang et al., 2022; Malukiewicz et al., 2022), espécies de hospedeiros únicos e múltiplos (Wills et al., 2022; Rudolph et al., 2022) e diferentes locais do corpo do hospedeiro (Li et al., 2020; Asangba et al., 2022). Os estudos foram classificados em diferentes temas-chave: (1) diversidade do microbioma de primatas usando metagenômica, (2) relação entre o microbioma e o desenvolvimento do primata, e (3) influências ambientais, sociais e antropogênicas sobre o microbioma intestinal dos primatas. Além disso, foi dada atenção ao local de publicação dos trabalhos. Uma maior concentração de trabalhos foi observada nos Estados Unidos e na China (ver Grassotti et al., 2021), enquanto na América do Sul há apenas dois trabalhos referentes à microbiota intestinal de primatas (Grassotti et al., 2021; Malukiewicz et al., 2022).

Os primatas fornecem uma excelente fonte de informações comparativas sobre espécies diversas e intimamente relacionadas, com potencial para fornecer informações importantes sobre a evolução e a adaptação. Através do estudo da microbiota intestinal de primatas não humanos, é possível explorar a história evolutiva do microbioma humano (Moellet et al., 2014; Amato et al., 2019). Humanos e chimpanzés compartilham 98,77% de nucleotídeos e 99% de identidade de aminoácidos em seus genomas (Clayton et al., 2018). É possível inferir, desta forma, quais aspectos do microbioma humano são ancestrais e compartilhados entre todos os primatas, associados a traços biológicos ou ecológicos específicos ao longo da filogenia dos primatas, ou derivados e exclusivos dos humanos (Amato et al., 2019). Os estudos de primatas têm grande relevância científica por serem um possível modelo com uma estreita relação evolutiva com os humanos. Assim, esses mamíferos podem servir como espécie indicadora de patógenos de importância clínica para humanos, como a epidemia de febre amarela no Brasil. Não obstante, os primatas têm sido considerados espécies chave nos estudos do intestino, pois possuem diversidade de habitats, dieta, fisiologia e estruturas sociais representadas em uma única ordem (Amato e Stumpf, 2019). Por esse motivo, tem sido gerado um aumento em publicações relacionadas

a compreensão das interações micro-organismos-hospedeiro-intestino em primatas não humanos.

3.2 *Sapajus nigrinus*

O gênero *Sapajus* é caracterizado por macacos capuchinhos robustos, que possuem adornos ou tufos na cabeça, dentre outras características craniais que os diferem do gênero *Cebus* (Alfaro et al., 2012). São primatas de tamanho médio, com peso de 2,5 a 5 kg, com moderado dimorfismo sexual e braços e pernas do mesmo tamanho. A cauda semi preênsil desempenha papel fundamental no equilíbrio do corpo durante o transporte de cargas, além de auxiliar na locomoção (Massaro et al., 2016). Estes animais vivem em grupos de aproximadamente 10 a 30 indivíduos, com as fêmeas sendo filopátricas e os machos tendendo a migrar antes de atingir a maturidade sexual (Izar et al., 2012; Cardoso, et al., 2021). Por serem onívoros, possuem aptidão em adequar sua dieta de acordo com a disponibilidade de alimento, o que facilita sua adaptação (Fragaszy et al., 2004).

A ampla distribuição geográfica de *Sapajus* reflete sua adaptabilidade ecológica., Existem oito espécies de *Sapajus* no Brasil: *S. macrocephalus* e *S. apella* na Amazônia; *S. libidinosus* e *S. cay* nos habitats da Caatinga e Cerrado; e *S. xanthosternos*, *S. robustus* e *S. nigrinus* na Mata Atlântica (Alfaro et al., 2012; SBMz, 2022). Ainda, ocorrem na parte norte das províncias argentinas de Iguazú e Misiones (leste do rio Paraná) (IUCN, 2022). Habitantes exclusivos da Mata Atlântica, *S. nigrinus* (nomes comuns: capuchinho-de-chifre-preto, capuchinho-preto, macaco-prego) possuem tendência populacional decrescente, com base na ocorrência e perda contínua do habitat (IUCN, 2022).

Atualmente restam apenas 13% da Mata Atlântica original, com elevado grau de fragmentação em relação à cobertura vegetal original (Mapbiomas, 2020). A Mata Atlântica está presente na lista das 200 ecorregiões prioritárias para conservação global (Olson e Dinerstein, 2002), uma vez que cerca de 443 espécies de árvores já foram registradas em apenas um hectare de mata. Dentre os impactos que mais ameaçam estas áreas, destacam-se o impacto ambiental causado pelos mais de 145 milhões de brasileiros que as habitam, bem como o consumo excessivo de recursos naturais, produção elevada de lixo, poluição, industrialização, expansão urbana desordenada e exploração predatória de madeira e espécies vegetais (SOS Mata Atlântica, 2022). Dentre os múltiplos fatores que auxiliam na redução florestal, a construção de estradas e produção de soja também contribuem de forma subjacente à fragmentação (Fundación Vida Silvestre Argentina,

WWF, 2017; Mapbiomas, 2020). Desta forma, o ser humano está cada vez mais próximo dos animais selvagens e vice e versa, compartilhando até mesmo micro-organismos (Goldberg et al., 2007), os quais podem interferir em seu comportamento social e alimentar.

Para compor a energia necessária para o correto funcionamento do organismo, seres vivos necessitam de alimentos ricos em determinados nutrientes. Carboidratos e fibras são adquiridos em folhas, flores, frutos e sementes; proteínas podem ser adquiridos de folhas, sementes e insetos; e minerais e vitaminas proveniente de plantas. A alimentação de *Sapajus* é constituída em cerca de 55% de frutas, 33% de insetos, 8% de sementes, 8% de folhas (principalmente jovens) e 2% de flores (National Research Council, 2003), podendo variar de acordo com a disponibilidade de alimentos. Existem informações de que os *Sapajus* podem alimentar-se de pequenos vertebrados, tais como pássaros (Ferreira et al. 2002), ratos (Resende et al. 2003) e cobras (Falótico et al. 2017). Plantas exóticas também fazem parte de sua alimentação, como por exemplo cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), milho (*Zea mays*), banana (*Musa spp.*), frutas cítricas (*Citrus spp.*), uva do Japão (*Hovenia dulcis*) e palmeira rabo de peixe (*Caryota urens*). Além de espécies brasileiras, como mandioca (*Manihot esculenta*), palmito juçara (*Euterpe edulis*) e cincho (*Sorocea bonplandii*) também fazem parte de sua dieta. Porém, os alimentos antrópicos são os mais prejudiciais à saúde dos animais selvagens.

Os primatas não humanos são considerados animais carismáticos. Como as pessoas são naturalmente atraídas por essa característica, desperta sentimentos de preocupação, a qual leva ao oferecimento de alimentos antrópicos aos animais, podendo comprometer a composição da microbiota e conseqüentemente saúde (Albert et al., 2018). A presença humana afeta as atividades dos macacos-prego, desvinculando-os de seus comportamentos naturais, expressando um maior consumo de alimentos antrópicos durante o período de grande presença de pessoas. Durante período de visitaçãõ humana menos frequente, flores, sementes, frutos e invertebrados receberam mais atenção dos macacos-prego em um parque em São Paulo, Brasil (Oliveira et al., 2014). Back et al. (2019) e Grassotti et al. (2018) relataram a manipulaçãõ de resíduos humanos por *Sapajus* sp. no Paraná e Rio Grande do Sul, que tiveram uma associaçãõ direta com a presença de bactérias multirresistentes isoladas de amostras fecais de animais selvagens. A oferta de alimentos antrópicos à vida selvagem é um fenômeno mundial com efeitos negativos diversos na conservaçãõ, bem estar animal e segurançã pública.

Embora muitas vezes motivada por boas intenções, a alimentaçãõ antrópica ofertada vida selvagem pode levar a problemas de segurançã pública e conservaçãõ,

prejudicando a saúde dos animais. Outras vezes, podem ser utilizadas como atrativos turísticos, como o parque Yaen Koen no Japão, onde os visitantes podem andar livremente entre os macaco (Knight 2010) e Morro dos Macacos em Santa Catarina (dados descritos nesta tese). Animais selvagens alimentados por humanos podem tornar-se dependentes de fontes alimentares carentes em nutrientes, habituar-se a pessoas e tornar-se mais suscetíveis a predadores, cargas mais altas de parasitos e redução da saúde geral, reprodução e condicionamento físico (Fitzpatrick et al., 2011; Dubois and Fraser, 2013). A alimentação antrópica pode afetar indivíduos e populações, uma vez que os animais podem sofrer e expressar agressão baseada em alimentos e estresse social, gerando uma preocupação a nível epidemiológica, uma vez que primatas são reservatórios de inúmeras zoonoses, incluindo a raiva (dos Santos et al., 2020). Não obstante, ataques inter e intra-espécies podem ocorrer, incluindo aos seres humanos. No entanto, devido à plasticidade das espécies, o declínio populacional não deve ser considerado na mesma proporção que a perda e fragmentação do habitat, mas supõe-se que deve se aproximar de 30% da população (la Salles et al., 2018). Portanto, ao estudar a microbiota de animais selvagens, não devem ser considerados apenas os fatores alimentares, mas também a ecologia da espécie, a qual pode ser caracterizada pela qualidade do habitat em que vive.

3.3 Índice de Qualidade Ambiental por Análise de Multicritérios: preservação da diversidade macro e microscópica

A Mata Atlântica abrange cerca de 13% (Mapbiomas, 2020) a 15% (SOS Mata Atlântica, 2020) do território brasileiro, concentra 80% do Produto Interno Bruto (PIB) e fornece água para mais de 60% da população brasileira. Considerada *hotspot* mundial, a Mata Atlântica abriga cerca de 20 mil espécies vegetais, 270 espécies de mamíferos, 200 de répteis, 370 de anfíbios, 350 de peixes e 850 espécies de aves (Relatório SOSMA, 2020; MMA, 2023). Subdividida em 15 ecorregiões terrestres, a Mata Atlântica abrange as regiões do Alto Paraná e Floresta Úmida de Araucária (WWF, 2023). As reservas do Sudeste, as quais localizam-se nos estados do Paraná e São Paulo, são consideradas como Patrimônio Mundial Natural pela UNESCO, em decorrência do seu valor universal excepcional (UNESCO, 2018).

Embora indispensável para a regulação do clima e do abastecimento de água, esse bioma vem sofrendo reduções com o passar dos anos. Segundo o último relatório anual do SOS Mata Atlântica, no período de 2020 a 2021, houve um aumento no

desmatamento maior que 50% em relação ao período anterior nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul (Fundação SOS Mata Atlântica, INPE, 2021). Portanto, a fragmentação de ecossistemas consequentemente leva à fragmentação das populações que nele vivem, podendo gerar efeitos importantes na conservação das populações que habitam este ecossistema.

Um conhecimento ecológico aprofundado sobre os fragmentos florestais torna-se indispensável, pois estes dados levam a uma melhor compreensão da influência direta do habitat na saúde das espécies ali existentes. Todos os elementos em uma estrutura espacial estão inter e intrarrelacionados, formando um único sistema complexo. Não obstante, já foi demonstrado o efeito da qualidade e degradação do habitat na diversidade da microbiota intestinal de primatas das espécies *Procolobus gordonorum* (Barelli et al., 2015) e *Varecia variegata editorum* na África (McManus et al., 2021) e *Alouatta pigra* no México (Amato et al., 2013). Animais em habitats perturbados geralmente consomem diferentes tipos de recursos alimentares. Devido à falta de diversidade alimentar natural, os animais podem sofrer alterações na composição da microbiota intestinal e, consequentemente, na saúde. Compreender os fatores que contribuem para as respostas diferenciais das espécies de primatas à perturbação do habitat é fundamental para a conservação. Uma maneira de avaliar esses fatores é por meio de análises multivariadas de habitats.

Por meio de análises multivariadas ambientais é possível avaliar determinada situação considerando vários fatores que, em geral, não possuem o mesmo grau de influência. A análise multicritérios se baseia em álgebra de mapas, pois seleciona as principais variáveis que representam uma realidade, de modo numérico e as integra. Trabalha com camadas de informações que já receberam um julgamento prévio sobre seu significado para o objetivo de investigação, representado como um valor numérico quanto ao grau de pertinência que no caso, seria a microbiota fecal de *S. nigritus* (Rocha et al., 2018). O primeiro passo para obtenção deste tipo de análise é a identificação dos grupos e/ou fatores ambientais que possam condicionar a qualidade de vida desses animais, sendo elas: **(1)** área, **(2)** qualidade do fragmento e **(3)** uso e ocupação do solo (Tabela 1). Para compor o Índice de Qualidade Ambiental por Análise de Multicritérios (IQAAM), do inglês *Classification Modeling of Environmental Multivariable (CMEM)* foram utilizados estes três grupos principais, pois *S. nigritus* estudados além de habitarem remanescentes florestais, possuem um contato relevante com a população que vivem no entorno dos fragmentos florestais, bem como visitantes.

Tabela 1: Grupos e métricas analisadas

Grupo	Métricas	Unidade	Objetivo
1. Área	Área do fragmento	m ²	Área total avaliada
	Perímetro	m	Borda do fragmento em metros
	Índice de forma	Adimensional	É igual a um (=1) quando o fragmento possuir forma circular e aumenta com a crescente irregularidade da forma do fragmento
	Número de áreas núcleo	n	Número de áreas núcleo presentes em cada fragmento
	Índice total de área núcleo	%	Quanto % do fragmento está na área núcleo
	Proximidade	m	Distância entre a borda de um fragmento a outro (50 m)
2. Qualidade do fragmento	NDVI	Adimensional	Estado de saúde das plantas
3. Uso e cobertura do solo	Agricultura	km ²	Presença / ausência
	Mancha urbana	km ²	Presença / ausência
	Massa d'água	km ²	Presença / ausência
	Rodovia	km ²	Presença / ausência
	Vegetação arbórea	km ²	Presença / ausência
	Vegetação rasteira	km ²	Presença / ausência
	Mineração	km ²	Presença / ausência

NDVI: *Normalized Difference Vegetation Index*

O parâmetro **área total** foi estabelecido com base nas possíveis rotas alcançadas pelos macacos, abrangendo interior e exterior do fragmento. Para isso, foi realizada uma revisão de trabalhos em relação ao mapeamento de rotas do gênero *Sapajus*. Pressoto et al., (2018) observaram 200 rotas diárias de *S. libidinosus*, os quais navegaram em média 1445 m por dia, em um sistema de rede de rotas, abrangendo 25 km de uma área residencial com 3,54 km². Desta forma, as áreas de cada fragmento foram estabelecidas a contar o fragmento acrescido de 1,5 km de borda. Esta área foi delimitada, e as demais análises realizadas a partir desta seleção.

O **perímetro** é caracterizado pela aferição da borda do fragmento em metros e possui relação à métrica **índice de forma**, onde analisa-se os efeitos de borda do fragmento analisado, ou seja, se ele apresenta muitas ramificações ou se é mais compacto. Nesta métrica, comparamos o fragmento com o formato de um círculo como padrão. Desta forma, fragmentos com formas mais circulares possuem valores de forma perto de 1, enquanto formas mais complexas, ou seja, que possuem bordas mais expostas à paisagem

circundante, apresentam valores maiores que 1. À medida que a irregularidade da forma cresce, o valor do índice aumenta, ou seja, um fragmento grande, mas de forma complexa, poderá ser constituído unicamente por habitat de borda, não havendo área nuclear. Assim, nem sempre um fragmento grande é considerado bom o bastante para uma espécie devido a sua qualidade de forma (Botequilha-Leitão e Ribeiro, 2021).

Área nuclear é caracterizada pela região que não é afetada por efeito de borda, local ideal de habitação dos animais. Quanto mais próximo da forma circular, menor a borda do fragmento, portanto menor será sua suscetibilidade às perturbações externas (Etto et al., 2013). Quanto maior a área núcleo, mais arredondada e concentrada é a forma do fragmento, ao passo que quanto menor o círculo, mais alongada é a sua forma (Rocha et al., 2016). Na métrica **número de áreas nucleares** aferiu-se a quantidade de áreas com essa característica existem em cada fragmento e o quanto é sua representatividade em relação ao fragmento (**Índice total de áreas nucleares**).

Na métrica **proximidade**, avalia-se a distância a menos de 50 m do fragmento mais próximo, a fim de estimar a presença de ligações funcionais entre fragmentos (Rodrigues, 2013). Populações muito pequenas representam um risco à biodiversidade, pois são mais vulneráveis a fatores que podem levar à sua extinção local, como perda de variabilidade genética, depressão endogâmica e flutuações numéricas ocasionadas por predadores, doenças ou eventos estocásticos como incêndios e inundações. A conectividade entre manchas, pode mitigar os efeitos destes fatores por meio da recolonização e do fluxo gênico entre manchas de habitat.

Outra variável muito utilizada a fim de estimar o estado de saúde da vegetação presente em cada fragmento é do inglês *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) **(2)**, ou seja, é o índice de vegetação por diferença normalizada. O NDVI é calculado como a razão entre a refletância *top of atmosphere* (TOA) de uma banda vermelha (*pred*) em torno de 0,66 μm e uma banda de infravermelho *near-infrared band* NIR (*pnir*) em torno de 0,86 μm . O NDVI de uma área densamente vegetada tenderá a valores positivos, enquanto a água e áreas construídas serão representadas por valores próximos de zero ou negativos (Viana et al., 2019). Após as análises, aplica-se a equação segundo Braun and Herold, (2004):

$$NDVI = \frac{P_{nir} - P_{red}}{P_{nir} + P_{red}}$$

O NDVI vem sendo amplamente utilizado para estudar o crescimento e produtividade da vegetação em todo o mundo, especialmente a resposta dinâmica da vegetação às mudanças climáticas em termos de precipitação e temperatura (Käfer e Rex, 2020; Jiang et al., 2016; Lima et al., 2013). A quantidade de radiação solar refletida pela vegetação está relacionada ao comprimento de onda, à clorofila, aos tecidos do interior das folhas e ao teor de água na vegetação. Desta forma, podemos prever a atividade da vegetação verde, ou seja, estimar a saúde da cobertura vegetal avaliada. Por meio das análises de NDVI podemos inferir a resposta comportamental dos primatas frente à disponibilidade de alimento, pois os valores de NDVI são relacionados às medidas de cobertura foliar e associados à disponibilidade de alimentos aos primatas estudados (Willems et al., 2009).

O indicador uso e cobertura do solo **(3)** é estabelecido por meio de análise previamente realizada das características antropogênicas apresentadas em cada um dos fragmentos. Com objetivo de indicar a distribuição espacial da tipologia da ação antrópica, este indicador auxilia a identificar os padrões de organização do espaço estudado, ou seja, de que forma o espaço está sendo ocupado pelo ser humano (Leite e Rosa, 2012). Este item é dividido em seis subitens:

Para primatas, a presença de **áreas agrícolas** no entorno do fragmento vegetal habitado torna-se importante, uma vez que há relatos de *S. nigritus* atacarem lavouras e plantações (*International Union for Conservation of Nature - IUCN*, 2017). Esta variável torna-se significativa devido aos agrotóxicos, pesticidas, inseticidas e fungicidas utilizados na agricultura (Giambò et al., 2021). Estes podem ser dispersados para ambientes mais próximos ou através do contato direto, podendo influenciar na saúde dos animais. Conhecido popularmente como “mata mata”, o glifosato é um herbicida comumente utilizado em lavouras, influenciando na microbiota intestinal de abelhas (Motta et al., 2020) e ratos (Dechartres et al., 2019) expostos ao componente. Esses resultados serão associados a predição metabólica dos táxons encontrados na microbiota intestinal dos primatas estudados, através de abordagem computacional. Desta forma, estima-se que poderá haver uma associação com a proximidade de lavouras aos fragmentos e presença de micro-organismos com metabolismos associados a degradação de compostos químicos associados a pesticidas, como já mostrado por Grassotti et al., (2018). O diferencial do presente trabalho será associar os níveis de uso de solo para agricultura com a presença destes compostos na microbiota intestinal de *S. nigritus*.

Mancha urbana são considerados os centros urbanos e maior ocupação nas

áreas estudadas, com cobertura predominantemente por edificações e sistema viário. O parâmetro **massa d'água** foi estabelecido por ser uma característica presente em torno dos fragmentos e por possuir influência na composição da microbiota intestinal. Fatores como pH (Hansen et al., 2018), tipo (água mineral engarrafada comercial, água natural, água purificada e água da torneira) (Zhou et al., 2021) e contaminação (Nolorbe-Payahuaet al., 2020) possuem profundo impacto na comunidade bacteriana intestinal de humanos, ratos e peixes.

A presença de **rodovias** nas proximidades de um fragmento além de induzirem mudanças na cobertura vegetal, contribuem para atropelamentos de fauna. Caracterizada como mecanismo de alto impacto ambiental, foi descrita quanto à sua distância nos fragmentos presentes (Rezzadori et al., 2016). Há uma ligação entre a exposição à poluição do ar e a microbiota intestinal, onde partículas ultrafinas podem atingir o intestino por inalação e difusão dos pulmões para a circulação sistêmica ou ingestão de partículas inaladas após a depuração mucociliar das vias aéreas, reduzindo a diversidade bacteriana intestinal (Fouladi et al., 2020). Estudos mostram que a poluição do ar relacionada ao trânsito vem sendo correlacionada com táxons bacterianos intestinais e níveis de glicose em humanos (Alderete et al., 2018).

Em geoprocessamento, a **vegetação rasteira** pode estar associada a presença de pecuária. Essa atividade causa impactos ambientais relacionados a degradação do solo e consequente perda de biodiversidade.

Embora a **mineração** não seja considerada a principal causa de perda de biodiversidade, ela impacta ou pode intensificar pressões já existentes em determinado ambiente. Algumas das ameaças são a supressão de vegetação, impedimento de sua regeneração, alteração dos ecossistemas, fragmentação de habitats, além das poluições sonora, hídrica e atmosférica pela atividade em si e pela construção de vias de acesso e de escoamento do produto da atividade ou geração de energia elétrica para seu desenvolvimento (Mandai et al., 2021). Houve uma grande repercussão e preocupação com esse aspecto devido ao rompimento das barragens em Mariana e Brumadinho em Minas Gerais. A grande proporcionalidade do desastre ambiental ocorrido faz com que a presença de mineração em um habitat seja considerada uma preocupação ambiental importante.

Após definidas as métricas a serem analisadas, cada um dos fragmentos ambientais é submetido à um sistema de representação bidimensional conhecido como *raster* ou sistema matricial, composto por um número de pixels ou células. Desta forma, é possível que o software a ser utilizado (Fragstat) avalie a paisagem como arranjo de

elementos que representam classes de cobertura e uso da terra, categorizados e sobrepostos em uma grade ou matriz. As diversas informações, pré-estabelecidas na tabela 1, podem ser então inseridas no modelo como variáveis e cada uma delas representará uma camada de informação. A utilização de dados no formato *raster* possui algumas vantagens, dentre elas a compatibilidade com imagens de satélite, sendo de fácil execução matemática a partir de álgebra de mapas (de Oliveira et al., 2021).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Áreas de estudo

As áreas de estudo compreendem quatro fragmentos florestais do bioma Mata Atlântica, dois localizados no estado do Rio Grande do Sul (RS) e dois no estado de Santa Catarina (SC), Brasil (animais selvagens); e dois zoológicos no RS (animais cativo).

O primeiro fragmento florestal está localizado na cidade de São Sebastião do Caí - RS (SSC), (29° 35' 13" S; 51° 22' 17" W). Essa área possui 2,24% de cobertura vegetal, totalizando 249 hectares de mata (SOS Mata Atlântica, 2023). O fragmento florestal de SSC está inserido na área urbana da cidade, composto por remanescentes de vegetação típica de Mata Atlântica, e áreas de fruticultura, com crescente urbanização em seu entorno, principalmente condomínios, hospital e estação municipal de tratamento de água. Neste fragmento vive um bando de *S. nigritus* composto por 20-30 indivíduos, onde estes têm contato frequente com a população. Um dos principais problemas deste fragmento é o costume arraigado da população local fornecer alimentos aos animais, aumentando os riscos de lesões físicas e transmissão de patógenos. Além desta situação, o acesso dos animais ao hospital que fica localizado perto do fragmento, também é um problema sério de saúde pública, pois já foi relatado contato desses animais com o lixo deste local.

O segundo fragmento florestal está localizado no Parque Municipal da Gruta dos Índios em Santa Cruz do Sul - RS (SCS) (29° 43 '03" S; 52° 25' 33' W). Essa área possui 10,56% de cobertura vegetal, totalizando 7.75 hectares de floresta (SOS Mata Atlântica, 2023). O fragmento florestal SCS está a menos de 2 km do centro de Santa Cruz do Sul e possui cavernas, trilhas em meio a mata nativa, cachoeiras, aluguel de pedalinhas e infraestrutura turística completa com churrasqueiras, banheiros, playground, um restaurante e uma lanchonete. Possui área de mineração e elevada mancha urbana nos arredores do fragmento. Além disso, por localizarem-se próximos a áreas urbanas, também têm acesso à alimentação não intencional (por exemplo, através do lixo) ou intencional por humanos (por exemplo, frutas, verduras e alimentos processados, como salgadinhos, doces, frituras, entre outros) (Wenzel e Quadro, 2012; Grassotti et al., 2021). A população de macacos-prego que vivem neste local é composta por 30-40 indivíduos.

O terceiro fragmento florestal fica no Parque Ecológico do Maracajá (PEM), localizado na cidade de Maracajá, SC (28°52'46,9"S 49°28'00,1"W). Sustenta 260 hectares de Mata Atlântica (SOS Mata Atlântica, 2023), onde habita uma população de macacos-

prego selvagens. Importante salientar a presença de uma grande área agrícola no entorno do fragmento. Esses macacos são alimentados duas vezes ao dia, em horários determinados, consistindo de frutas da estação e milho pelos funcionários do parque. Relatos de ataques de macacos a visitantes já foram relatados.

O quarto fragmento está localizado no Morro dos Macacos (MMA), localizado na cidade de Passo de Torres – SC (29°14'34.0"S 49°43'38.5"W). Consiste em uma área privada onde moradores da região se aproximaram e mantém contato direto com os macacos que habitam o fragmento através da oferta de alimentos. Esta área foi fechada e a entrada cobrada para visitantes. Os animais recebem frutas, ovos cozidos e interagem com humanos e se alimentam com outros animais, como galinhas e cachorros. Essa área compreende 6,36% de vegetação, totalizando 605 hectares de floresta (SOS Mata Atlântica, 2023).

Os dois zoológicos: Zoológico de Sapucaia do Sul (ZSS) e Zoológico Municipal de Cachoeira do Sul (ZCS) localizam-se no estado do RS. O ZSS ocupa uma área total de 780 hectares, sendo 160 de área ocupada pelos animais e 620 pertencentes a área da Reserva Florestal Padre Balduino Rambose. Os primatas da ZSS recebem alimentação própria para primatas (Nuvilab Primatas, Quimtia, Paraná, Brasil) suplementada com frutas. O ZCS está localizado dentro da cidade de Cachoeira do Sul e possui 12.591 m² de área verde. Os primatas do ZCS recebem ração canina, frutas, leguminosas e diversos vegetais. Importante salientar que uma das amostras coletadas de macacos do ZCS habitam o zoológico desde 1991 e 1998 (BCM 55), e a segunda amostra oriunda de um recinto extra, onde habitam dois animais jovens, um de vida livre que estava machucado) e outro apreendido de cativeiro ilegal (BCM 56).

4.2 Coletas

Foram coletadas 44 amostras fecais ou swabs retais dos macacos-prego habitantes de diferentes áreas de estudo. Dez delas foram utilizadas para compor o artigo número um do doutorado. As demais foram utilizadas no desenvolvimento do segundo artigo a ser submetido (Tabela 2).

Os animais selvagens foram capturados e manejados por veterinários do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) utilizando armadilhas Tomahawk, de acordo com o protocolo de coleta de amostras descrito pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, 2012). Os animais foram contidos e anestesiados para obtenção das amostras. Doses intramusculares de

cetamina (100 mg/mL) e xilazina (20 mg/mL) foram administradas por médicos veterinários de acordo com o peso e condição de cada animal, onde a dosagem foi estabelecida pela fórmula peso x dose/concentração anestésica. Parâmetros fisiológicos como temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória foram registrados e usados para aferir o estado de saúde dos animais. Todos os animais estavam clinicamente saudáveis e classificados de acordo com sexo e faixa etária (Fragaszy et al., 2004). Animais de cativeiro não foram contidos para amostragem. Desta forma, foram coletadas amostras fecais do ambiente onde viviam.

A captura e manipulação dos macacos para coleta de amostras foram autorizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Brasília, Brasil e ICMBio. O protocolo foi aprovado pelo Sistema de Autorização de Informação em Biodiversidade (SISBIO) (número 56640). Este projeto está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Associados (SISGEN) (números A2CC618 e A720680).

Na Tabela 2 é possível observar a totalidade das amostras trabalhadas durante o doutorado. Na coluna “sequenciado por”, estão subdivididas as técnicas de sequenciamento utilizadas, onde Ion Torrent são referentes ao artigo um e Illumina Miseq ao artigo dois. Amostras coletadas da gaiola onde o macaco foi capturado individualmente foram consideradas fezes. Pools foram considerados quando as fezes foram coletadas de mais de um animal e swabs de animais individuais. As amostras foram imediatamente colocadas em tubos Falcon e mantidas a 4°C até a extração do DNA.

Tabela 2. Total de amostras trabalhadas durante o doutorado

ID amostras*	Tipo	Região**	Peso	Sexo	Idade	Habitat	Sequenciado por
BCM1	Feces	SSC	SI***	SI***	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM2	Feces	SSC	SI***	SI***	SI***	Selvagem	Illumina Miseq
BCM3	Feces	SSC	SI***	SI***	SI***	Selvagem	Illumina Miseq
BCM12	Swab	SSC	2.075	Fêmea	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM14	Swab	SSC	1.560	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM7	Swab	SSC	2.870	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM15	Swab	SSC	2.200	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM23/24	Pool	SCS	3.755/ 3.170	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM29	Pool	SCS	SI***	SI***	SI***	Selvagem	Illumina Miseq
BCM23	Swab	SCS	3.755	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM24	Swab	SCS	3.170	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM25	Swab	SCS	1.900	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM27	Swab	SCS	2.000	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM28	Swab	SCS	2.200	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM31	Swab	PEM	3.650	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM33	Swab	PEM	2.420	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM35	Swab	PEM	2.920	Fêmea	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM36	Swab	PEM	4.120	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM38	Swab	PEM	2.320	Fêmea	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM41	Swab	PEM	1.900	Fêmea	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM42	Swab	PEM	3.800	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM43	Swab	MMA	2.360	Fêmea	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM44	Swab	MMA	4.305	Macho	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM46	Swab	MMA	2.675	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM47	Swab	MMA	1.785	Fêmea	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM48	Swab	MMA	1.800	Macho	Jovem	Selvagem	Illumina Miseq
BCM50	Swab	MMA	2.475	Fêmea	Adulto	Selvagem	Illumina Miseq
BCM18	Feces	ZSS	SI***	SI***	SI***	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM19	Feces	ZSS	SI***	SI***	SI***	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM20	Feces	ZSS	SI***	SI***	SI***	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM55	Pool	ZCS	SI***	Macho	Old	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM56	Pool	ZCS	SI***	Macho	Jovem	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM16	Pool	ZSS	SI***	SI***	SI***	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM30	Pool	ZSS	SI***	SI***	SI***	Cativeiro	Illumina Miseq
BCM 8	Swab	SSC	2.620	Fêmea	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 9	Swab	SSC	1.520	Fêmea	Jovem	Selvagem	Ion Torrent
BCM 12	Swab	SSC	2.075	Fêmea	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 14	Swab	SSC	1.560	Macho	Jovem	Selvagem	Ion Torrent
BCM 15	Swab	SSC	2.200	Macho	Jovem	Selvagem	Ion Torrent
BCM23	Swab	SCS	3.755	Macho	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 24	Swab	SCS	3.170	Macho	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 26	Swab	SCS	2.270	Fêmea	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 27	Swab	SCS	2.000	Macho	Adulto	Selvagem	Ion Torrent
BCM 28	Swab	SCS	2.200	Macho	Adulto	Selvagem	Ion Torrent

*BCM: Black capuchin monkeys; ** SSC: São Sebastião do Caí; SCS: Santa Cruz do Sul; PEM: Parque Ecológico Maracajá; MMA: Morro dos Macacos; ZSS: Zoo Sapucaia do Sul; ZCS: Zoo Caxias do Sul. *** SI: sem informação

4.3 Extração de DNA

O DNA total de amostras foi extraído usando kit de extração de DNA MoBio PowerSoil (Thermo Fisher Scientific) (artigo um) e E.Z.N.A. Kit DNA (Omega Bio-tek) (artigo dois), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de DNA foi determinada usando o Qubit, e sua qualidade foi verificada usando o NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). O restante da metodologia está descrito em cada um dos artigos, por utilizarem técnicas diferentes.

5. PUBLICAÇÕES

5.1 Artigo 1

Publicado em Current Research in Microbial Sciences Volume 2, dezembro de 2021, 100048 <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100048>

Fecal bacterial communities of wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) from the Atlantic Forest biome in Southern Brazil are divergent from those of other non-human primates.

Tiela Trapp Grassotti, Caroline Isabel Kothe, Janira Prichula, Nacer Mohellibi, Michele Bertoni Mann, Paulo Guilherme Carniel Wagner, Fabricio Souza Campos, Aline Alves Scarpellini Campos, Jeverson Frazzon, Ana Paula Guedes Frazzon

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Current Research in Microbial Sciences

journal homepage: www.sciencedirect.com/journal/current-research-in-microbial-sciences

Fecal bacterial communities of wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) from the Atlantic Forest biome in Southern Brazil are divergent from those of other non-human primates

Tiela Trapp Grassotti^a, Caroline Isabel Kothe^b, Janira Prichula^c, Nacer Mohellibi^b, Michele Bertoni Mann^a, Paulo Guilherme Carniel Wagner^d, Fabricio Souza Campos^e, Aline Alves Scarpellini Campos^f, Jeverson Frazzon^g, Ana Paula Guedes Frazzon^{a,*}

^a Post-Graduation Program in Agricultural and Environmental Microbiology, Microbiology, Immunology, and Parasitology Department, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Jouy-en-Josas, France

^c Department of Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

^d Brazilian Institute of Environment and Renewable Natural Resources, IBAMA, Brasília, Brazil

^e Laboratory of Bioinformatics and Biotechnology, Campus de Gurupi, Federal University of Tocantins, Gurupi, TO, Brazil; Federal University of Tocantins, Federal University of Tocantins, Palmas, TO, Brazil

^f State Center for Health Surveillance, State Secretariat for Health of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

^g Biochemistry and Molecular Biology of Microorganisms Laboratory, Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Robust capuchins
Fecal microbiota
Wild south Brazilian primates
Primate conservation
Proteobacteria

ABSTRACT

Gut microbiota are influenced by factors such as diet, habitat, and social contact, which directly affect the host's health. Studies related to gut microbiota in non-human primates are increasing worldwide. However, little remains known about the gut bacterial composition in wild Brazilian monkeys. Therefore, we studied the fecal microbiota composition of wild black capuchin monkey (*Sapajus nigritus*) (n=10) populations from two different Atlantic Forest biome fragments (five individuals per fragment) in south Brazil. The bacterial community was identified via the high-throughput sequencing and partial amplification of the *16S rRNA* gene (V4 region) using an Ion Personal Genome Machine (PGMTM) System. In contrast to other studies involving monkey microbiota, which have generally reported the phyla Firmicutes and Bacteroidetes as predominant, black capuchin monkeys showed a high relative abundance of Proteobacteria (\bar{x} = 80.54%), followed by Firmicutes (\bar{x} = 12.14%), Actinobacteria (\bar{x} = 4.60%), and Bacteroidetes (\bar{x} = 1.31%). This observed particularity may have been influenced by anthropogenic actions related to the wild habitat and/or diet specific to the Brazilian biome's characteristics and/or monkey foraging behavior. Comparisons of species richness (Chao1) and diversity indices (Simpson and InvSimpson) showed no significant differences between the two groups of monkeys. Interestingly, PICRUST2 analysis revealed that metabolic pathways present in the bacterial communities were associated with xenobiotic biodegradation and the biosynthesis of secondary metabolites, which may suggest positive effects on monkey health and conservation in this anthropogenic habitat. Infectious disease-associated microorganisms were also observed in the samples. The present study provides information about the bacterial population and metabolic functions present in fecal microbiota, which may contribute to a better understanding of the ecology and biology of black capuchin monkeys living in forest fragments within the Atlantic Forest biome in southern Brazil. Additionally, the present study demonstrates that the fecal bacterial communities of wild black capuchin monkeys in this area are divergent from those of other wild non-human primates.

Abbreviations: SSC, São Sebastião do Caí; SCS, Santa Cruz do Sul; PGMTM, Personal Genome Machine; FastQC, Fast Quality Control; MultiQC, Multi Quality Control; FROGS, Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution; OTUs, Operational Taxonomic Units; SSU, Small Subunit rRNA gene; PICRUST2, Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved State; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; HTS, high-throughput sequencing.

* Corresponding author.

E-mail address: ana.frazzon@ufrgs.br (A.P.G. Frazzon).

<https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100048>

Received 9 March 2021; Received in revised form 19 June 2021; Accepted 7 July 2021

Available online 10 July 2021

2666-5174/© 2021 The Authors.

Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Primates play an important role in maintaining well-functioning forest ecosystems since they serve as key ecological agents in the environment. They play important roles in the livelihoods, cultures, and religions of many societies, contribute to plant pollination and seed dispersal, and also serve as indicator species since the health of their populations reflects the general health of an ecosystem (Marshall and Wich, 2016; Estrada et al., 2017). However, primate populations have become threatened in recent years due to anthropogenic factors such as habitat loss, hunting and trapping, logging and wood harvesting, pollution, and climate change (Estrada et al., 2017).

Of the world's 504 non-human primate species, two-thirds of them occur in Brazil, Madagascar, Indonesia, and the Democratic Republic of the Congo (Estrada et al., 2017). According to Quintela et al. (2020), there are 129 primate species in Brazil, which belong to five families: Callitrichidae, Pitheciidae, Cebidae, Atelidae, and Aotidae. The genera *Cebus* (gracile capuchin monkeys, without head tufts) and *Sapajus* (robust capuchin monkeys, with head tufts) are members of the subfamily Cebinae and endemic to Brazilian biomes. Notably, they occur in the driest (e.g., the Cerrados and Caatingas) and most humid (e.g., the Amazon and Atlantic Forest) biomes (Martins-Junior et al., 2018). Currently, eight species of *Sapajus* are recognized in Brazilian biomes: *Sapajus macrocephalus* and *Sapajus apaella* (Amazon biome); *Sapajus libidinosus* and *Sapajus cay* (Caatinga and Cerrado biomes); *Sapajus xanhosternos*, *Sapajus robustus*, *Sapajus nigritus cucullatus*, *Sapajus nigritus nigritus*, and *Sapajus flavius* (Atlantic Forest biome) (Martins-Junior et al., 2018; Quintela et al., 2020).

Robust capuchins (*Sapajus* spp.) are considered the most intelligent Neotropical primates due to their flexible social and feeding behaviors (Ludwig et al., 2005; Rímoli et al., 2008; Izar et al., 2012; Lowry et al., 2013; Aguiar et al., 2014; Falótico et al., 2018; La Salles et al., 2018; Back et al., 2019). They are medium-sized Neotropical primates (adults measure 30–56 cm and weigh 3.9–2.5 kg) that have a life expectancy of approximately 44 years in captivity and 25 years in nature (Cardoso, et al., 2021). They live in groups of approximately 10 to 30 individuals, with females tending to be philopatric and males tending to migrate before reaching sexual maturity (Izar et al., 2012; Cardoso, et al., 2021). The social structure of robust capuchins involves hierarchies of dominance among males and females (Cardoso, et al., 2021). They are true habitat generalists with an incredible dietary breadth compared to other Neotropical primates (Aguiar et al., 2014; Cardoso, et al., 2021). Their diet includes a wide variety of fruit and insects, which form the bulk of their diets. Moreover, their robust jaw morphology and behavioral adaptations for tool use and manipulative and extractive foraging allow for the exploitation of encased and hidden foods unavailable to most other non-human animals. The ability to obtain food using tools allows robust capuchins to diversify their diet and helps them easily adapt to a diverse range of environments (Aguiar et al., 2014). In fragmented patches of the Atlantic Forest biome, robust capuchins adjust their foraging patterns by exploring new feeding resources (i.e., artificial or exotic foods). Simultaneously, they must cope with stressful situations such as hunting, dog predation, electrocution, exposure to anthropogenic pollutants, intoxication, human conflict, and exposure to pathogens from humans and domesticated animals (Aguiar et al., 2014; Estrada et al., 2017). These interactions may have serious consequences for robust capuchins since bringing them into contact with a wide diversity of microorganisms might affect their health and conservation.

The resilience and persistence of some primate species to environmental changes depend on their phenotypic plasticity and/or microevolution, as well as the interactions with their gut microbiota (Barelli et al., 2020). These interactions can affect host health and behavior, appear to shape host fitness in a variety of contexts, and represent key factors in existing models of human and primate ecology and evolution (Clayton et al., 2018). Notably, the knowledge of primate microbiota has been increasing in recent years (Firman et al., 2019; Hale et al., 2019),

while factors such as diet (Greene et al., 2019b; Orkin et al., 2019^{ab}), birth form (Rendina et al., 2019), habitat (Grieneisen et al., 2019), contact with humans (Grant et al., 2019), phylogeny (Gogarten et al., 2018; Amato et al., 2019), stress responses (Vlčková et al., 2018), age (Mitchell et al., 2018) and climate change (Sun et al., 2021) have been shown to influence gut microbiota composition and diversity.

An increasing number of studies have been conducted to investigate the gut microbiota in non-human primates, many of which were conducted on captive animals from China and the United States (Koo et al., 2019; Dettmer et al., 2019; Adriansjach et al., 2020; Wu et al., 2020; Ni et al., 2021) (Supplementary Table 1). To date, few studies have evaluated the gut microbiota in non-human primates from Central and South America (Mallott and Amato, 2018; Mallott et al., 2018; Orkin et al., 2019^a; Orkin et al., 2019^b; Garber et al., 2019; Malukiewicz et al., 2019; Compo et al., 2021; Janiak et al., 2021; Quiroga-González et al., 2021). For the subfamily Cebidae, only two studies have been conducted on wild white-faced capuchins (*Cebus capucinus imitator*) from Costa Rica (Orkin et al., 2019^a; Orkin et al., 2019^b). However, no studies have described the gut microbiota of robust capuchins (*Sapajus* spp.) and a few have used culture-dependent methods (Grassotti et al., 2018; Sobreira et al., 2019; Ehlers et al., 2020; Zaniolo et al., 2020).

After five centuries of human expansion, the Atlantic Forest of Brazil faces a higher extinction rate than other Brazilian biomes. Most Atlantic Forest landscapes are composed of small forest fragments surrounded by open habitat matrices such as pastures and agricultural fields (Joly et al., 2014). Habitat degradation and exploitation are the greatest threats to biodiversity and pose serious problems for both wildlife and humans. According to the IUCN (2015), the black capuchin monkey population is relatively large (~10,000) present in seven Brazilian states (i.e., Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul). However, since this population is experiencing ongoing decline due to habitat fragmentation, urban sprawl, road and energy network development, hunting, and hybridization, the black capuchin monkey is listed as near threatened (IUCN, 2015). Although Brazil is considered a hotspot for primate conservation, studies of the wild black capuchin monkey microbiome are nonexistent. Thus, studies that evaluate the gut microbiota in wild primates in the anthropogenic environment are needed to further understand the imminent threats faced by these animals.

The evaluation of gut microbial diversity and composition helps to provide a greater understanding of the resilience of wild primates and facilitates captive population management. In this context, the present study aimed to characterize and predict the general metabolic profiles of fecal bacterial communities of two populations of wild black capuchin monkeys (*S. nigritus*) living in fragments of the Atlantic Forest biome in Southern Brazil. The present study increases our understanding of the fecal microbiota in wild non-primates and suggests that the resilience and adaptation of wild black capuchin monkeys to habitat degradation and fragmentation in the Atlantic Forest biome may be associated with their bacterial community. Besides, our study compared the fecal bacterial communities of wild black capuchin monkeys with those encountered in other non-human primates.

Materials and methods

Study area

The study area comprises two forest fragments of the Atlantic Forest biome in Rio Grande do Sul, Brazil. Notably, these forest fragments share the same phytophysiognomy (deciduous seasonal forest). This region typically features ombrophilous forest biomes with both wet and dry seasons. The climate of this region is subtropical and humid all year, with an average temperature exceeding 22 °C during the hottest month. Despite being hot and humid during most of the year, the climate preserves a cold character, for an appreciable period. This imposes restrictions on the proliferation and development of a large number of

typically tropical species. This type of forest has a high level of biodiversity and hosts one of the highest concentrations of endemic species in South America. At present, only 7.5% of the original Atlantic Forest is remaining, with a high degree of fragmentation in relation to the original vegetation cover (Socioeconomic Atlas of Rio Grande do Sul, 2019; Morellato and Haddad, 2000).

The first population of wild black capuchin monkeys lives in a forest fragment located at São Sebastião do Caí (SSC) city (29° 35' 13" S; 51° 22' 17" W) and is composed of 20–30 individuals. The second population lives in a forest fragment located within the Parque Municipal da Gruta dos Índios in Santa Cruz do Sul (SCS) city (29° 43' 03" S; 52° 25' 33" W). This population consists of 30–40 individuals (Supplementary file).

The wild black capuchin monkeys inhabiting these forest fragments eat plants and insects. Additionally, since they live near urban areas, they also have access to unintentional (e.g., through garbage) or intentional feeding by humans (e.g., fruits, vegetables, and industrialized foods such as snacks, sweets, fried foods, and more) (Wenzel and Quadro, 2012).

Sample collection

Ten rectal swabs were collected from two groups of wild black capuchin monkeys using a sterile swab introduced 3–5 cm into the rectum and rotated 360° (Table 1). Swabs were immediately placed into the Stuart transport medium (Kasvi, Paraná, Brazil) and kept at 4°C until DNA extraction.

The animals were captured using Tomahawk-type cage traps. Ketamine (100 mg/mL) and xylazine (20 mg/mL) were administered intramuscularly for wild animal immobilization (Miranda et al., 2011). Rectal swabs were collected by trained veterinarians. Physiological parameters such as rectal temperature, heart rate, and respiratory rate were recorded and used to indirectly measure the animals' welfare status. An ANOVA was used to assess the statistical difference between the weights of the animals. All animals were clinically healthy and classified according to gender and age group (Fragaszy et al., 2004). After sample collection, the animals were returned to their habitats.

The animals were captured and manipulated using conventional methods according to the protocol for sample collection described by the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio, 2012). The capture and manipulation of monkeys for sample collection were authorized by the Brazilian Institute of Environment and Renewable

Table 1
Details of wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) analyzed in this study.

Forest fragment	Sample (ID)	Gender	Age	Weight (kg)	Appearance overall	Collection date
SSC	BCM 8	F	A	2.620	Healthy*	23/08/2016
	BCM 9	F	Y	1.520	Healthy	23/08/2016
	BCM 12	F	A	2.075	Healthy	23/08/2016
	BCM 14	M	Y	1.560	Healthy	23/08/2016
	BCM 15	M	Y	2.200	Healthy	23/08/2016
SCS	BCM 23	M	A	3.755	Healthy	23/05/2017
	BCM 24	M	A	3.170	Healthy	23/05/2017
	BCM 26	F	A	2.270	Healthy	23/05/2017
	BCM 27	M	A	2.000	Healthy	23/05/2017
	BCM 28	M	A	2.200	Healthy	23/05/2017

SSC: São Sebastião do Caí; SCS: Santa Cruz do Sul; BCM: black capuchin monkey; M: male; F: female; A: adult; Y: young; *lactating.

Natural Resources (IBAMA), Brasília, Brazil, and the ICMBio. The protocol was approved by the Information Authorization System in Biodiversity (SISBIO) (number 56640). This project is registered in the National System for the Management of Genetic Heritage and Associated (SISGEN) (numbers A2CC618 and A720680).

DNA extraction

Total DNA from rectal swabs samples was extracted using MoBio's PowerSoil DNA extraction kit (ThermoFisher Scientific), according to the manufacturer's instructions. The DNA concentration was determined using the Qubit, and its quality was verified using the NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

PCR-amplification of bacterial 16S rRNA gene and sequencing

To characterize the bacterial community present into each fecal sample, the fragments of V4 region of the 16S rRNA gene were amplified using the primers 515F and 806R (Caporaso et al., 2011) and further sequenced using a PGM™ Ion Torrent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Multiple samples were PCR-amplified using barcoded primers linked with the Ion adapter "A" sequence and Ion adapter "P1" sequence to obtain a sequence of primer composed for A-barcode-806R and P1-515F adapter and primers.

PCR assays were performed with the Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), in a volume of 25 µL containing 1 × High Fidelity PCR buffer, 2U of Taq Polymerase, 2 mM MgSO₄, 0.2 mM dNTP Mix, 25 µg of Ultrapure BSA (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 0.1 µM of each primer and approximately 50 ng of DNA template and ultrapure water to complete one volume. The PCR conditions were 94°C for 5 min, followed by 30 cycles of 94°C for 45 s, 56°C for 45 s, and 68°C for 1 min, and a final extension of 68°C for 10 min.

Samples were sequenced at the Federal University of Pampa (UNI-PAMPA, São Gabriel, RS, Brazil). After purifying PCR amplicons using Agencount AMPure Beads (Beckman Coulter), library preparation with the Ion OneTouch™ 2 System fitted with the Ion PGM™ OT2 400 Kit Template (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) from an initial amount of 100 ng of PCR product. Since all samples were sequenced in a multiplexed PGM™ run, barcode sequences were used to identify each sample from the total sequencing output. Sequencing was conducted using a chip with Ion 316 chips, following the manufacturer's instructions. Sequences have been submitted and published to the EMBL database under accession number PRJEB35777. Despite the short read lengths (~290 bp), this targeted gene region provides sufficient resolution.

Bacterial community analysis

The raw data quality was evaluated with FastQC (Andrews, 2018) and a summary report was constructed with MultiQC (Ewels et al., 2016). Elimination of the adapters was done with Cutadapt v.2.3 (Martin, 2011), and the quality-filtered sequences were imported into the FROGS (Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution) pipeline (Escudé et al., 2018) to obtain the Operational Taxonomic Units (OTUs). The sequences were filtered by length (250–300 bp) and then pooled into OTUs with SWARM (Mahé et al., 2015) with the distance parameter $d = 3$. Chimeras were removed with VSEARCH (Rognes et al., 2016) and OTUs were retained with at least 190 reads in the whole dataset (corresponding to 0.1%). These steps resulted in the retention of OTUs, which were affiliated with SILVA 132 SSU databases (Quast et al., 2013), delimited at 97% identity (Edgar, 2018).

The bacterial diversity analyses were performed in R Studio v. 4.0.3 using the phyloseq package (v1.30.0) (McMurdie and Holmes, 2013). The relative abundance of species present in the samples was plotted with the plot_composition function. The taxon diversity study (richness and evenness) within the samples was estimated with plot_richness and

plotted with boxplot function using Chao1, Simpson and Inverse Simpson indexes. The numeric values were estimated with estimate_richness and statistics were performed with ANOVA and linear model regression. A heatmap with the OTU abundances at family levels was plotted using the plot_heatmap function from the ggplot2 package v3.3.0 (Wickham et al., 2010) and DESeq2 was applied to visualize differentially abundant OTUs (Love et al., 2014). A hierarchical clustering based on Jaccard distance was plotted with the ward.D2 method and permanova tests was performed between the two regions. All codes are available as supplementary material and can be found on the online version of this article.

Functional predictions from amplicon sequences

A predictive functional profile of the fecal bacterial community was conducted using PICRUSt2 software (v2.3.0) (Douglas et al., 2020). Briefly, the OTU sequences were executed using the script picrust2_pipeline.py. This script run each of the 4 key steps: (1) sequence placement, (2) hidden-state prediction of genomes, (3) metagenome

prediction, (4) pathway-level predictions. The functions predicted were categorized using the mappings table from the KEGG database (Kanehisa et al., 2017). DESeq2 method was used to determine the statistical significance of the metabolic functions between SSC and SCS monkeys (Love et al., 2014). The codes used are available at github (https://github.com/Carolkothe/Brazilian_Monkey) and all associations that produced an adjusted p-value >0.05 (using Benjamini-Hochberg method) were considered insignificant.

Results

Fecal bacterial composition of wild black capuchin monkeys

A total of 162,125 high-quality reads were obtained from the fecal samples of wild black capuchin monkeys. The DNA sequences were grouped into 84 OTUs, while seven phyla presenting relative abundances greater than 0.1% were observed in the evaluated samples. Among them, Proteobacteria exhibited the highest relative abundance

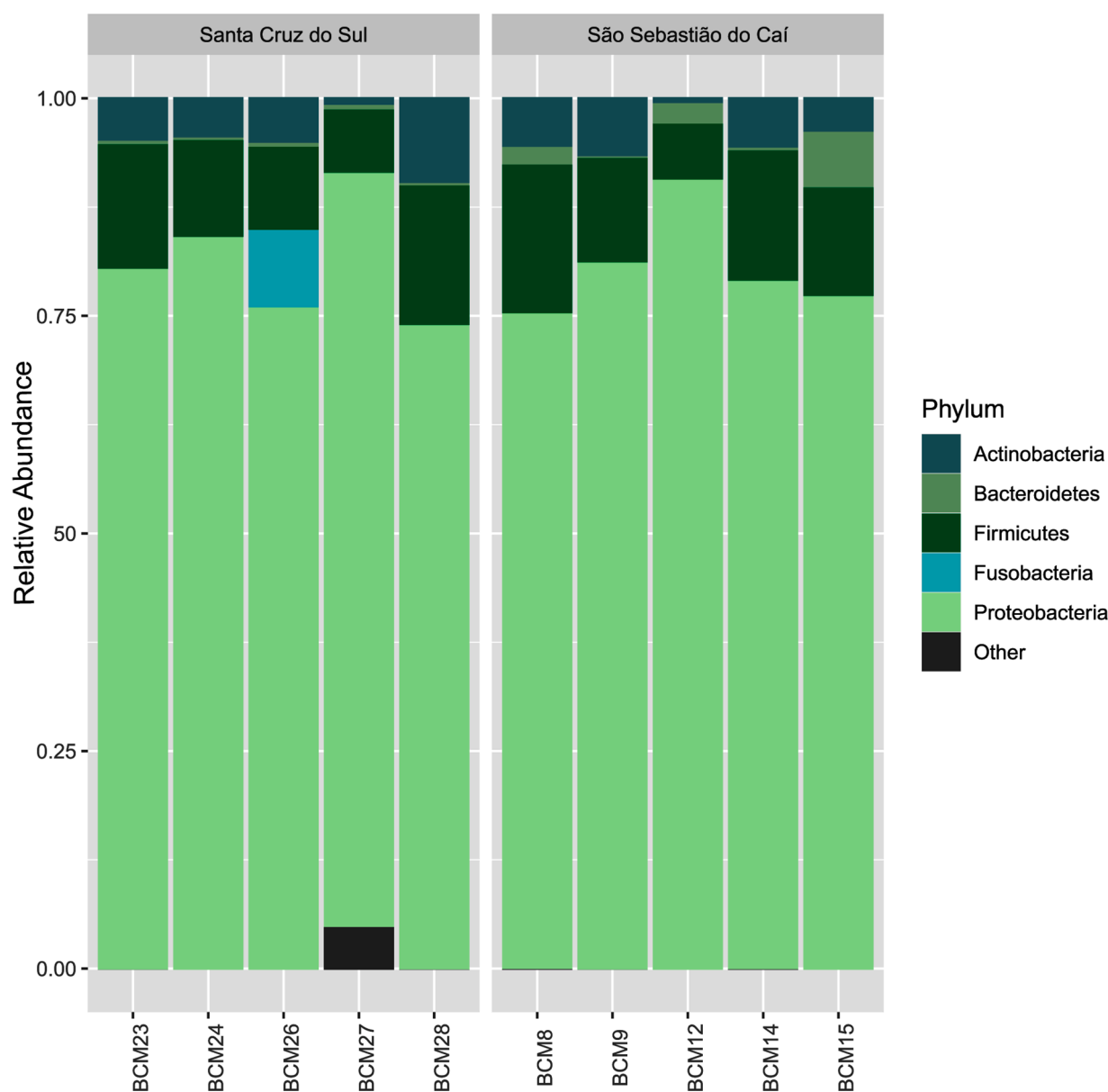


Fig. 1. Fecal bacterial composition of wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*). Taxonomic composition of the fecal microbiota found among 10 samples separated into two different locations (Santa Cruz do Sul and São Sebastião do Cai) fragments of Atlantic Forest biome in the Rio Grande do Sul State, Brazil was compared based on the relative abundance (reads per sample).

(\bar{x} = 80.54%), in the fecal microbiota of wild black capuchin monkeys, followed by Firmicutes (\bar{x} = 12.14%), Actinobacteria (\bar{x} = 4.60%), Bacteroidetes (\bar{x} = 1.31%), and other phyla (\bar{x} = 1.41%) (Fig. 1). The distribution of phyla in the fecal microbiota of wild black capuchin monkeys was similar between the two groups ($p > 0.05$ for all phyla) despite their geographic distance of 121 km (Fig. 1). In both groups, no significant differences with respect to the body weight were observed (Supplementary Fig. 1.)

A total of 142 families were detected in fecal samples; however, only

45 (\bar{x} = 34.10%) showed a relative abundance of $\geq 0.1\%$. In general, their distribution in the fecal microbiota of all wild black capuchin monkeys was very similar among the samples. The dominant families in the evaluated samples were Enterobacteriaceae (\bar{x} = 21.58%), Morganellaceae (\bar{x} = 20.89%), Burkholderiaceae (\bar{x} = 18.42%), and Streptococcaceae (\bar{x} = 4.38%) (Supplementary Fig. 2). Fecal bacterial composition results were complemented with heatmap analysis (Fig. 2).

Alpha diversity metrics (i.e., the Chao1, Simpson, and InvSimpson indices) did not exhibit any identifiable changes ($p > 0.05$) in bacterial

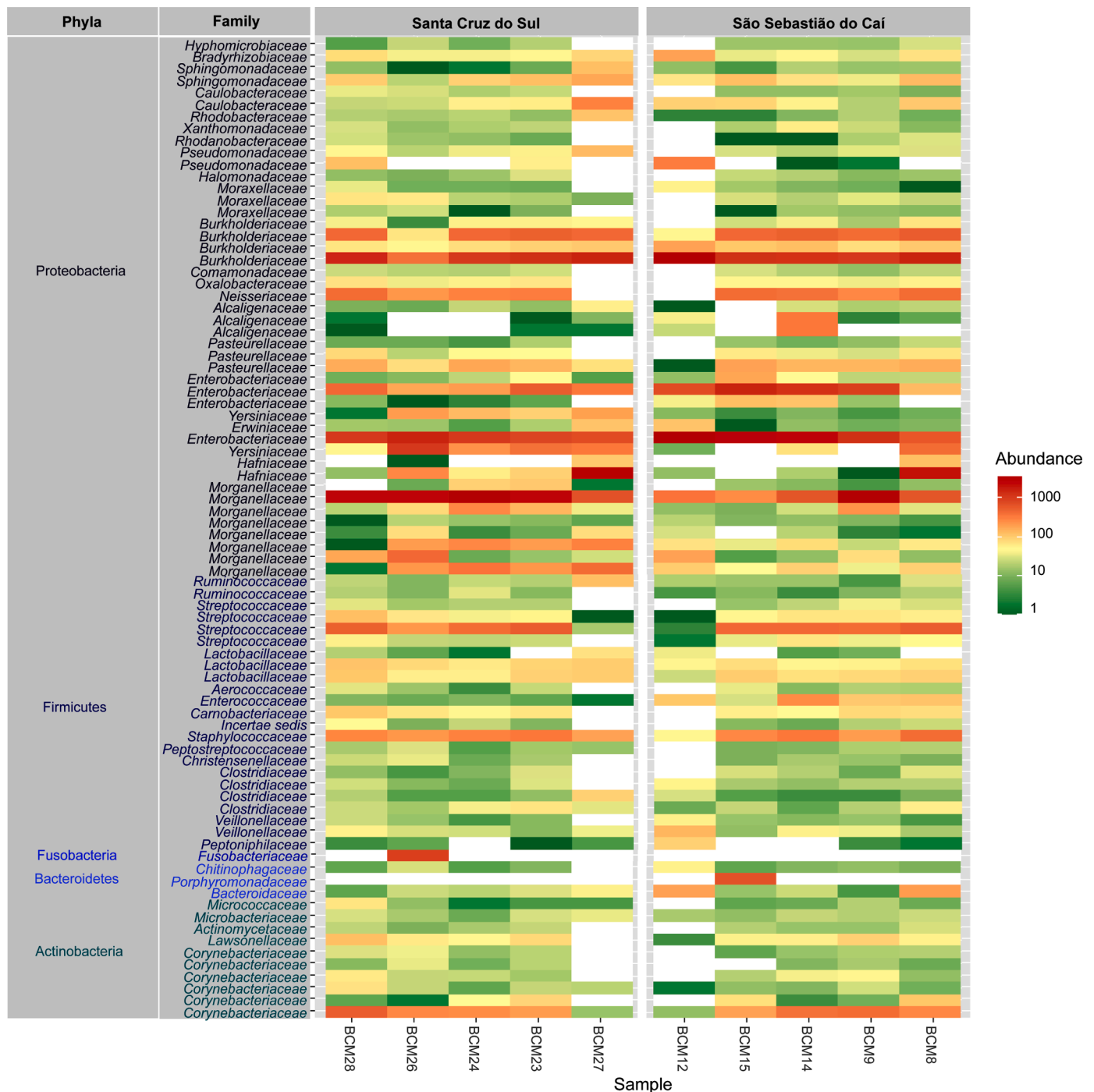


Fig. 2. Heatmap showing fecal bacterial phyla and family relative abundances among wild black capuchin monkeys from two different locations (Santa Cruz do Sul and São Sebastião do Cai) from fragments of Atlantic Forest biome in the Rio Grande do Sul State, Brazil. Each column represents an individual monkey, with the header colored according to the local sample. Color within the heatmap represents intensity of OTU relative abundances along a color scale gradient provided, where larger values represent a higher relative abundance. BCM: black capuchin monkey. Strong red indicates high positive correlation and strong green is high negative correlation.

community structure grouping from the two populations of wild black capuchin monkeys within the Atlantic Forest biome in southern Brazil (Fig. 3A; Supplementary Table 3).

Principal coordinate analysis (PCoA) plots using a binary Jaccard distance of fecal bacterial communities were used to generate the beta diversity distance matrices and calculate the degree of differentiation among samples. The mean distances between all groups were calculated and no statistically significant differences were observed between the quantitative and qualitative composition of the fecal microbiota according to the groups ($p > 0.05$) (Fig. 3B–C).

Fecal microbial functional profile prediction of wild black capuchin monkeys

The metabolic functions provided by PICRUSt2 using the 16S rRNA gene amplicon resulted in predicted proteins classified as KEGG orthologs (KOs), with a total of 254 KOs across all hosts. Moreover, the results

of the statistical test nbinomTest (DESeq2) (Anders and Huber, 2010) showed no difference in predicted function between monkeys from two forest fragments (SSC and SCS) in the KEGG pathways based on their fecal microbiomes.

Twenty pathways were observed into a two-level category for KEGG pathways, including membrane transport, amino acid metabolism, carbohydrate metabolism, energy metabolism, replication and repair systems, cofactor and vitamin metabolism, nucleotide metabolism, xenobiotic biodegradation metabolism, lipid metabolism, the metabolism of other amino acids, polypeptide and terpenoid metabolism, the biosynthesis of other secondary metabolites, and others (Supplementary Table 2). A network-wide analysis of co-occurrence dynamics between bacterial taxonomy (Fig. 4A) in the fecal samples of wild black capuchin monkeys and predicted metabolic pathways demonstrated a relationship between Proteobacteria, membrane transport, and poorly characterized metabolites.

Forty-two pathways were identified into a three-level category for

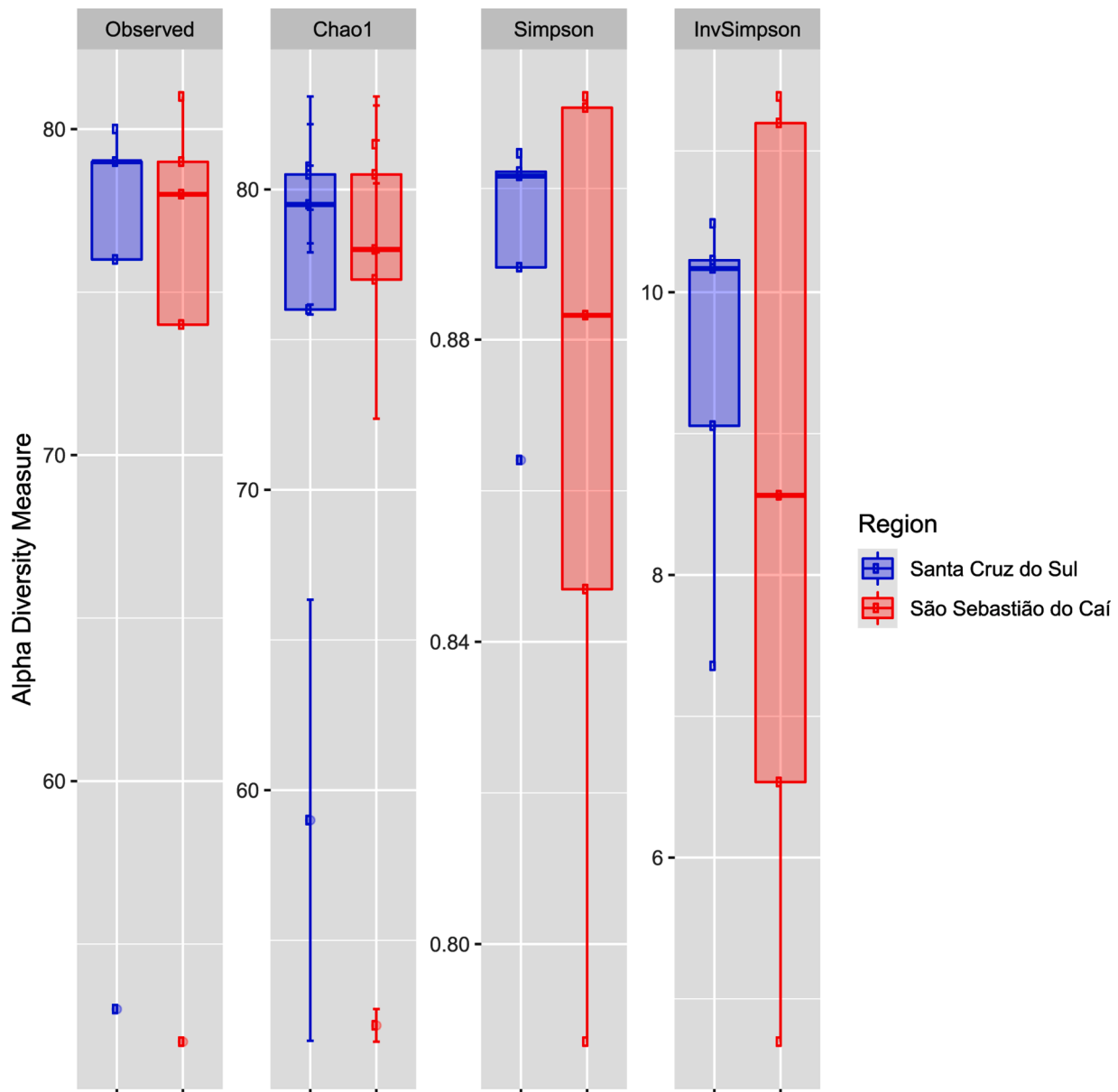


Fig. 3. Alpha- and beta-diversity analysis comparing monkeys fecal bacterial community. (A) Alpha-diversity analysis based on Chao1, Simpson and InvSimpson diversity. (B) Beta-diversity based on MDS+Jaccard distance matrix. (C) Hierarchical clustering of the monkey FMB using Jaccard distance demonstrates that no significant differences were observed among the samples. BCM: black capuchin monkey. Blue: Samples from Santa Cruz do Sul. Red: Samples from São Sebastião do Caí.

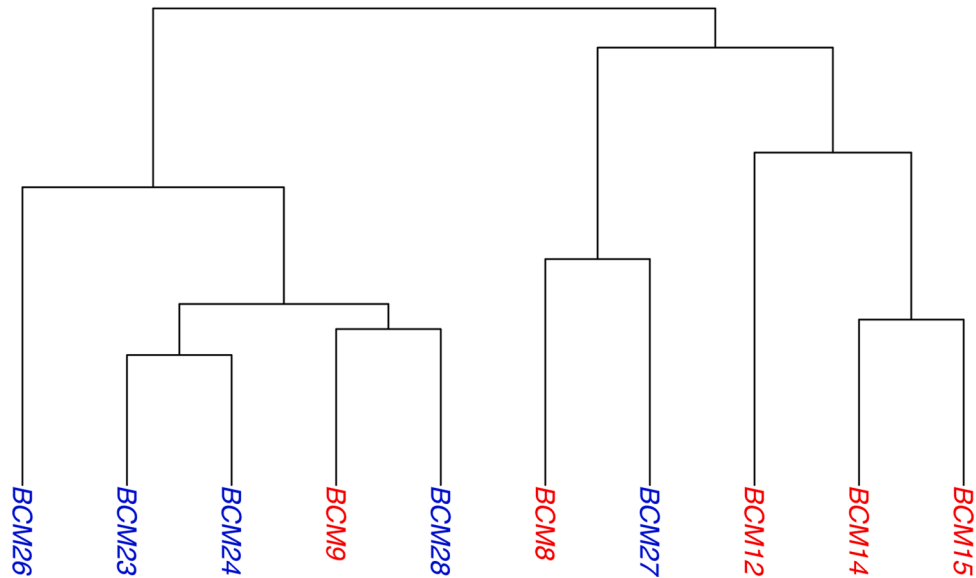
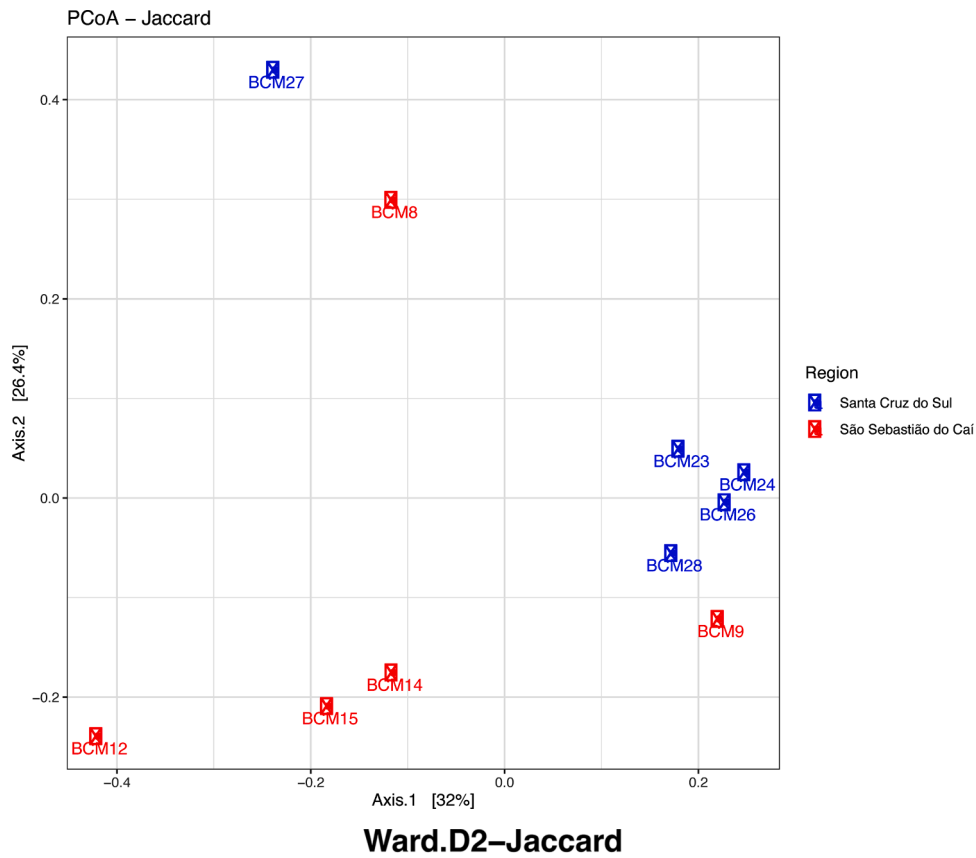


Fig. 3. (continued).

KEGG pathways. We hypothesized that functional genes involved in xenobiotic biodegradation, bacterial infectious diseases, the metabolism of terpenoids and polyketides, and the biosynthesis of secondary metabolites might be associated with anthropogenic habitats, host protection against infection, proximity to humans, and diet (Fig. 4B) (Supplementary Table 2).

Discussion

Microbiomes are multilayered, interconnected networks of microbes and their genes, which interact in time and space to produce a well-functioning host (Björk et al., 2019). The composition and diversity of fecal microbiota are shaped by many factors, including the host's evolutionary history (Youngblut et al., 2019), lifestyle (Zhong et al., 2019), diet (Barone et al., 2018), and social interactions (Dill-McFarland et al., 2019).

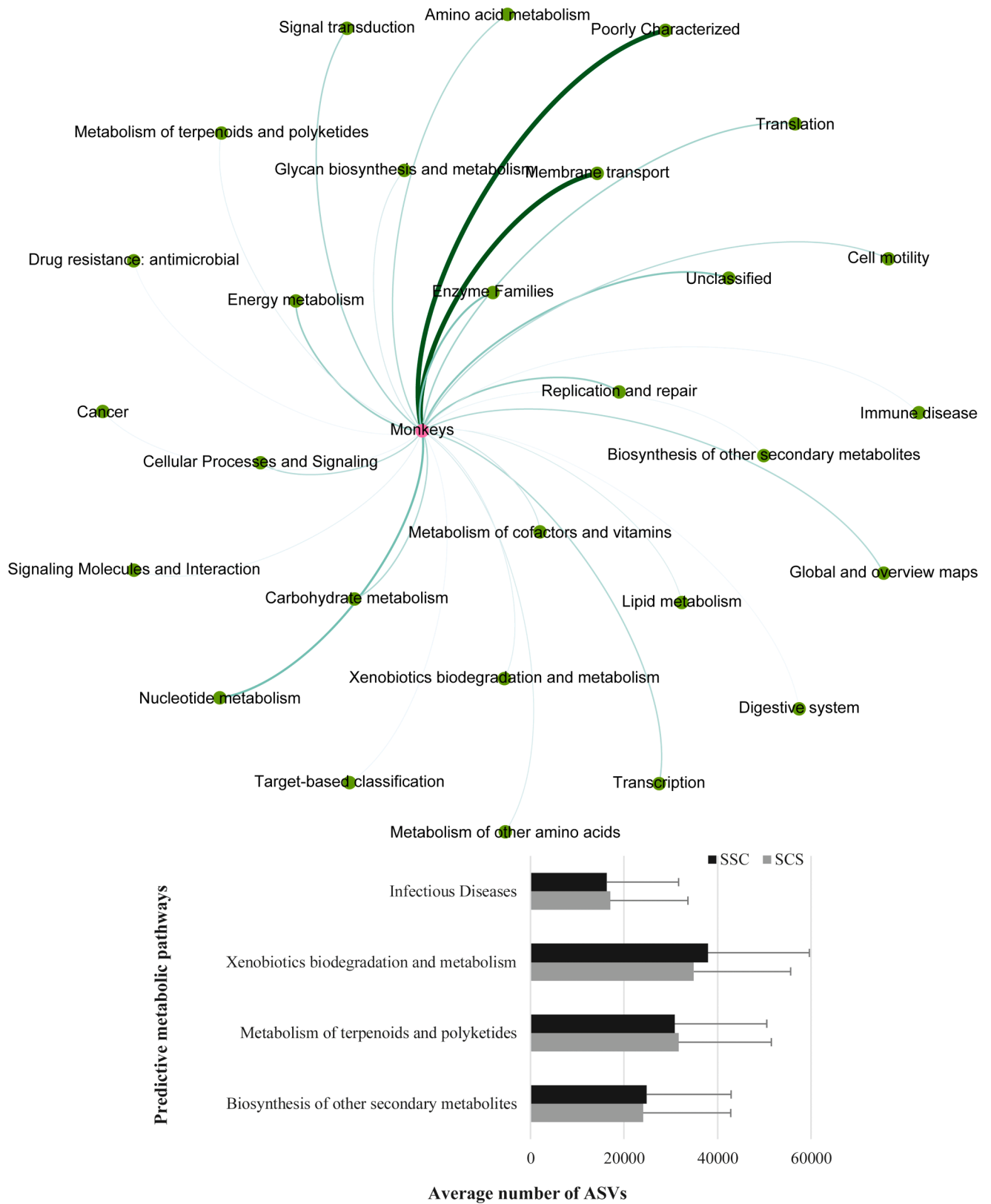


Fig. 4. Predictive metabolic pathways present in the fecal microbiome of wild black capuchin monkeys. Increasing relative abundance of the main predicted metabolic pathways in the fecal microbiota of wild black capuchin monkeys based on the KEGG. Functional predictions were conducted using PICRUSt2. (A) Network-wide analysis of co-occurrence dynamics between bacterial taxonomy in fecal microbiota of wild black capuchin monkeys and main predicted metabolic pathways. The thickness and edges colors are concordant with phyla relative abundance in fecal microbiota (dark green are the higher values; pink nodes are the monkeys; green nodes the phyla and metabolisms). (B) KEGG pathways can be seen in the bar plot. Y: Predictive metabolic pathways; X: Average number of Amplicon Sequence Variants – ASVs.

In the present work, no significant differences in the alpha-, beta-, and functional diversity of microbial communities were showed between two distinct populations of wild black capuchin monkeys living in forest fragments of the Atlantic Forest biome. This similar bacterial community composition among individuals from the same groups might be associated with the social behavior of black capuchin monkey populations, such as autocoprophagy and allocoprophagy (Prates and Bicca-Marques, 2005). Recently, our group evaluated the genetic similarity of *Enterococcus* species isolated from the fecal and oral samples of wild black capuchin monkeys from SCS using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. According to the RAPD analysis, the inter- or intra-transmission of enterococci among monkeys was observed, suggesting that autocoprophagy/allocoprophagy and affiliative behaviors might have an important role in shaping and maintaining the enterococci in wild monkeys (Grassotti et al., 2021). Beta diversity also showed no significant difference between the two populations. Although these populations are separated by more than 100 km, their habits are very similar. Notably, a study evaluating the fecal microbiomes of primates from Uganda revealed that microbiomes are strongly associated with host species, and differences in geographic location did not alter this pattern (Mccord et al., 2014).

Proteobacteria was the major phylum in the fecal microbiota of wild black capuchin monkeys. Our results are consistent with those of other studies describing a high abundance of Proteobacteria in the fecal samples of wild and captive marmoset monkeys (*Callithrix* sp.) from

Brazil (Malukiewicz et al., 2019) and wild black-and-white ruffed lemurs (*Varecia variegata*) from southeastern Madagascar (Donohue et al., 2019). However, our results differ from those of other surveys conducted on wild and captive non-human primates (Fig. 5; Supplementary Table 1) that showed a predominance of Firmicutes and/or Bacteroidetes in the gut/fecal microbiota (Artim et al., 2019; Asangba et al., 2019; Bornbusch et al., 2019; Clayton et al., 2019; Dettmer et al., 2019; Duan et al., 2019; Garber et al., 2019; Grant et al., 2019; Grieneisen et al., 2019; Hale et al., 2019; Koo et al., 2019; Lee et al., 2019; Ortiz et al., 2019; Rendina et al., 2019; Adriansjach et al., 2020; Chong et al., 2020; Li et al., 2020; Wei et al., 2020; Wu et al., 2020).

Proteobacteria is the most diverse bacterial phylum and commonly occurs in healthy mammalian gut microbiota (Shin et al., 2015; Moon et al., 2018). The dominance of this phylum is a marker for an unstable microbial community (dysbiosis) in humans and a potential diagnostic criterion for disease (Shin et al., 2015; Rizzatti et al., 2017). The dominance of Proteobacteria in the fecal samples of wild black capuchin monkeys may be associated with anthropogenic activities in the wild habitat of this species, which may affect its diet and/or foraging behavior. Regarding anthropogenic actions, human-monkey interactions have been well documented across several primate species (Back et al., 2019; Morrow et al., 2019). The wild populations of robust capuchin monkeys evaluated in this study live in forest fragments adjacent to urbanized areas and are in close contact with humans, who often feed these animals human foods (e.g., fruit, bread, candy, snacks,

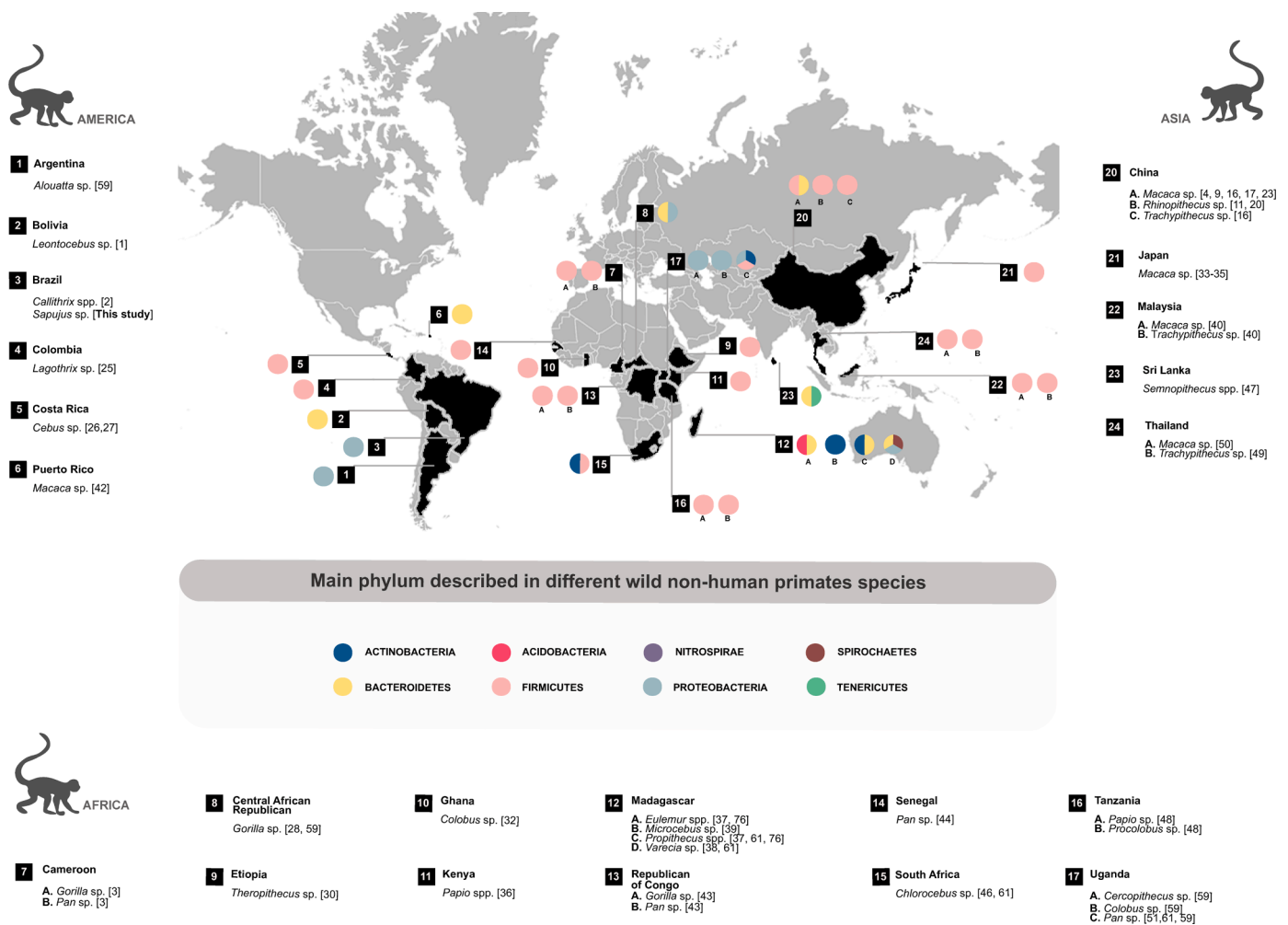


Fig. 5. Map showing the studies were published around the world examining microbial communities of non-human primates from 2019-2021. Papers counted according to the location of the non-human primate. Evaluated only papers with wild animals. Phylum indicators expressed in colors related to qualitative taxonomic diversity. Elaborated by the author.

and meat) (Wenzel and Quadro, 2012). This type of food, which is mainly provided by human visitors, has low nutritional value and high fat content (e.g., bread, candy, and snacks). As shown by Donohue et al. (2019), Proteobacteria was dominant in the fecal microbiota of wild black-and-white ruffed lemurs inhabiting a site accessible to tourists in Ranomafana National Park in Madagascar. The authors suggested that higher visitor presence and potentially increased stress contributed to this group of black-and-white ruffed lemur showing distinct microbial patterning when compared to other groups. Proteobacteria was also the most abundant phylum in marmosets (*Callithrix*) with and without hybrid status (Malukiewicz et al., 2019). The authors reported that marmosets (which have an exudivorous diet) that received food composed of protein, vegetables, fruits, and carbs had 76% more Proteobacteria in their gut microbiota than those without hybrid status. Notably, high fat intake can stimulate proteobacterial inscription in humans (Méndez-Salazar et al., 2018).

Simultaneously, the diet and feeding behavior of the wild black capuchin monkeys in this study may have also contributed to the predominance of Proteobacteria in the fecal samples. In the wild, robust capuchins eat exotic and endemic plants, flowers, and fruits as well as invertebrates and small vertebrates (Ferreira et al., 2002; Ludwig et al., 2005; Rímoli et al., 2008; Izar et al., 2012; Falótico et al., 2018). Lambais et al. (2006) reported that Proteobacteria is predominant in the phyllosphere of endemic tree species of the Brazilian Atlantic Forest, such as the catuaba or catigua (*Trichilia catigua*), red catuaba (*Trichilia clausenii*), and gabirola (*Campomanesia xanthocarpa*). These trees produce edible fruits and provide an important resource for local fauna such as wild black capuchin monkeys (Putzke et al., 2016). Van der Heide et al. (2012) showed that *T. catigua* was recorded in the diets of owl monkeys (*Aotus azarai*) in Chaco, Argentina. The ingestion of insects might also contribute to high levels of Proteobacteria in the fecal samples of wild black capuchin monkeys since this phylum has been reported as dominant in insect gut microbiota (Yun et al., 2014). Thus, the predominance of Proteobacteria may be associated with the plants and invertebrates that they collect and eat. Furthermore, robust capuchin monkeys use stone tools to access a variety of foods, which allows this species to diversify its diet and helps it easily adapt to a diverse range of environments. Furthermore, soil on the stones used by capuchin monkeys might be a source of Proteobacteria for the fecal bacterial community since this phylum is predominant in soils of the Atlantic Forest (Bruce et al., 2010).

The functional profiles of the microbiome data generated in this study were examined using PICRUSt2. Although it has been widely used in works related to the gut microbiomes of non-human primates (Clayton et al., 2019; Duan et al., 2019; Garber et al., 2019; Rendina et al., 2019; Chen et al., 2020a; Chong et al., 2020; Huan et al., 2020), these results are only considered putative and suggestive. The inference of putative microbial functional pathways from fecal microbiomes suggests pathways with positive effects on the health and conservation of monkeys facing anthropogenic environmental degradation, dietary shifts, and infections (e.g., the degradation of xenobiotics (pesticides), biosynthesis of secondary metabolites, and plant metabolism of terpenoids and polyketides). Pathways potentially related to pesticide degradation (e.g., atrazine, chloroalkane, chloroalkene, chlorocyclohexane, naphthalene, ethylbenzene, fluorobenzoate, nitrotoluene, polycyclic aromatic hydrocarbons, toluene, and xylene) were observed in our study (Supplementary Table 2). According to Pignati et al. (2017), Brazil's Rio Grande do Sul state planted 8.5 million hectares and consumed 134 million liters of pesticides. The forest fragments evaluated in our study are adjacent to areas of tobacco, maize, and citrus production. These crops require the application of pesticides, including triazine and organophosphates (Faria et al., 2014; Mendes et al., 2019). The use of pesticides in the agricultural production process has brought a series of disorders and modifications to the environment due to the contamination of human communities and/or its accumulation in biotic segments and abiotic ecosystems. Notably, wildlife can be impacted by

pesticides through their direct or indirect application (Berny, 2007). The ability of the fecal microbiome to degrade xenobiotics such as herbicides (e.g., atrazine) and pesticides (e.g., ethylbenzene) may have a beneficial effect on wild capuchin monkeys' resilience to the human-impacted environment.

Another striking observation in the fecal community was the biosynthesis of several predicted secondary metabolite biosynthetic pathways involved in the production of ansamycins, butirosin, neomycin, novobiocin, streptomycin, tetracycline, and vancomycin (Supplementary Table 2). The occurrence of the Actinomycetaceae, Streptomycetaceae, and Bacillaceae families in fecal microbiota could be related to these results. Secondary metabolism in these communities might be associated with the environmental resistome and thus host infection protection. Ansamycin and tetracycline biosynthesis in the gut communities of wild black capuchin monkeys might have corroborated with the selection of rifampicin- and tetracycline-resistant enterococci strains isolated from the rectal cavities of monkeys from these populations in previous studies by our group (Grassotti et al., 2018). Finally, the plant metabolism of terpenoids and polyketides pathways involved in the degradation of geraniol, limonene, and pinene (Supplementary Table 2) may be associated with the plants, flowers, and fruits eaten by monkeys in the Atlantic Forest. However, little is known about the biosynthesis of gut microorganisms in monkeys, which limits our understanding of the functionality of microbiomes. Therefore, further studies are essential to discover their underlying functions and mechanisms.

Furthermore, the communities of bacteria associated with infectious disease transmission were also observed in KEGG pathways, which suggests a negative effect on monkey health. Senghore et al. (2016) inferred multiple anthropogenic transmissions of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys (*Chlorocebus sabaeus*) in Africa. Recently, dos Santos et al. (2020) identified human/animal-related viruses such as Anelloviridae, Herpesviridae, Parvoviridae, Papillomaviridae, Iridoviridae, Astroviridae, Poxviridae, Baculoviridae, and Genomoviridae in oral samples from the same individual wild black capuchin monkeys from SCS evaluated in this study. The study also revealed the presence of sequences that share sequence identity with a human-related virus (i.e., Human Gammaherpesvirus 4) and a marmoset-related virus (i.e., *Callitrichine herpesvirus*). Additionally, Campos et al. (2020) also found the presence of rabies virus-neutralizing antibody in one individual of wild black capuchin monkey from SCS. The proximity between humans and wild animals has been associated with zoonotic diseases such as HIV (Peeters et al., 2002; Aghokeng et al., 2010) and the recent SARS-CoV-2 (Andersen et al., 2020). One health approach related to health as an outcome of human-environment systems is known as "health in social-ecological systems" (Zinsstag et al., 2012). Wildlife maintains balance in ecosystems, which is essential to the health of both humans and animals. Due to international concerns, it is essential to maintain microbiological control over wild animals. Therefore, one way to predict and prevent future zoonoses is through the study of the animal microbiome.

One limitation of our study is the low number of animals sampled, which is due to the difficulty of obtaining samples from wildlife. Notably, capturing and handling wild animals requires specialized equipment, the consideration of animal welfare concerns (regardless of the reason for capture), and the efforts of experienced biologists and wildlife technicians to plan and study suitable capture methods. Considering these points, the number of animals captured in the present study equivalent to 10% of the flock. However, because of the small number of subjects, the results should be interpreted with caution.

Conclusion

Wild black capuchin monkeys are endemic to the Atlantic Forest biome in Brazil and the Argentinean provinces of Iguazú and Misiones. They are listed as near threatened mainly due to population reduction

linked to habitat degradation and anthropogenic actions. This is the first study comparing fecal microbiota composition across Brazilian wild black capuchin monkeys living in the Atlantic Forest biome. We detected striking differences in fecal microbiome richness, evenness, and bacterial composition when compared to monkey microbiomes worldwide. Overall, the phylum Proteobacteria and Firmicutes were the most abundant in wild black capuchin monkeys. This similarity being observed in both groups may be due to their feeding strategies, which could be influenced by the Brazilian biome's characteristics and/or human actions in the natural environment. These factors could reduce foraging by this species, which is reflected in their fecal bacterial community.

Interestingly, metabolic prediction revealed pathways in the fecal microbiome that are associated with xenobiotic biodegradation and metabolism, terpenoid and polyketide metabolism, and the biosynthesis of other secondary metabolites. This might suggest positive effects on the health and conservation of monkeys facing anthropogenic disturbances in their environment. Notably, the presence of infectious diseases associated with microorganisms is also an important factor. Therefore, protective measures or training to reduce exposure to personal hazards are important, especially when food is being supplied by people. These results suggest the potential for hygiene measures to mitigate the negative impacts of contact between humans and monkeys to optimize the health of wild black capuchins. Ultimately, this work advances current knowledge of the fecal microbiome of this species while contributing to a better understanding of monkey health and informing conservation measures. However, more research is required to fully understand the fecal microbiome of this species and those of other non-human primate species inhabiting the Atlantic Forest biome, such as *Leontopithecus* spp., *Alouatta* spp., *Callicebus* spp. and other *Sapajus* species. Therefore, the present study provides information about the bacterial population and metabolic functions present in fecal microbiota, which contributes to a better understanding of the ecology and biology of black capuchin monkeys living in forest fragments within the Atlantic Forest biome in Brazil.

Declaration of Competing Interest

None to be declared.

Acknowledgement

The authors are grateful to Pierre Renault and Stéphane Chaillou for their general teaching on metagenomic data analysis. We are also grateful to Dr. Aline Weber Medeiros for contributions to this work.

Funding

We are grateful to the Brazilian Microbiome Project (BMP) that supported this work. We thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq—#302574/2017-0, #407886/2018-4, and #305495/2018-6) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) of the Brazilian government.

Author contributions: Tielia Trapp Grassotti: Investigation, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing, Visualization, Designing the figures. Caroline Isabel Kothe: Software, Formal analysis. Janira Prichula: Conceptualization, Writing - Review & Editing, Designing the figures. Nacer Mohellibi: Software, Formal analysis. Michele Bertoni Mann: Validation, Resources, Data Curation, Writing - Review & Editing. Paulo Guilherme Carniel Wagner: Resources. Fabricio Souza Campos: Funding acquisition. Jeverson Frazzon: Conceptualization, Methodology, Supervision, Funding acquisition. Aline Alves Scarpellini Campos: Resources. Ana Paula Guedes Frazzon: Conceptualization, Visualization, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.crmicr.2021.100048.

References

- Adriansjach, J., Baum, S.T., Lefkowitz, E.J., van Der Pol, W.J., Buford, T.W., Colman, R. J., 2020. Age-related differences in the gut microbiome of rhesus macaques. *J. Gerontol. - Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 75, 1293–1298. <https://doi.org/10.1093/gerona/glaa048>.
- Aghokeng, A.F., Ayouba, A., Mpoudi-Ngole, E., Loul, S., Liegeois, F., Delaporte, E., Peeters, M., 2010. Extensive survey on the prevalence and genetic diversity of SIVs in primate bushmeat provides insights into risks for potential new cross-species transmissions. *Infect. Genet. Evol.* 10, 386–396. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.04.014>.
- Aguiar, L.M., Cardoso, R.M., Back, J.P., Carneiro, E.C., Suzin, A., Ottoni, E.B., 2014. Tool use in urban populations of capuchin monkeys *Sapajus* spp. (Primates: Cebidae). *Zoologia* 31, 516–519. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702014000500012>.
- Amato, K.R., G. Sanders, J., Song, S.J., Nute, M., Metcalf, J.L., Thompson, L.R., Morton, J.T., Amir, A.J., McKenzie, V., Humphrey, G., Gogul, G., Gaffney, J.L., Baden, A.A.O., Britton, G.P., Cuzzo, F., Di Fiore, A.J., Dominy, N.L., Goldberg, T., Gomez, A., Kowalewski, M.M.J., Lewis, R., Link, A.L., Sauter, M., Tecot, S.A., White, B.E., Nelson, K.M., Stumpf, R., Knight, R.R., Leigh, S., 2019. Evolutionary trends in host physiology outweigh dietary niche in structuring primate gut microbiomes. *ISME J.* 13, 576–587. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0175-0>.
- Anders, S., Huber, W., 2010. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* R106. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.7.4310>.
- Andersen, K.G., Rambaut, A., Lipkin, W.I., Holmes, E.C., Garry, R.F., 2020. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.* 26, 450–452. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>.
- Andrews, S., 2018. FastQC a quality control tool for high throughput sequence data. Available from: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. Accessed on: January 12, 2021.
- Artim, S.C., Sheh, A., Burns, M.A., Fox, J.G., 2019. Evaluating rectal swab collection method for gut microbiome analysis in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *PLoS One* 14, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224950>.
- Asangba, A.E., Donohue, M.E., Lamb, A., Wright, P.C., Halajian, A., Leigh, S.R., Stumpf, R.M., 2019. Variations in the microbiome due to storage preservatives are not large enough to obscure variations due to factors such as host population, host species, body site, and captivity. *Am. J. Primatol.* 81, 1–12. <https://doi.org/10.1002/ajp.23045>.
- Fragaszy, D.M., Visalberghi, E., Fedigan, L., Rylands, A.B., 2004. Taxonomy, distribution and conservation: Where and what are they, and how did they get there? In: Fragaszy, D., Fedigan, L., Visalberghi, E. (Eds.). *The Complete Capuchin: The Biology of the Genus Cebus*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 13–35.
- Back, J.P., Suzin, A., Aguiar, L.M., 2019. Activity budget and social behavior of urban capuchin monkeys, *Sapajus* sp. (primates: Cebidae). *Zoologia* 36, 1–10. <https://doi.org/10.3897/zoologia.36.e30845>.
- Barelli, C., Albanese, D., Stumpf, R.M., Asangba, A., Donati, C., Rovero, F., Hauffe, H.C., 2020. The gut microbiota communities of wild arboreal and ground-feeding tropical primates are affected differently by habitat disturbance. *mSystems* 5, 1–18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00061-20>.
- Berny, P., 2007. Pesticides and the intoxication of wild animals. *J. vet. Pharmacol. Ther.* 30, 93–100.
- Barone, M., Turrone, S., Rampelli, S., Soverini, M., D'Amico, F., Biagi, E., Brigidi, P., Troiani, E., Candela, M., 2018. Gut microbiome response to a modern Paleolithic diet in a Western lifestyle context. *bioRxiv* 1–14. <https://doi.org/10.1101/494187>.
- Björk, J.R., Dasari, M., Grieneisen, L., Archie, E.A., 2019. Primate microbiomes over time: Longitudinal answers to standing questions in microbiome research. *Am. J. Primatol.* 81, 1–23. <https://doi.org/10.1002/ajp.22970>.
- Bornbusch, S.L., Greene, L.K., McKenney, E.A., Volkoff, S.J., Midani, F.S., Joseph, G., Gerhard, W.A., Hothalu, U., Granek, J., Gunsch, C.K., 2019. A comparative study of gut microbiomes in captive nocturnal strepsirrhines. *Am. J. Primatol.* 81, 1–10. <https://doi.org/10.1002/ajp.22986>.
- Bruce, T., Martinez, I.B., Neto, O.M., Vicente, A.C.P., Kruger, R.H., Thompson, F.L., 2010. Bacterial community diversity in the Brazilian Atlantic forest soils. *Microb. Ecol.* 60, 840–849. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9750-2>.
- Campos, A.A.S., dos Santos, R.N., Benavides, J.A., de Carvalho Ruthner Batista, H.B., Finoketti, F., Wagner, P.G.C., Zafalon-Silva, B., Alievi, M., da Silva, F.B., Witt, A., Tartarotti, A., de Cassia Rodrigues da Silva, A., Ferreira, K.C.S., Frazzon, A.P.G., Roehe, P.M., Franco, A.C., 2020. Rabies surveillance in wild mammals in South of Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 67, 906–913. <https://doi.org/10.1111/tbed.13415>.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 4516–4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.100080107>.
- Cardoso, D.L., Guimarães, D.A.A., Mayor, P., Ferreira, M.A.P., Dias, H.L.T., Espinheiro, R. F., Monteiro, F.O.B., 2021. Reproductive biology of owl (*Aotus* spp.) and capuchin (*Sapajus* spp.) monkeys. *Anim. Rep. Sci.* 227, 106732 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106732>.
- Chen, T., Li, Yuhui, Liang, J., Li, Youbang, Huang, Z., 2020a. Variations in the gut microbiota of sympatric François' langurs and rhesus macaques living in limestone

- forests in southwest Guangxi, China. *Glob. Ecol. Conserv.* 22, e00929. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00929>.
- Chen, T., Li, Yuhui, Liang, J., Li, Youbang, Huang, Z., 2020b. Gut microbiota of provisioned and wild rhesus macaques (*Macaca mulatta*) living in a limestone forest in southwest Guangxi, China. *Microbiologyopen* 9, 1–20. <https://doi.org/10.1002/mbo3.981>.
- Chong, C.W., Alkathheeri, A.H.S., Ali, N., Tay, Z.H., Lee, Y.L., Paramasivam, S.J., Jeevaratnam, K., Low, W.Y., Lim, S.H.E., 2020. Association of antimicrobial resistance and gut microbiota composition in human and non-human primates at an urban ecotourism site. *Gut Pathog.* 12, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13099-020-00352-x>.
- Clayton, J.B., Gomez, A., Amato, K., Knights, D., Travis, D.A., Blekhan, R., Knight, R., Leigh, S., Stumpf, R., Wolf, T., Glander, K.E., Cabana, F., Johnson, T.J., 2018. The gut microbiome of nonhuman primates: lessons in ecology and evolution. *Am. J. Primatol.* 80, 1–27. <https://doi.org/10.1002/ajp.22867>.
- Clayton, J.B., Shields-Cutler, R.R., Hoops, S.L., Al-Ghalith, G.A., Sha, J.C.M., Johnson, T. J., Knights, D., 2019. Bacterial community structure and function distinguish gut sites in captive red-shanked doucs (*Pygathrix nemaeus*). *Am. J. Primatol.* 81, 1–15. <https://doi.org/10.1002/ajp.22977>.
- Compo, N.R., Mielles-Rodríguez, L., Gomez, D.E., 2021. Fecal bacterial microbiota of healthy free-ranging, healthy corralled, and chronic diarrheic corralled rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Comp. Med.* <https://doi.org/10.30802/aalas-cm-20-000080>.
- Dettmer, A.M., Allen, J.M., Jaggars, R.M., Bailey, M.T., 2019. A descriptive analysis of gut microbiota composition in differentially reared infant rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) across the first 6 months of life. *Am. J. Primatol.* 81, 1–9. <https://doi.org/10.1002/ajp.22969>.
- Dill-McFarland, K.A., Tang, Z.Z., Kemis, J.H., Kerby, R.L., Chen, G., Palloni, A., Sorenson, T., Rey, F.E., Herd, P., 2019. Close social relationships correlate with human gut microbiota composition. *Sci. Rep.* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37298-9>.
- Donohue, M.E., Asangba, A.E., Ralainirina, J., Weisrock, D.W., Stumpf, R.M., Wright, P. C., 2019. Extensive variability in the gut microbiome of a highly-specialized and critically endangered lemur species across sites. *Am. J. Primatol.* 81, 1–12. <https://doi.org/10.1002/ajp.23046>.
- dos Santos, R.N., Campos, F.S., Finoketti, F., dos Santos, A.C., Campos, A.A.S., Wagner, P. G.C., Roehle, P.M., de Carvalho Ruthner Batista, H.B., Franco, A.C., 2020. Viral diversity in oral cavity from *Sapajus nigritus* by metagenomic analyses. *Brazilian J. Microbiol.* 51, 1941–1951. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00350-w>.
- Douglas, G.M., Maffei, V.J., Zaneveld, J.R., Yurgel, S.N., Brown, J.R., Taylor, C.M., Huttenhower, C., Langille, M.G.I., 2020. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nat. Biotechnol.* 38, 685–688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>.
- Duan, J., Yin, B., Li, W., Chai, T., Liang, W., Huang, Y., Tan, X., Zheng, P., Wu, J., Li, Yifan, Li, Yan, Zhou, W., Xie, P., 2019. Age-related changes in microbial composition and function in cynomolgus macaques. *Aging (Albany, NY)* 11, 12080–12096. <https://doi.org/10.18632/aging.102541>.
- Edgar, R.C., 2018. Updating the 97% identity threshold for 16S ribosomal RNA OTUs. *Bioinformatics* 34, 2371–2375. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty113>.
- Ehlers, L.P., Bianchi, M.V., Argenta, F.F., Lopes, B.C., Taunde, P.A., Wagner, P.G.C., Driemeier, D., Pavarini, S.P., Mayer, F.Q., Siqueira, F.M., Sonne, L., 2020. *Mycobacterium tuberculosis* var. *tuberculosis* infection in two captive black capuchins (*Sapajus nigritus*) in Southern Brazil. *Brazilian J. Microbiol.* 51, 2169–2173. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00339-5>.
- Escudé, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G., 2018. FROGS: find, rapidly, OTUs with galaxy solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>.
- Estrada, A., Garber, P.A., Rylands, A.B., Roos, C., Fernandez-Duque, E., Fiore, A., Di, Anne-Isola, Nekaris, K., Nijman, V., Heymann, E.W., Lambert, J.E., Rovero, F., Barelli, C., Setchell, J.M., Gillespie, T.R., Mittermeier, R.A., Arregoitia, L.V., de Guinea, M., Gouveia, S., Dobrovolski, R., Shanee, S., Shanee, N., Boyle, S.A., Fuentes, A., MacKinnon, K.C., Amato, K.R., Meyer, A.L.S., Wich, S., Sussman, R.W., Pan, R., Kone, I., Li, B., 2017. Impending extinction crisis of the world's primates: why primates matter. *Sci. Adv.* 3 <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600946>.
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., Käller, M., 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* 32, 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>.
- Falótico, T., Verderane, M.P., Mendonça-Furtado, O., Spagnoletti, N., Ottoni, E.B., Visalberghi, E., Izar, P., 2018. Food or threat? Wild capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) as both predators and prey of snakes. *Primates* 59, 99–106. <https://doi.org/10.1007/s10329-017-0631-x>.
- Faria, N.M.X., Fassa, A.G., Meucci, R.D., Fiori, N.S., Miranda, V.I., 2014. Occupational exposure to pesticides, nicotine and minor psychiatric disorders among tobacco farmers in southern Brazil. *Neurotoxicology* 45, 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.05.002>.
- Ferreira, R., Resende, B.D., Mannu, M., Ottoni, E.B., Izar, P., 2002. Bird predation and prey-transfer in brown capuchin monkey. *Neotrop. Primates* 10, 84–89.
- Firman, J., Liu, L.S., Tanes, C., Bittinger, K., Mahalak, K., Rinaldi, W., 2019. Metagenomic assessment of the *Cebus apella* gut microbiota. *Am. J. Primatol.* 81, 10–11. <https://doi.org/10.1002/ajp.23023> <https://doi.org/e23023> <https://doi.org/10.1002/ajp.23003>.
- Garber, P.A., Mallott, E.K., Porter, L.M., Gomez, A., 2019. The gut microbiome and metabolome of saddleback tamarins (*Leontocebus weddellii*): Insights into the foraging ecology of a small-bodied primate. *Am. J. Primatol.* 81, 1–13. <https://doi.org/10.1002/ajp.23003>.
- Gogarten, J.F., Davies, T.J., Benjamino, J., Gogarten, J.P., Graf, J., Mielke, A., Mundry, R., Nelson, M.C., Wittig, R.M., Leendertz, F.H., Calvignac-Spencer, S., 2018. Factors influencing bacterial microbiome composition in a wild non-human primate community in Tai National Park, Côte d'Ivoire. *ISME J.* 12, 2559–2574. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0166-1>.
- Grant, E., Kyes, R.C., Kyes, P., Trinh, P., Ramirez, V., Taneer, T., Pinlaor, P., Dangtakot, R., Rabinowitz, P.M., 2019. Fecal microbiota dysbiosis in macaques and humans within a shared environment. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/510065>.
- Grassotti, T.T., Zvoboda, D.de A., Costa, L.da F.X., Cristiano, F.D.P., Mann, M.B., Wagner, P.G.C., Campos, A.A.S., Frazzon, J., Frazzon, A.P.G., 2021. Intra and inter-monkey transmission of bacteria in wild black capuchins monkeys (*Sapajus nigritus*): a preliminary study. In press *Braz. J. Biol.* 88. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.237460>.
- Grassotti, T.T., De Angelis Zvoboda, D., Da Fontoura Xavier Costa, L., De Araújo, A.J.G., Pereira, R.I., Soares, R.O., Wagner, P.G.C., Frazzon, J., Frazzon, A.P.G., 2018. Antimicrobial resistance profiles in *Enterococcus* spp. isolates from fecal samples of wild and captive black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) in South Brazil. *Front. Microbiol.* 9, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02366>.
- Greene K, L, Bornbusch S. L., McKenney E. A., Harris R. L., Gorvettian S. R., Yoder A. D., Drea C. M., 2019a. The importance of scale in comparative microbiome research: New insights from the gut and glands of captive and wild lemurs. *American Journal of Primatology* e22974. <https://doi.org/10.1002/ajp.22974>.
- Greene, L.K., Clayton, J.B., Rothman, R.S., Semel, B.P., Semel, M.A., Gillespie, T.R., Wright, P.C., Drea, C.M., 2019b. Local habitat, not phylogenetic relatedness, predicts gut microbiota better within folivorous than frugivorous lemur lineages. *Biol. Lett.* 15, 5–11. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0028>.
- Grieneisen, L.E., Charpentier, M.J.E., Alberts, S.C., Blekhan, R., Bradburd, G., Tung, J., Archie, E.A., 2019. Genes, geology and germs: Gut microbiota across a primate hybrid zone are explained by site soil properties, not host species. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 286 <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0431>.
- Hale, V.L., Tan, C.L., Niu, K., Yang, Y., Zhang, Q., Knight, R., Amato, K.R., 2019. Gut microbiota in wild and captive Guizhou snub-nosed monkeys, *Rhinopithecus brelichi*. *Am. J. Primatol.* 81 <https://doi.org/10.1002/ajp.22989>.
- Huan, Z., Yao, Y., Yu, J., Chen, H., Li, M., Yang, C., Zhao, B., Ni, Q., Zhang, M., Xie, M., Xu, H., 2020. Differences in the gut microbiota between Cercopithecinae and Colobinae in captivity. *J. Microbiol.* 58, 367–376. <https://doi.org/10.1007/s12275-020-9493-9>.
- ICMBio, 2012. In: *Protocolo para Coleta de Dados sobre Primatas em Unidades de Conservação da Amazônia. Brasília, Brazil*, pp. 1–38.
- IUCN, 2015. Black-horned Capuchin *Sapajus nigritus*. Available from: <https://www.iucnredlist.org/species/136717/70614508>. Accessed on: February 27, 2021.
- Izar, P., Verderane, M.P., Peternelli-dos-Santos, L., Mendonça-Furtado, O., Presotto, A., Tokuda, M., Visalberghi, E., Fragaszy, D., 2012. Flexible and conservative features of social systems in tufted capuchin monkeys: comparing the socioecology of *Sapajus libidinosus* and *Sapajus nigritus*. *Am. J. Primatol.* 74, 315–331. <https://doi.org/10.1002/ajp.20968>.
- Janiak, M.C., Montague, M.J., Villamil, C.I., Stock, M.K., Trujillo, A.E., DePasquale, A.N., Orkin, J.D., Bauman Surratt, S.E., Gonzalez, O., Platt, M.L., Martínez, M.I., Antón, S. C., Dominguez-Bello, M.G., Melin, A.D., Higham, J.P., 2021. Age and sex-associated variation in the multi-site microbiome of an entire social group of free-ranging rhesus macaques. *Microbiome* 9, 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01009-w>.
- Joly, C.A., Joly, C.A., Metzger, J.P., Tabarelli, M., 2014. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytologist* 204, 459–473. <https://doi.org/10.1111/nph.12989>.
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., Morishima, K., 2017. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Res.* 45, D353–D361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>.
- Koo, B.S., Hwang, E.H., Kim, G., Oh, H., Son, Y., Lee, D., Lim, K.S., Kang, P., Lee, S., Lee, H.Y., Jeong, K.J., Lee, Y., Baek, S.H., Jeon, C.Y., Park, S.J., Kim, Y.H., Huh, J.W., Jin, Y.B., Kim, S.U., Lee, S.R., Hong, J.J., 2019. Evaluation of fecal microbiomes associated with obesity in captive cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Vet. Sci.* 20, e19. <https://doi.org/10.4142/jvs.2019.20.e19>.
- Lambais, M.R., Crowley, D.E., Cury, J.C., Bull, R.C., Rodrigues, R.R., 2006. Bacterial diversity in tree canopies of the atlantic forest. *Science* 30. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6418-1_119-1.
- La Salles, A.Y.F., Carreiro, A.N., Medeiros, G.X., Muniz, J.A.P.C., Menezes, D.J.A., 2018. Biological and behavioral aspects of *Sapajus libidinosus*. *Review. Pubvet.* 12, 1–13. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n1a8.1-13>.
- Lee, W., Hayakawa, T., Kiyono, M., Yamabata, N., Hanya, G., 2019. Gut microbiota composition of Japanese macaques associates with extent of human encroachment. *Am. J. Primatol.* 81, 1–14. <https://doi.org/10.1002/ajp.23072>.
- Li, H.Z., Li, N., Wang, J.J., Li, H., Huang, X., Guo, L., Zheng, H.W., He, Z.L., Zhao, Y., Yang, Z.N., Fan, H.T., Chu, M.M., Yang, J.X., Wu, Q.W., Liu, L.D., 2020. Dysbiosis of gut microbiome affecting small intestine morphology and immune balance: a rhesus macaque model. *Zool. Res.* 41, 20–31. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2020.004>.
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.
- Lowry, H., Lill, A., Wong, B.B.M., 2013. Behavioural responses of wildlife to urban environments. *Biol. Rev.* 88, 537–549. <https://doi.org/10.1111/brv.12012>.
- Ludwig, G., Aguiar, L.M., Rocha, V.J., 2005. Uma avaliação da dieta, da área de vida e das estimativas populacionais de *Cebus nigritus* (Goldfuss, 1809) em um fragmento florestal no norte do estado do Paraná. *Neotrop. Primates* 13, 12–18. <https://doi.org/10.1896/1413-4705.13.3.12>.

- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M., 2015. Swarmv2: highly-scalable and high-resolution amplicon clustering. *PeerJ* 1–12. <https://doi.org/10.7717/peerj.1420>.
- Mallott, E.K., Amato, K.R., 2018. The microbial reproductive ecology of white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). *Am. J. Primatol.* 80, e22896. <https://doi.org/10.1002/ajp.22896>.
- Mallott, E.K., Amato, K.R., Garber, P.A., Malhi, R.S., 2018. Influence of fruit and invertebrate consumption on the gut microbiota of wild white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). *Am. J. Phys. Anthropol.* 165 <https://doi.org/10.1002/ajpa.23395> <https://doi.org/576-588>.
- Malukiewicz, J., Cartwright, R.A., Dergam, J.A., Igayara, C.S., Kessler, S., Moreira, S.B., Nash, L.T., Nicola, P.A., Pereira, L.C.M., Pissinatti, A., Ruiz-Miranda, C.R., Ozga, A.T., Roos, C., Silva, D.L., Stone, A.C., Grativol, A.D., 2019. The effects of host taxon, hybridization, and environment on the gut microbiome of *Callithrix* marmosets. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/708255>.
- Marshall, A.J., Wich, S.A., 2016. Why conserve primates? In: Wich, S.A., Marshall, A.J. (Eds.). *An Introduction to Primate Conservation*. Oxford University Press, pp. 13–29. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198703389.003.0002>.
- Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapters sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet J* 10–12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.
- Martins-Junior, A.M.G., Carneiro, J., Sampaio, I., Ferrari, S.F., Schneider, H., 2018. Phylogenetic relationships among Capuchin (Cebidae, Platyrrhini) lineages: An old event of sympatry explains the current distribution of *Cebus* and *Sapajus*. *Genet. Mol. Biol.* 41, 699–712. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0012>.
- Mccord, A.I., Chapman, C.A., Wen, G., Tumukunde, A., Hyeroba, D., Klotz, K., Koblings, A.S., Mboru, D.N.M., Cregger, M., White, B.A., Leigh, S.R., Goldberg, T.L., 2014. Fecal microbiomes of non-human primates in Western Uganda reveal species-specific communities largely resistant to habitat perturbation. *Am. J. Primatol.* 76, 347–354. <https://doi.org/10.1002/ajp.22238>.
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
- Mendes, K.F., Shiroma, A.T., Pimpinato, R.F., Reis, M.R., Tornisiello, V.L., 2019. Transport of atrazine via leaching in agricultural soil with mineral oil addition. *Planta Daninha* 37, 1–7. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100108>.
- Méndez-Salazar, E.O., Ortiz-López, M.G., Granados-Silvestre, M.D.L.A., Palacios-González, B., Menjivar, M., 2018. Altered gut microbiota and compositional changes in firmicutes and proteobacteria in mexican undernourished and obese children. *Front. Microbiol.* 9, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02494>.
- Miranda, C.B. de, Cabala, R.W., Diz, J.B.C., Atan, Müller, L.C.C.M., Silva, P.C., De, L.A., Vivas, M., Ferreira, M.L., 2011. Drug retention in non-human primates with employment of ketamine and xylazine. A review. *Pubvet* 5.
- Mitchell, E.L., Davis, A., Brass, K., Dendinger, M., Barner, R., Gharaibeh, R., Fodor, A., Kavanagh, K., 2018. Reduced intestinal motility, mucosal barrier function, and inflammation in aged monkeys. *J. Nutr. Heal. Aging* 21, 354–361. <https://doi.org/10.1007/s12603-016-0725-y-REDUCED>.
- Moon, C.D., Young, W., Maclean, P.H., Cookson, A.L., Bermingham, E.N., 2018. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. *Microbiologyopen* 7, 1–20. <https://doi.org/10.1002/mbo3.677>.
- Morelato, L.P.C., Haddad, C.F.B., 2000. Introduction: The Brazilian atlantic forest. *Biotropica* 32, 786–792. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2000.tb00618.x>.
- Morrow, K.S., Glanz, H., Ngakan, P.O., Riley, E.P., 2019. Interactions with humans are jointly influenced by life history stage and social network factors and reduce group cohesion in moor macaques (*Macaca maura*). *Sci. Rep.* 9, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56288-z>.
- Ni, Q., Zhang, C., Li, D., Xu, H., 2021. *Front. Microbiol.* 12, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.650991>.
- Orkin, Joseph D., Campos, F.A., Myers, M.S., Cheves Hernandez, S.E., Guadamuz, A., Melin, A.D., 2019a. Seasonality of the gut microbiota of free-ranging white-faced capuchins in a tropical dry forest. *ISME J* 13, 183–196. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0256-0>.
- Orkin, Joseph Daniel, Webb, S.E., Melin, A.D., 2019b. Small to modest impact of social group on the gut microbiome of wild Costa Rican capuchins in a seasonal forest. *Am. J. Primatol.* 81, 1–10. <https://doi.org/10.1002/ajp.22985>.
- Ortiz, A.M., Flynn, J.K., DiNapoli, S.R., Sortino, O., Vujkovic-Cvijin, I., Belkaid, Y., Sereti, I., Brenchley, J.M., 2019. Antiretroviral therapy administration in healthy rhesus macaques is associated with transient shifts in intestinal bacterial diversity and modest immunological perturbations. *J. Virol.* 93 <https://doi.org/10.1128/jvi.00472-19>.
- Peeters, M., Courgnaud, V., Abela, B., Auzel, P., Pourrut, X., Bibollet-Ruche, F., Loul, S., Liegeois, F., Butel, C., Koulagna, D., Mpoudi-Ngole, E., Shaw, G.M., Hahn, B.H., Delaporte, E., 2002. Risk to human health from a plethora of Simian immunodeficiency viruses in primate bushmeat. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 451–457. <https://doi.org/10.3201/eid0805.010522>.
- Pignatti, W.A., e Lima, F.A.N.de S., de Lara, S.S., Correa, M.L.M., Barbosa, J.R., Leão, L.H. D.C., Pignatti, M.G., 2017. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: Uma ferramenta para a vigilância em saúde. *Cienc. e Saude Coletiva* 22, 3281–3293. <https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017>.
- Prates, H.M., Bicca-Marques, J.C., 2005. Coprophagy in captive brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neotrop. Primates* 13, 18–21. <https://doi.org/10.1896/1413-4705.13.3.18>.
- Putzke, J., Küster, M., Köhler, A., Santos, M., 2016. Biodiversidade vegetal no parque ambiental Da Souza Cruz Em Santa Cruz Do Sul-Rs. *Brasil. Cad. Pesqui.* 28, 52–141.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, 590–596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Quintela, F.M., da Rosa, C.A., Feijó, A., 2020. Updated and annotated checklist of recent mammals from Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 92, 1–57. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020191004>.
- Quiroga-González, C., Cardenas, L.A.C., Ramírez, M., Reyes, A., González, C., Stevenson, P.R., 2021. Monitoring the variation in the gut microbiota of captive woolly monkeys related to changes in diet during a reintroduction process. *Sci. Rep.* 11, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85990-0>.
- Rendina, D.N., Lubach, G.R., Phillips, G.J., Lyte, M., Coe, C.L., 2019. Maternal and breast milk influences on the infant gut microbiome, enteric health and growth outcomes of rhesus monkeys. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 69, 363–369. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002394>.
- Rímoli, J., Strier, K.B., Ferrari, S.F., 2008. Seasonal and longitudinal variation in the behavior of free-ranging black tufted capuchins *Cebus nigritus* (Goldfuss, 1809) in a fragment of Atlantic forest in southeastern Brazil. In: Rímoli, J., Strier, K.B., Ferrari, S.F. (Eds.). *A Primatologia no Brasil, Aracaju, Sociedade Brasileira de Primatologia. Biologia Geral e Experimental – UFS*, pp. 130–146.
- Rizzatti, G., Lopetuso, L.R., Gibiino, G., Binda, C., Gasbarrini, A., 2017. Proteobacteria: A common factor in human diseases. *Biomed Res. Int.* 2017 <https://doi.org/10.1155/2017/9351507>.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 2016, 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>.
- Senghore, M., Bayliss, S.C., Kwambana-Adams, B.A., Foster-Nyarko, E., Manneh, J., Dione, M., Badji, H., Ebruke, C., Doughty, E.L., Thorpe, H.A., Jasinska, A.J., Schmitt, C.A., Cramer, J.D., Turner, T.R., Weinstock, G., Freimer, N.B., Pallen, M.J., Feil, E.J., Antonio, M., 2016. Transmission of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys in the Gambia as revealed by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 5910–5917. <https://doi.org/10.1128/AEM.01496-16>.
- Shin, N.R., Whon, T.W., Bae, J.W., 2015. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol.* 33, 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.011>.
- Sobreira, E.de A., Braga, C.A.da S.B., Rahal, S.C., Ribeiro, E.L., Vasconcelos, L.S.N.de O. L., Carneiro, L.C., Teixeira, C.R., de Almeida, C.C.D., Haddad Júnior, V., 2019. Oral microbiota and their antibiotic susceptibility in free-living monkeys in Goiás state, Brazil: repercussions for injuries in humans. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 52, 4–7. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0294-2018>.
- Socioeconomic Atlas of Rio Grande do Sul, 2019. Available from: <https://www.socioeconomicatlas.rs.gov.br/atlantic-forest>. Access on: April 26, 2021.
- Sun, B., Xu, X., Xia, Y., Cheng, Y., Mao, S., Xiang, X., Xia, D., Wang, X., Li, J., 2021. Variation of gut microbiome in free-ranging female tibetan macaques (*Macaca thibetana*) across different reproductive states. *Animals* 11, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani11010039>.
- van der Heide, G., Fernandez-Duque, E., Iriart, D., Juárez, C.P., 2012. Do forest composition and fruit availability predict demographic differences among groups of territorial owl monkeys (*Aotus azarai*)? *Int. J. Primatol.* 33, 184–207. <https://doi.org/10.1007/s10764-011-9560-5>.
- Vlčková, K., Shutt-Phillip, K., Heisterman, M., Pafčo, B., Petrželkov, K.J., Todd, A., Modrý, D., Nelson, K.E., Wilson, B.A., Stumpf, R.M., White, B.A., Leigh, S.R., Gomez, A., 2018. Impact of stress on the gut microbiome of free-ranging western lowland gorillas. *Microbiol. (United Kingdom)* 164, 40–44. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000587>.
- Wei, J.H., Rao, J.H., Tang, M.T., Zhao, G.A., Li, Q.C., Wu, L.M., Liu, S.Q., Li, B.H., Xiao, B.Q., Liu, X.Y., Chen, J.H., 2020. Characterization of dynamic age-dependent changes and driver microbes in primate gut microbiota during host's development and healthy aging via captive crab-eating macaque model. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.015305>.
- Wenzel, J.A., Quadro, A., 2012. Análise biológica e geológica integrada do Cinturão Verde de Santa Cruz do Sul, RS, visando sua ampliação e preservação. In: *Fupam em Revista: Revista da Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luis Roessler, 6. Porto Alegre, RS-Brazil*, pp. 19–28.
- Wickham, H., Navarro, D., Pedersen, T.L., 2010. ggplot2: elegant graphics for data analysis. 3rd Ed. Available from: <https://ggplot2-book.org/index.html>. Accessed on: February 03, 2021.
- Wu, Q., Zhang, Yingqian, Zhang, Yinbing, Xia, C., Lai, Q., Dong, Z., Kuang, W., Yang, C., Su, D., Li, H., Zhong, Z., 2020. Potential effects of antibiotic-induced gut microbiome alteration on blood-brain barrier permeability compromise in rhesus monkeys. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1470, 14–24. <https://doi.org/10.1111/nyas.14312>.
- Youngblut, N.D., Reischer, G.H., Walters, W., Schuster, N., Walzer, C., Stalder, G., Ley, R. E., Farnleitner, A.H., 2019. Host diet and evolutionary history explain different aspects of gut microbiome diversity among vertebrate clades. *Nat. Commun.* 10, 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10191-3>.
- Yun, J.H., Roh, S.W., Whon, T.W., Jung, M.J., Kim, M.S., Park, D.S., Yoon, C., Nam, Y.D., Kim, Y.J., Choi, J.H., Kim, J.Y., Shin, N.R., Kim, S.H., Lee, W.J., Bae, J.W., 2014. Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 5254–5264. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>.
- Zaniolo, M.M., Santos, I.C.Dos, Barbosa, L.N., Pachaly, E.M.V., Caetano, I.C.D.S., Lopes, K.F.C., Marques, M.A., Mota, E.A., Martins, L.A., Piau Junior, R., Germano, R. D.M., Pachaly, J.R., Goncalves, D.D., 2020. Antimicrobial resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in enterobacteria isolated from free-living

- primates. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 20, 513–516. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2552>.
- Zhong, H., Penders, J., Shi, Z., Ren, H., Cai, K., Fang, C., Ding, Q., Thijs, C., Blaak, E.E., Stehouwer, C.D.A., Xu, X., Yang, H., Wang, Jian, Wang, Jun, Jonkers, D.M.A.E., Masclee, A.A.M., Brix, S., Li, J., Arts, I.C.W., Kristiansen, K., 2019. Impact of early events and lifestyle on the gut microbiota and metabolic phenotypes in young school-age children. *Microbiome* 7, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0608-z>.
- Zinsstag, J., Meisser, A., Schelling, E., Bonfoh, B., Tanner, M., 2012. From “two medicines” to “one health” and beyond. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 79, 1–5. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v79i2.492>.

5.2 Artigo 2

Artigo a ser submetido à revista *Microbial Ecology*.

6. DISCUSSÃO GERAL

Embora ainda não considerados em extinção, populações de *S. nigritus* encontram-se em declínio (IUCN, 2017). Inclusive, essas populações que adaptaram-se às ações antrópicas podem não ser mais consideradas modelo de animais selvagens. Através do estudo da microbiota fecal abordado na presente tese, podemos inferir que os animais selvagens vem perdendo as características naturais, adquirindo assinaturas de um ambiente fragmentado. Esses fatos puderam ser observados durante o desenvolvimento do artigo um, onde a microbiota intestinal dos primatas brasileiros foi divergentes de outros primatas estudados por outros trabalhos mundialmente (Grassotti et al., 2021).

Outro fato que pudemos observar é a lacuna de trabalhos relacionados à microbiota de primatas brasileiros (Grassotti et al., 2021; Malukiewicz et al., 2022). Em um país com tamanha biodiversidade, esse carência é inadmissível. Ainda, poucos dos trabalhos mundiais relacionados ao tema incluem dados comportamentais detalhados juntamente à questões ambientais. O efeito da qualidade e degradação do habitat na diversidade da microbiota intestinal foi demonstrado por Amato et al. (2013) em macacos bugios (*Alouatta pigra*) ameaçados no México, em diversas espécies de primatas por McCord et al. (2014) (*Procolobus rufomitratu*s, *Colobus guereza* e *Cercopithecus ascanius*) e em *Microcebus griseorufus* de Madagascar por Wasimuddin et al. (2022). Não obstante, até nosso entendimento, nenhum dos trabalhos publicados aborda problemas comportamentais semelhantes aos *S. nigritus* do sul do Brasil. O trabalho mais semelhante foi abordado por Gillman et al. (2022) em relação a *Ursus americanus*, uma espécie também onívora que se alimentam de alimentos oferecidos por humanos.

Por esse motivo, achamos importante desenvolver uma abordagem mais ambiental, e não somente caracterizar o microbioma do animal. Neste cenário, descrevemos as características de cada um dos fragmentos habitados pelos primatas estudados e os resultados não foram encantadores. Dois dos fragmentos estudados são considerados parque ecológico (PEM) e reserva ecológica (MMA). Porém ao avaliar as regiões, principalmente através da análise NDVI foi observado muitos pontos de baixa qualidade vegetal. Portanto, não basta se auto-intitular território protegido, mas pôr em prática a proteção. Essa responsabilidade é de todos, governamental, populacional e educacional.

Outro fato preocupante não é o fato de MMA utilizar-se dos animais como forma de atrativo turístico, mas permitir o contato direto dos animais com os visitantes

através do oferecimento de alimento. O contato do ser humano com animais selvagens podem trazer inúmeros problemas de saúde até a nível epidemiológico. Mais especificamente já foi descrito que o gênero *Sapajus* é hospedeiro de micro-organismos como vírus da raiva e da hepatite tipo A (dos Santos et al., 2020; Svoboda et al., 2016), *Mycobacterium tuberculosis* (Ehlers et al., 2020), *Leishmania* sp. (Lopes et al., 2022), hemoplasma (Cubilla et al., 2017) e bactérias resistentes a antibióticos (Grassotti et al., 2018; Zaniolo et al., 2020). Ainda, situações semelhantes foram encontradas em SSC e SCS, onde os primatas recebem alimento dos humanos, porém sem contato direto. Esse comportamento também pode levar a ataques inter e intra-espécies, incluindo aos seres humanos.

Através da análise de predição metabólica foi possível observar que os animais localizados em Cachoeira do sul, São Sebastião do Caí e Santa Cruz do Sul (ZCS, SSC e SCS) apresentaram bactérias com funcionalidade em degradação de dioxina, enquanto Sapucaia do Sul, Passo de Torres e Maracajá (ZSS, MMA e PEM) degradação de tolueno. São características de uma microbiota adaptável, tanto à alimentação como ao ambiente, e nos mostram os tipos de contaminações presentes em cada uma das regiões. Além de sentinelas para detecção de algumas doenças, os primatas podem ser considerados indicadores de qualidade ambiental.

7. CONCLUSÃO

Através da presente tese foi possível caracterizar taxonomicamente a composição e os perfis metabólicos gerais das comunidades bacterianas fecais de macacos-prego (*S. nigritus*) em diferentes habitats, no estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, em condições cativo e selvagens. Ainda, foi desenvolvido o índice CMEM, onde atribuiu-se um valor para cada uma das áreas habitadas pelos *S. nigritus* selvagens, e essas associadas à qualidade ambiental de cada fragmento florestal. Esses resultados foram correlacionados às análises metabólicas expressas nas amostras fecais, onde foi possível associar às características ambientais de cada habitat. Desta forma, apontamos a importância que os fragmentos florestais possuem para preservação da espécie estudada e sugerimos responsabilidades governamentais, populacionais e educacionais na preservação dos ambientes.

8. DEMAIS PUBLICAÇÕES

1. Costa, L. Da F.X.; Falcão, D.A.; Grassotti, T.T.; Christiano, F.D.P.; Frazzon, J.; Frazzon, A.P.G. Antimicrobial resistance of enterococci isolated from food in South Brazil: Comparing pre- and post-RDC 20/2011. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2022.
2. Costa, L.F.X.; Kothe, C.I.; **Grassotti, T.T.**; Garske, R.P.; Sandoval, B.N.; Varela, A. P.M.; Prichula, J.; Frazzon, J.; Mann, M.B.; Thys, R.C.S.; Frazzon, A.P.G. Evolution of the spontaneous sourdoughs microbiota prepared with organic or conventional whole wheat flours from South Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2022.
3. Tamehiro, C.Y.; Filho, H.C.K.; Cavalli, L.S.; Grassotti, T.T.; Carvalho, D.; de Brito, B.G.; Otutumi, L.K.; de Brito, K.C.T. Advantages and limitations of diagnostic methods for avian metapneumovirus. *CABI Reviews*, 2022.
4. Grassotti, T.T.; Zvoboda, D.A.; Costa, L.F.X.; Christiano, F.D.P. ; Mann, M.B.; Wagner, P.G.C.; Campos, A.A.S.; Frazzon, J.; Frazzon, A.P.G. Intra and inter-monkey transmission of bacteria in wild black capuchins monkeys (*Sapajus nigritus*): a preliminary study. *Brazilian journal of biology*, 2021.
5. Soares, B.D.; de Brito, K.C.T.; Grassotti, T.T.; Filho, H.C.K.; de Camargo, T.C.L.; Carvalho, D.; Dorneles, I.C.; Otutumi, L.K.; Cavalli, L.S.; de Brito, B.G. Respiratory microbiota of healthy broilers can act as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 2021.
6. de Brito, B.G.; Cavalli, L.S.; **Grassotti, T.T.**; Alves, A.M.; de Oliveira, J.D.; Silveira, A.V.G.; de Brito, K.C.T. Popularização da ciência no laboratório de saúde das aves e inovação tecnológica. In: *Medicina: Progresso científico, tecnológico, econômico e social do país*, 2021.
7. Gazal, L.E. De S.; Medeiros, L.P.; Dibo, M.; Nishio, E.K.; Koga., V.L.; Gonçalves, B. C.; **Grassotti, T. T.**; De Camargo, T.C.L.; Pinheiro, J.J.; Vespero, E.C.; De Brito, K.C. T.; De Brito, B.G.; Nakazato, G.; Kobayashi, R.K.T. Detection of ESBL/AmpC-producing and fosfomicin-resistant *Escherichia coli* from different sources in poultry production in southern brazil. *Frontiers in Microbiology*, 2021.
8. Matsumura, A.T.S.; Matsumura, A.S.; Silva, M.H.; Ribas, A.D.R.; **Grassotti, T.T.**; Matsumura, A.S. ICB Nutrisolo Trichoderma® as growth promoter in soybean crops. *Scientia Agraria Paranaensis*, 2021.

9. Araújo, A.J.G.; **Grassotti, T.T.** ; Frazzon, A.P.G. Characterization of *Enterococcus* spp. isolated from a fish farming environment in southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 2020.
10. Rossato, J.M.; Brito, B.G.; Kobayashi, R.; Koga, V.L.; Sarmiento, J.J.P.; Nakazato, G.; Lopes, L.F.D.; Balsan, L.A.G.; **Grassotti, T.T.**; Brito, K.C.T. Antimicrobial resistance, diarrheagenic and avian pathogenic virulence genes in *Escherichia coli* from poultry feed and the ingredients. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2019.
11. Costa, L F X ; **Grassotti, T T.**; Canani, C. R ; Lira, A.D.; Moura, T.M.; Campos, A.A.S.; Frazzon, J.; Frazzon, A.P.G. Diversidade, perfis de resistência e virulência de *Enterococcus* spp. em fezes de morcegos urbanos *Tadarida brasiliensis* (Brazilian free-tailed bats). *Revista Brasileira de Biociências*, 2019.

9. REFERÊNCIAS

- Albert C, Luque GM, Courchamp F. 2018. The twenty most charismatic species. *PLoS One*. 13(7):1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199149>
- Alderete TL, Jones RB, Chen Z, Kim JS, Habre R, Lurmann F, Gilliland FD, Goran MI. 2018. Exposure to traffic-related air pollution and the composition of the gut microbiota in overweight and obese adolescents. *Environ Res*. 161:472-478. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.046>
- Alfaro JW, Sousa e Silva Júnior J, Rylands AB. 2012. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of *Sapajus* and *Cebus*. *Am J Primatol*. 74(4):273-286. <https://doi.org/10.1002/ajp.22007>
- Amato KR, Yeoman CJ, Kent A, Righini N, Carbonero F, Estrada A, Gaskins HR, Stumpf RM, Yildirim S, Torralba M, Gillis M, Wilson BA, Nelson KE, White BA, Leigh SR. 2013. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. *ISME J*. 7(7):1344-1353. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.16>
- Amato KR, Mallott EK, McDonald D, Dominy NJ, Goldberg T, Lambert JE, Swedell L, Metcalf JL, Gomez A, Britton GAO, Stumpf RM, Leigh SR, Knight R. 2019. Convergence of human and Old World monkey gut microbiomes demonstrates the importance of human ecology over phylogeny. *Genome Biol*. 20(1):201. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1807-z>
- Amato KR, Stumpf RM. 2019. Moving forward with the primate microbiome: Introduction to a special issue of the *American Journal of Primatology*. *Am J Primatol*. e23060. <https://doi.org/10.1002/ajp.23060>
- Andoh A, Nishida A, Takahashi K, Inatomi O, Imaeda H, Bamba S, Kito K, Sugimoto M, Kobayashi T. 2016. Comparison of the gut microbial community between obese and lean peoples using 16S gene sequencing in a Japanese population. *J Clin Biochem Nutr*. 59(1):65-70. <https://doi.org/10.3164/jcfn.15-152>
- Aqui tem mata? **Rio Grande do Sul: Santa Cruz do Sul**. 2023a. Disponível em: <<https://www.aquitemmata.org.br/#/busca/rs/Rio%20Grande%20do%20Sul/Santa%20Cruz%20do%20Sul>>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Aqui tem mata? **Rio Grande do Sul: São Sebastião do Caí**. 2023b. Disponível em: <<https://www.aquitemmata.org.br/#/busca/rs/Rio%20Grande%20do%20Sul/S%C3%A3o%20Sebasti%C3%A3o%20do%20Ca%C3%AD>>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Aqui tem mata? **Santa Catarina: Maracajá**. 2023c. Disponível em: <<https://www.aquitemmata.org.br/#/busca/sc/Santa%20Catarina/Maracaj%C3%A1>>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Aqui tem mata? **Santa Catarina: Passo de Torres**. 2023d. Disponível em: <<https://www.aquitemmata.org.br/#/busca/sc/Santa%20Catarina/Passo%20de%20Torres>>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Asangba AE, Donohue ME, Lamb A, Wright PC, Halajian A, Leigh SR, Stumpf RM. 2019. Variations in the microbiome due to storage preservatives are not large enough to obscure variations due to factors such as host population, host species, body site, and captivity. *Am J Primatol*. e23045. <https://doi.org/10.1002/ajp.23045>

- Asangba AE, Mugisha L, Rukundo J, Lewis RJ, Halajian A, Cortés-Ortiz L, Junge RE, Irwin MT, Karlson J, Perkin A, Watsa M, Erkenwick G, Bales KL, Patton DL, Jasinska AJ, Fernandez-Duque E, Leigh SR, Stumpf RM. 2022. Large Comparative Analyses of Primate Body Site Microbiomes Indicate that the Oral Microbiome Is Unique among All Body Sites and Conserved among Nonhuman Primates. *Microbiol Spectr.* 10(3):e01643-21. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01643-21>
- Back JP, Suzin A, Aguiar LM. 2019. Activity budget and social behavior of urban capuchin monkeys, *Sapajus* sp. (Primates: Cebidae). *Zoologia.* 36:e30845. <https://doi.org/10.3897/zoologia.36.e30845>
- Barelli C, Albanese D, Donati C, Pindo M, Dallago C, Rovero F, Cavalieri D, Tuohy KM, Hauffe HC, De Filippo C. 2015. Habitat fragmentation is associated to gut microbiota diversity of an endangered primate: implications for conservation. *Sci Rep.* 5:14862. <https://doi.org/10.1038/srep14862>
- Barone M, Turrone S, Rampelli S, Soverini M, D'Amico F, Biagi E, Brigidi P, Troiani E, Candela M. 2019. Gut microbiome response to a modern Paleolithic diet in a Western lifestyle context. *PLoS ONE.* 14(8):e0220619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220619>
- Björk JR, Dasari M, Grieneisen L, Archie EA. 2018. Primate microbiomes over time: Longitudinal answers to standing questions in microbiome research. *Am J Primatol.* 81(10-11):e22970. <https://doi.org/10.1002/ajp.22970>
- Botequilha-Leitão A, Ribeiro SC. 2021. Análise de padrões. Em: Ribeiro SMC, Boscolo D, Ciochetti G, Firmino A, Guiomar N (Eds.), **Ecologia da paisagem no contexto luso-brasileiro: volume 1**. 1ª Edição. Editora Appris, Curitiba, Paraná, Brasil. 223-263.
- Braun M, Herold M. 2004. Mapping imperviousness using NDVI and linear spectral unmixing of ASTER data in the Cologne-Bonn region (Germany). *Proceedings of SPIE.* 5239:274-284. <https://doi.org/10.1117/12.510978>
- Cardoso DL, Guimarães DAA, Mayor P, Ferreira MAP, Dias HLT, Espinheiro RF, Monteiro FOB. 2021. Reproductive biology of owl (*Aotus* spp.) and capuchin (*Sapajus* spp.) monkeys. *Anim Reprod Sci.* 227:106732. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106732>
- Clayton JB, Gomez A, Amato K, Knights D, Travis DA, Blekhman R, Knight R, Leigh S, Stumpf R, Wolf T, Glander KE, Cabana F, Johnson TJ. 2018. The gut microbiome of nonhuman primates: Lessons in ecology and evolution. *Am J Primatol.* 80(6):e22867. <https://doi.org/10.1002/ajp.22867>
- Cubilla MP, Santos LC, de Moraes W, Cubas ZS, Leutenegger CM, Estrada M, Vieira RFC, Soares MJ, Lindsay LL, Sykes JE, Biondo AW. 2017. Occurrence of hemotropic mycoplasmas in non-human primates (*Alouatta caraya*, *Sapajus nigritus* and *Callithrix jacchus*) of southern Brazil. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 52:6-13. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.05.002>
- De Vos WM, Tilg H, Hul MV, Cani PD. 2022. Gut microbiome and health: mechanistic insights. *BMC.* 71:1020-1032. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2021-326789>

- Dechartres J, Pawluski JL, Gueguen MM, Jablaoui A, Maguin E, Rhimi M, Charlier TD. 2019. Glyphosate and glyphosate-based herbicide exposure during the peripartum period affects maternal brain plasticity, maternal behaviour and microbiome. *J Neuroendocrinol.* 31(9):e12731. <https://doi.org/10.1111/jne.12731>
- Dill-McFarland KA, Tang ZZ, Kemis JH, Kerby RL, Chen G, Palloni A, Sorenson T, Rey FE, Herd P. 2019. Close social relationships correlate with human gut microbiota composition. *Sci Rep.* 9(1):703. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37298-9>
- Dubois S, Fraser D. 2013. A Framework to Evaluate Wildlife Feeding in Research, Wildlife Management, Tourism and Recreation. *Animals.* 3(4):978-994. <https://doi.org/10.3390/ani3040978>
- Ehlers LP, Bianchi MV, Argenta FF, Lopes BC, Taunde PA, Wagner PGC, Driemeier D, Pavarini SP, Mayer FQ, Siqueira FM, Sonne L. 2020. *Mycobacterium tuberculosis* var. *tuberculosis* infection in two captive black capuchins (*Sapajus nigritus*) in Southern Brazil. *Braz J Microbiol.* 51(4): 2169-2173. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00339-5>
- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventos RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Fitó M, Gea A, Hernán MA, Martínez-González MA. 2018. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med.* 378(25):e34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800389>
- Etto TL, Longo RM, Arruda DR, Invenioni R. 2013. Ecologia da paisagem de remanescentes florestais na bacia hidrográfica do Ribeirão das Pedras – Campinas-SP. *Rev Árvore.* 37(6):1063-1071.
- Evans JM, Morris LS, Marchesi JR. 2013. The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host. *J Endocrinol.* 218(3):R37-R47. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0131>
- Falótico T, Verderane MP, Furtado OM, Spagnoletti N, Ottoni EB, Visalberghi E, Izar P. 2017. Food or threat? Wild capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) as both predators and prey of snakes. *Primates.* 59(1):99-106. <https://doi.org/10.1007/s10329-017-0631-x>
- Ferreira R, Resende BD, Mannu M, Ottoni EB, Izar P. 2002. Bird predation and prey-transference in brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neotrop Primates.* 10(2):84-89.
- Fitzpatrick R, Abrantes KG, Seymour J, Barnett A. 2011. Variation in depth of whitetip reef sharks: does provisioning ecotourism change their behaviour? *Coral Reefs.* 30:569-577. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0769-8>
- Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, Prifti E, Vieira-Silva S, Gudmundsdottir V, Pedersen HK, Arumugam M, Kristiansen K, Voigt AY, Vestergaard H, Herczeg R, Costea PI, Kultima JR, Li J, Jørgensen T, Levenez F, Dore J, Nielsen HB, Brunak S, Raes J, Hansen T, Wang J, Ehrlich SD, Bork P, Pedersen O. 2015. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature.* 528(7581):262-266. <https://doi.org/10.1038/nature15766>

- Fouladi F, Bailey MJ, Patterson WB, Sioda M, Blakley IC, Fodor AA, Jones RB, Chen Z, Kim JS, Lurmann F, Martino C, Knight R, Gilliland FD, Alderete TL. 2020. Air pollution exposure is associated with the gut microbiome as revealed by shotgun metagenomic sequencing. *Environ Int.* 138:105604. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105604>
- Fragaszy DM, Visalberghi E, Fedigan L, Rylands AB. 2004. Taxonomy, distribution and conservation: Where and what are they, and how did they get there? Em: Fragaszy D, Fedigan L, Visalberghi E (Eds.), **The Complete Capuchin: The Biology of the Genus *Cebus***. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 13-35.
- Fundación Vida Silvestre Argentina, WWF - World Wide Fund for Nature. 2017. **WWF Report 2017, State of the Atlantic Forest: Three countries, 148 million people, one of the richest forests on Earth**. Puerto Iguazú, Argentina. 148p.
- Fundação SOS Mata Atlântica. 2020. **Relatório anual 2020**. São Paulo, Fundação SOS Mata Atlântica. 42p.
- Fundação SOS Mata Atlântica, INPE. 2021. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: período 2019/2020, relatório técnico**. São Paulo, Fundação SOS Mata Atlântica. 73p.
- Giambò F, Teodoro M, Costa C, Fenga C. 2021. Toxicology and Microbiota: How Do Pesticides Influence Gut Microbiota? A Review. *Int J Environ Res Public Health.* 18(11):5510. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115510>
- Gillman SJ, McKenney EA, Lafferty DJR. 2022. Human-provisioned foods reduce gut microbiome diversity in American black bears (*Ursus americanus*). *J Mamm.* 103(3):1-8. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyab154>
- Goldberg TL, Gillespie TR, Rwego IB, Wheeler E, Estoff EL, Chapman CA. 2007. Patterns of gastrointestinal bacterial exchange between chimpanzees and humans involved in research and tourism in western Uganda. *Biol Conserv.* 135(4):511-517. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.10.048>
- Grassotti TT, Zvoboda DA, Costa LFX, Araújo AJG, Pereira RI, Soares RO, Wagner PGC, Frazzon J, Frazzon APG. 2018. Antimicrobial Resistance Profiles in *Enterococcus* spp. Isolates From Fecal Samples of Wild and Captive Black Capuchin Monkeys (*Sapajus nigritus*) in South Brazil. *Front Microbiol.* 9:2366. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02366>
- Grassotti TT, Kothe CI, Prichula J, Mohellibi N, Mann MB, Wagner PGC, Campos FS, Campos AAS, Frazzon J, Frazzon APG. 2021. Fecal bacterial communities of wild black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) from the Atlantic Forest biome in Southern Brazil are divergent from those of other non-human primates. *Curr Res Microb Sci.* 2:100048. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100048>
- Hale VL, Tan CL, Niu K, Yang Y, Zhang Q, Knight R, Amato KR. 2019. Gut microbiota in wild and captive Guizhou snub-nosed monkeys, *Rhinopithecus brelichi*. *Am J Primatol.* e22989. <https://doi.org/10.1002/ajp.22989>
- Hansen TH, Thomassen MT, Madsen ML, Kern T, Bak EG, Kashani A, Allin KH, Hansen T, Pedersen O. 2018. The effect of drinking water pH on the human gut microbiota and glucose regulation: results of a randomized controlled cross-over intervention. *Sci Rep.* 8(1):16626. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34761-5>

- Iglesias-Vázquez L, Riba GVG, Arija V, Canals J. 2020. Composition of Gut Microbiota in Children with Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 12(3):792. <https://doi.org/10.3390/nu12030792>
- Izar P, Verderane MP, Santos LP, Furtado OM, Presotto A, Tokuda M, Visalberghi E, Fragaszy D. 2011. Flexible and Conservative Features of Social Systems in Tufted Capuchin Monkeys: Comparing the Socioecology of *Sapajus libidinosus* and *Sapajus nigritus*. *Am J Primatol*. 74(4):315-331. <https://doi.org/10.1002/ajp.20968>
- Jiang R, Xie J, He H, Kuo CC, Zhu J, Yang M. 2016. Spatiotemporal variability and predictability of Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) in Alberta, Canada. *Int J Biometeorol*. 60(9):1389-1403. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1132-5>
- Jiménez E, Ladero V, Chico I, Maldonado-Barragán A, López M, Martín V, Fernández L, Fernández M, Álvarez MA, Torres C, Rodríguez JM. 2013. Antibiotic resistance, virulence determinants and production of biogenic amines among enterococci from ovine, feline, canine, porcine and human milk. *BMC Microbiol*. 13(1):288. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-288>
- Käfer PS, Rex FE. 2020. Avaliação espectral e temporal de remanescentes da Mata Atlântica com dados SPOT-VGT e variáveis meteorológicas. *BIOFIX Sci J*. 5(1):13-22. <https://doi.org/10.5380/biofix.v5i1.67235>
- Knight J. 2010. THE READY-TO-VIEW WILD MONKEY The Convenience Principle in Japanese Wildlife Tourism. *Ann Tour Res*. 37(3):744-762. <https://doi.org/10.1016/j.annals.2010.01.003>
- La Salles AYF, Carreiro NA, Medeiros GX, Muniz JAPC, Menezes DJA. 2018. Aspectos biológicos e comportamentais de *Sapajus libidinosus*: Revisão. *PUBVET*. 12(1):139. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n1a8.1-13>
- Leite EF, Rosa R. 2012. Análise do uso, ocupação e cobertura da Terra na bacia hidrográfica do Rio Formiga, Tocantins. *OBSERVATORIUM: Rev Elet Geo*. 4(12):90-106.
- Li X, Trivedi U, Brejnrod AD, Vestergaard G, Mortensen MS, Bertelsen MF, Sørensen SJ. 2020. The microbiome of captive hamadryas baboons. *Anim Microbiome*. 2(1):25. <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00040-w>
- Lima GC, Silva MLN, Curi N, Silva MA, Oliveira AH, Avanzi JC, Ummus ME. 2013. Avaliação da cobertura vegetal pelo índice de vegetação por diferença normalizada (IVDN). *Rev Ambient Água*. 8(2):204-214. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.959>
- Lopes KFC, Delai RM, Zaniolo MM, Dos Santos IC, Pachaly EMV, Pachaly JR, Tramontin RDS, Bernardes JC, Pereira UP, Caldart ET, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, Gonçalves DD. 2022. Urban capuchin monkeys *Sapajus nigritus* (Goldfuss, 1809) (Primates, Cebidae) as environmental bioindicators of leishmaniasis. *Transbound Emerg Dis*. 69(4):2320-2325. <https://doi.org/10.1111/tbed.14247>
- Ludwig G, de Melo FR, Martins WP, Miranda JMD, Alfaro JW, Alonso AC, Santos MC, Rímoli J. *Sapajus nigritus* (amended version of 2021 assessment). *The IUCN Red List of Threatened Species 2022*: e.T136717A210336199. 2022. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T136717A210336199.en>>. Acesso em: 13 jan 2023.

- Malukiewicz J, Cartwright RA, Dergam JA, Igayara CS, Kessler SE, Moreira SB, Nash LT, Nicola PA, Pereira LCM, Pissinatti A, Ruiz-Miranda CR, Ozga AT, Quirino AA, Roos C, Silva DL, Stone AC, Grativol AD. 2022. The gut microbiome of exudivorous marmosets in the wild and captivity. *Sci Rep.* 12:5049. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08797-7>
- Mandai SS, Carvalho RM, Souza MMP. 2021. A biodiversidade e os Estudos de Impacto Ambiental de mineração do estado de São Paulo – Brasil. *Rev Ambient Soc.* 24. <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc20190031r3vu2021L3AO>
- NRC - National Research Council of the National Academies. **Nutrient requirements of nonhuman primates.** 2003. Washington, DC: NRC; 2003. Disponível em: < <https://www.nap.edu/read/9826/chapter/1>>. Acesso em: 23 abr. 2018.
- Mapbiomas. Mata Atlântica: Evolução anual de cobertura e uso da terra (1985-2020). Disponível em: < <https://mapbiomas-br-site.s3.amazonaws.com/Infograficos/Cole%C3%A7%C3%A3o6/MBI-Infografico-6.0-PTBR-matlantica-rev.jpg>>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Massaro L, Massa F, Simpson K, Fragaszy D, Visalberghi E. 2016. The strategic role of the tail in maintaining balance while carrying a load bipedally in wild capuchins (*Sapajus libidinosus*): a pilot study. *Primates.* 57(2):231-239. <https://doi.org/10.1007/s10329-015-0507-x>
- Mccord AI, Chapman CA, Weny G, Tumukunde A, Hyeroba D, Klotz K, Koblings AS, Mhora DNM, Cregger M, White BA, Leigh SR, Goldberg TI. 2014. Fecal Microbiomes of Non-Human Primates in Western Uganda Reveal Species-Specific Communities Largely Resistant to Habitat Perturbation. *Am J Primatol.* 76(4): 347–354. <https://doi.org/10.1002/ajp.22238>
- McKenna P, Hoffmann C, Minkah N, Aye PP, Lackner A, Liu Z, Lozupone CA, Hamady M, Knight R, Bushman FD. 2008. The Macaque Gut Microbiome in Health, Lentiviral Infection, and Chronic Enterocolitis. *PLoS Pathog.* 4(2):e20. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0040020>
- McManus N, Holmes SM, Louis Junior EE, Johnson SE, Baden AL, Amato KR. 2021. The gut microbiome as an indicator of habitat disturbance in a Critically Endangered lemur. *BMC Ecol Evol.* 21:222. <https://doi.org/10.1186/s12862-021-01945-z>
- MMA – Ministério do Meio Ambiente. Mata Atlântica. Disponível em: < https://antigo.mma.gov.br/biomas/mata-atl%C3%A2ntica_emdesenvolvimento.html>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- Moeller AH, Li Y, Ngole EM, Ahuka-Mundeke S, Lonsdorf EV, Pusey AE, Peeters M, Hahn BH, Ochman H. 2014. Rapid changes in the gut microbiome during human evolution. *Proc Natl Acad Sci.* 111(46):16431-16435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1419136111>
- Motta EVS, Mak M, De Jong TK, Powell JE, O'Donnell A, Suhr KJ, Riddington IM, Moran NA. 2020. Oral and topical exposure to glyphosate in herbicide formulation impact the gut microbiota and survival rates of honey bees. *Appl Environ Microbiol.* 86(18):e01150-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01150-20>
- Nolorbe-Payahua CD, Freitas AS, Roesch LFW, Zanette J. 2020. Environmental contamination alters the intestinal microbial community of the livebearer killifish

Phalloceros caudimaculatus. Heliyon. 6(6):e04190.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04190>

- NRC - National Research Council of the National Academies. **Nutrient requirements of nonhuman primates**. 2003. Washington, DC: NRC; 2003. Disponível em: < <https://www.nap.edu/read/9826/chapter/1>>. Acesso em: 23 abr. 2018.
- Oliveira LW, Vieira AG, Oliveira MWM. 2014. Análise comportamental dos macacos-pregos (*Sapajus nigritus*) livres no Parque Ecológico da Cidade da Criança de Presidente Prudente – SP. Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista. 10(3):166-177. <https://doi.org/10.17271/198008271032014849>
- Oliveira AS, Davis JL, Batista ELS, Ribeiro SMC, Soares Filho BS. 2021. Modelação da paisagem e avaliação prospectiva: O desenvolvimento de modelos de uso e cobertura do solo no dinâmica ego. Em: Ribeiro SMC, Boscolo D, Ciochetti G, Firmino A, Guiomar N (Eds.), **Ecologia da paisagem no contexto luso-brasileiro: volume 1**. 1ª Edição. Editora Appris, Curitiba, Paraná, Brasil. 283-309.
- Olson DM, Dinerstein E. 2002. The Global 200: Priority Ecoregions for Global Conservation. *Ann Missouri Bot Gard*. 89(2):199-224. <https://doi.org/10.2307/3298564>
- Presotto A, Verderane MP, Biondi L, Mendonça-Furtado O, Spagnoletti N, Madden M, Izar P. 2018. Intersection as key locations for bearded capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*) traveling within a route network. *Anim Cognit*. 21(3):393-405. <https://doi.org/10.1007/s10071-018-1176-0>
- Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, Bonazzi V, McEwen JE, Wetterstrand KA, Deal C, Baker CC, Francesco VD, Howcroft TK, Karp RW, Lunsford RD, Wellington CR, Belachew T, Wright M, Giblin C, David H, Mills M, Salomon R, Mullins C, Akolkar B, Begg L, Davis C, Grandison L, Humble M, Khalsa J, Little AR, Peavy H, Pontzer C, Portnoy M, Sayre MH, Starke-Reed P, Zakhari S, Read J, Watson B, Guyer M. 2009. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*. 19(12): 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Resende BD, Greco VLG, Ottoni EB, Izar P. 2003. Some observations on the predation of small mammals by tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neotrop Primates*. 11(2):103-104.
- Rezzadori T, Hartmann MT, Hartmann PA. 2016. Proximidade de rodovias pode influenciar a fragmentação florestal? Um estudo de caso no norte do Rio Grande do Sul. *Biotemas*. 29(3):21-28. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2016v29n3p21>
- Rocha NA, Casagrande P, Moura ACM. 2018. Análise combinatória e pesos de evidência na produção de análise de multicritérios em modelos de avaliação. *GeoSIG*. 10:49-74.
- Rodrigues KC. 2013. **Padrão de atividades, comportamento alimentar, exploração de habitat e área de vida de um grupo de *Sapajus flavius* (Schreber, 1774) (Primates, Cebidae) em um fragmento de floresta atlântica, Paraíba, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Monitoramento Ambiental) – Centro de Ciências Aplicadas e Educação – Universidade Federal da Paraíba. Rio Tinto, Paraíba.
- Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, Avershina E, Rudi K, Narbad A, Jenmalm MC, Marchesi JR, Collado MC. 2015. The composition of the

gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 26:26050. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.26050>

- Rudolph K, Schneider D, Fichtel C, Daniel R, Heistermann M, Kappeler PM. 2022. Drivers of gut microbiome variation within and between groups of a wild Malagasy primate. *Microbiome.* 10:28. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01223-6>
- Sang J, Zhuang D, Zhang T, Wu Q, Yu J, Zhang Z. 2022. Convergent and Divergent Age Patterning of Gut Microbiota Diversity in Humans and Nonhuman Primates. *mSystems.* 7(4):e01512-e01521. <https://doi.org/10.1128/msystems.01512-21>
- Santos RN, Campos FS, Finoketti F, Santos AC, Campos AAS, Wagner PGC, Roehe PM, Batista HBCR, Franco AC. 2020. Viral diversity in oral cavity from *Sapajus nigritus* by metagenomic analyses. *Braz J Microbiol.* 51(4):1941-1951. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00350-w>
- SBMz – Sociedade Brasileira de Mastozoologia. Lista de mamíferos. Disponível em: <<https://sbmz.org/mamiferos-do-brasil/>> Acesso em: 11 mar. 2023.
- Shreiner AB, Kao JY, Young VB. 2015. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 31(1):69–75. <https://doi.org/10.1097/MOG.000000000000139>
- Svoboda WK, Soares MCP, Alves MM, Rocha TC, Gomes EC, Menoncin F, Batista PM, da Silva LR, Headley SA, Hilst CLS, Aguiar LM, Ludwig G, Passos FC, Souza Jr JC, Navarro IT. 2016. Serological detection of hepatitis A virus in free-ranging neotropical primates (*Sapajus* spp., *Alouatta caraya*) from the paraná river basin, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 58:9. <https://doi.org/10.1590/S1678-994658009>
- UNESCO - The United Nations Organization for Education, Science and Culture. **Atlantic Forest South-East Reserves.** 2018. Brasil: UNESCO; 2018. Disponível em: <<http://whc.unesco.org/EN/LIST/893>>. Acesso em: 23 abr. 2018.
- Vidal MD. 2012. **Protocolo para coleta de dados sobre primatas em Unidades de Conservação da Amazônia.** ICMBio, Brasília. 38p.
- Wasimuddin, Malik H, Ratovonamana YR, Rakotondranary SJ, Ganzhorn JU, Sommer S. 2022. Anthropogenic Disturbance Impacts Gut Microbiome Homeostasis in a Malagasy Primate. *Front Microbiol.* 21(13):911275. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.911275>
- Wenzel JA, Quadros A. 2012. Análise biológica e geológica integrada do Cinturão Verde de Santa Cruz do Sul, RS, visando sua ampliação e preservação. *Rev FEPAM.* 6(1):19-28.
- Willems EP, Barton RA, Hill RA. 2009. Remotely sensed productivity, regional home range selection, and local range use by an omnivorous primate. *Behav Ecol.* 20(5):985-992. <https://doi.org/10.1093/beheco/arp087>
- Wills MO, Shields-Cutler RR, Brunmeier E, Weissenborn M, Murphy T, Knights D, Johnson TJ, Clayton JB. 2022. Host Species and Captivity Distinguish the Microbiome Compositions of a Diverse Zoo-Resident Non-Human Primate Population. *Divers.* 14:715. <https://doi.org/10.3390/d14090715>
- WWF - World Wide Fund for Nature. **Mata Atlântica: herança em perigo.** 2023. Disponível em:

https://wwfbrnew.awsassets.panda.org/downloads/brochure_bosque_atlantico12_1.pdf. Acesso em: 23 jan. 2023.

- Youngblut ND, Reischer GH, Walters W, Schuster N, Walzer C, Stalder G, Ley RE, Farnleitner AH. 2019. Host diet and evolutionary history explain different aspects of gut microbiome diversity among vertebrate clades. *Nat Commun.* 10(1):2200. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10191-3>
- Zaniolo MM, dos Santos IC, Barbosa LN, Pachaly EMV, Caetano ICS, Lopes KFC, Marques MA, Mota EA, Martins LA, Junior RP, Germano RM, Pachaly JR, Gonçalves DD. 2020. Antimicrobial Resistance and Extended-Spectrum Beta-Lactamase Production in Enterobacteria Isolated from Free-Living Primates. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 20(7):513-516. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2552>.
- Zhong H, Penders J, Shi Z, Ren H, Cai K, Fang C, Ding Q, Thijs C, Blaak EE, Stehouwer CDA, Xu X, Yang H, Wang J, Wang J, Jonkers DMAE, Masclee AAM, Brix S, Li J, Arts ICW, Kristiansen K. 2019. Impact of early events and lifestyle on the gut microbiota and metabolic phenotypes in young school-age children. *Microbiome.* 7(1):2. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0608-z>
- Zhou K, Liu W, Chen Z, Yang D, Qiu Z, Feng H, Li C, Jin M, Li J, Xu Q, Shen Z. 2021. The effect of different drinking water in culture médium on feces microbiota diversity. *J Water Health.* 19(2):267-277. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.075>